

**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 2010

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

MICRO/SERO/PARA

ISP-2010/Micro/Séro/Para/82

Service Biologie Clinique
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS EN MICRO/SERO/PARA

ISP (secrétariat)	:	02/642.55.21 – FAX : 02/642.56.45
(Dr. VERNELEN K.)	:	02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coordinateur)	:	e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
Pharm. 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
Pharm. 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

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm

I.MICROBIOLOGIE

Trois enquêtes ont été organisées en 2010 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 176 laboratoires ont participé à au moins une enquête. Trois laboratoires (1.7%) ont participé à 1 enquête, trois laboratoires (1.7%) ont participé à 2 enquêtes et 170 (96.6%) ont participé aux 3 enquêtes. Trois laboratoires ont cessé leurs activités et un s'est inscrit tardivement. La participation des laboratoires s'élève à 175, 173 et 171 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 112 laboratoires hospitaliers, 48 laboratoires privés, 5 laboratoires de polycliniques et 11 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 (onze échantillons lyophilisés et un échantillon clinique).

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

Pour la *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen (hémoculture; enquête 2010/3) et le *Fusobacterium nucleatum* (ponction d'empyème; enquête 2010/3) une identification jusqu'au niveau du genre était suffisante.

A l'occasion de la 3^e enquête les laboratoires avec un numéro d'agrément pair (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) ou impair (*Haemophilus parainfluenzae*) ont reçu une souche différente sous le même numéro d'échantillon.

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

Germe	% d'identifications acceptables
<i>Streptococcus agalactiae</i> (sécrétion vaginale)	99.4
<i>Enterococcus faecium</i> (hémoculture)	95.4
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (expectoration)	97.1
Absence de pathogènes (écouvillon vaginal)	87.4
<i>Corynebacterium jeikeium</i> (urine)	86.7
<i>Cryptococcus neoformans</i> (liquide céphalo-rachidien)	98.3
<i>Eikenella corrodens</i> (morsure de chien)	90.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (hémoculture)	100.0
<i>Streptococcus gallolyticus</i> (endocardite)	81.9
<i>Salmonella Typhimurium</i> var. Copenhagen (hémoculture)	98.5
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (ponction d'empyème)	81.9
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (hémoculture) (labos pairs)	57.4
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> (hémoculture) (labos impairs)	84.2

L'explication pour le score relativement faible pour le *S. gallolyticus* est pour la plus grande partie due au fait que le Vitek 2 ne sait pas faire la distinction entre *S. gallolyticus* et *S. mutans*. Depuis l'envoi de cette enquête, la firme bioMérieux a effectué des examens et des souches supplémentaires seront reprises dans la base de données du Vitek, ce qui devrait résoudre ce problème.

Le score relativement faible pour le *F. nucleatum* peut être expliqué par le fait qu'un certain nombre de labos ont eu des problèmes pour faire pousser cet anaérobie.

Les réponses fautives pour l'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* varient (*Actinobacillus* species, *Haemophilus* species, *Pasteurella* species, germe qui pousse difficilement,...)

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

Chaque laboratoire a dû réaliser 12 identifications. 64 (36.4%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 112 (63.6%) 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	64 (36.4%)
1	66 (37.5%)
2	29 (16.5%)
3	7 (4.0%)
4	8 (4.5%)
5	2 (1.1%)

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	62 (35.2%)
1	66 (37.5%)
2	29 (16.5%)
3	7 (4.0%)
4	9 (5.1%)
5	2 (1.1%)
6	0
7	1 (0.6%)

1.2. Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 6 germes, *Streptococcus agalactiae* M/5244, *Enterococcus faecium* M/8788, *Corynebacterium jeikeium* M/10101, *Streptococcus pneumoniae* M/10252, *Streptococcus gallolyticus* M/10237 et *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen M/10452 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

1.2.1. *Streptococcus agalactiae* M/5244

Cette souche n'a pas posé de grands problèmes en ce qui concerne l'antibiogramme.

Il reste cependant à mentionner que deux laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme mais ont donné les remarques suivantes:

- Pour *S. agalactiae*, le commentaire suivant apparaît sur les protocoles ; « Tous les *S. agalactiae* sont sensibles à la pénicilline et à l'ampicilline. En cas d'allergie à la pénicilline, veuillez prendre contact avec le laboratoire endéans les 24h. »

- Pour la culture M/5244 nous n'effectuons en routine pas d'antibiogramme.

Deux autres laboratoires, qui ont effectué l'antibiogramme, ont également donné une remarque:

- Un antibiogramme est effectué uniquement sur demande (p.e. allergie à la pénicilline) et pas sur chaque échantillon de routine

- En routine pour 1 streptocoque B nous répondons dans un commentaire: « Le traitement recommandé du streptocoque B est la Pénicilline V. Si allergie, préférer clindamycine. AB à votre demande si nécessaire. »

Pour les informations détaillées sur les caractéristiques d'identification, les conditions de culture standard ou de culture dans le cadre d'un dépistage de colonisation recto-vaginale, les mécanismes de résistance aux macrolides et sur leur signification clinique, le commentaire a référé aux commentaires des enquêtes 2005/2 en 2008/1.

Pour **prévenir les infections néonatales précoces**, diverses stratégies ont été proposées. Actuellement, en Belgique comme aux Etats-Unis et dans de nombreux pays européens et d'Amérique du Nord, les recommandations sont **d'administrer une antibioprophylaxie I.V. intrapartum aux parturientes à risque**. Le risque pris en considération est la colonisation recto-vaginale par GBS identifiée par **un dépistage universel réalisé chez toutes les femmes enceintes entre 35 et 37 semaines de gestation**. La **pénicilline**, en raison de son efficacité et de son spectre d'activité étroit, est **l'antibiotique de choix** pour l'antibioprophylaxie intrapartum. Des **alternatives** sont proposées en **cas d'allergie connue à la pénicilline** : la **céfazoline** pour les patientes allergiques à faible risque anaphylactique et la **clindamycine** dans les autres cas. Comme chez de nombreuses espèces de streptocoques, une augmentation importante de la résistance à la clindamycine a aussi été observée parmi les GBS. Le taux de résistance observée est variable dans le temps et géographiquement. Une antibioprophylaxie avec de la clindamycine ne peut être réalisée que sur base des résultats de l'antibiogramme. En **cas de résistance à la clindamycine**, l'alternative recommandable est la **vancomycine** (6).

Pour le **traitement des infections invasives** du nouveau-né, de l'adulte ou autre patient, **l'antibiotique de première ligne reste la pénicilline**. Empiriquement le traitement est commencé avec un antibiotique à spectre plus large, mais dès que

l'identification de GBS est confirmée la pénicilline est indiquée pour la poursuite du traitement. Le dosage et la durée des traitements dépendent du type d'infection.

La colonisation asymptomatique, même pendant la grossesse ne doit pas être traitée. Mais, si la patiente est enceinte, une antibioprophylaxie intrapartum doit être prévue.

Une **discussion étendue de la résistance et des mécanismes de résistance** aux différentes classes d'antibiotiques a été reprise dans le **rapport global 2010/1**.

Le typage a un intérêt épidémiologique très important notamment pour la détermination de la composition des vaccins en développement, mais pas pour la prise en charge individuelle des patients. Pour cette surveillance épidémiologique, nous rappelons que tous les laboratoires sont invités à **envoyer leurs isolats d'infections invasives au centre national de référence des GBS**.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2010/1.

Tableau 1.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	153	153	-	-	-
Amoxicilline ¹	S	2	2	-	-	-
Pénicilline ²	S	11	11	-	-	-
Erythromycine	S	169	162	3	3	1 ³
Clarithromycine ⁴	S	2	2	-	-	-
Clindamycine	S	169	164	2	2	1 ⁵
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	40	34	5	1	-
Lévofloxacine	S	71	65	1	5	-
Moxifloxacine	S	25	24	-	1	-
Norfloxacine	S	6	2	1	3	-
Ofloxacine	S	12	11	1	-	-
Quinolone ⁶	S	4	4	-	-	-

¹ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

² Neuf laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline au lieu de l'ampicilline; deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline et à l'amoxicilline.

³ Un laboratoire a donné le résultat brut et expert (I) mais a laissé ouvert le résultat final.

⁴ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu de l'érythromycine; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la clarithromycine et à l'érythromycine.

⁵ Un laboratoire a donné le résultat brut et expert (I) mais a laissé ouvert le résultat final.

⁶ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

1.2.2. *Enterococcus faecium* M/8788

Ce germe était multi-résistant, un fait qui a été reflété dans les remarques des laboratoires :

- Van A: 6 labos
- Van A+, Van B-: 1 labo
- Van A- like: 3 labos
- Van A probable: 6 labos
- VRE: 14 labos
- Résistance aux glycopeptides: 1 labo
- En routine, nous enverrions une telle souche d'*E. faecium* multi-résistante en provenance des hémocultures au laboratoire de surveillance UZA Prof. Goossens: 1 labo
- En routine nous testerions et rapporterions le linézolid pour cette souche: 1 labo

Ce dernier laboratoire a testé le linézolid pour l'échantillon M/8788 avec comme résultat: « S ». Deux autres laboratoires ont testé le linézolid et la tigécycline avec comme résultat « S » dans tous les cas.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2010/1. Il est à remarquer que la mention « sensible (« S ») » doit être interprétée comme présence de synergie de la gentamicine à haut niveau avec les β -lactamines et/ou les glycopeptides. Pour des raisons de lisibilité nous l'avons repris dans le tableau comme « S ».

Tableau 1.2.2. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	R	172	-	-	172	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Pénicilline ²	R	1	-	-	1	-
Gentamicine	S	161	135	5	13 ³	8 ⁴
Vancomycine	R	173	-	-	172 ⁵	1 ⁶
Teicoplanine	R	136	-	4	131	1 ⁷

¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la pénicilline au lieu de l'ampicilline.

³ Deux laboratoires ont fourni une explication pour leur réponse « R » pour la gentamicine:

- étant donné que le germe est résistant à l'ampicilline, la gentamicine ne peut pas fonctionner en synergie et doit donc être répondu comme R
- l'utilisation des aminoglycosides est basée sur la synergie avec les β -lactamines (qui sont résistant pour ce germe)

⁴ Huit laboratoires ont fourni une remarque comme résultat final pour la gentamicine:

- un laboratoire a répondu la gentamicine à bas niveau comme « R » mais a fourni une remarque que la gentamicine à haut niveau est « S »
- un laboratoire a répondu la gentamicine à bas niveau comme « R » mais à laissé ouvert le résultat final de la gentamicine à haut niveau
- un laboratoire a répondu « bas niveau de résistance »
- un laboratoire a répondu « absence de résistance à haut niveau »
- un laboratoire a répondu « gentamicine non testé par système Vitek car résistance naturelle de ce germe à cet antibiotique »
- un laboratoire a répondu « SYN-S = synergie possible avec β lactamines et les glycopeptides mais ici cette synergie sera inefficace car β lactamines R et vanco R teico R »
- un laboratoire a donné un résultat brut « I » pour la gentamicine à bas niveau mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « Ne disposant pas de gentamicine 250 μ g nécessaire pour la détection du HLR aux aminosides, nous avons testé la genta 40 μ g (sans interprétation). En routine cette souche serait dans tous les cas envoyée à un sous-traitant pour confirmation de l'antibiogramme avec genta 250 μ g. »

- un laboratoire a donné un résultat brut « R » pour la gentamicine à bas niveau mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « CMI suggérée »
- ⁵ Deux laboratoires ont fourni une remarque pour leur réponse « R » pour la vancomycine:
 - à faire CMI
 - ceci n'est pas le bon dosage et CMI doit être fait dans ce cas
- ⁶ Un laboratoire a donné un résultat brut « R » mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « CMI suggérée »
- ⁷ Un laboratoire a donné un résultat brut « R » mais à laissé ouvert le résultat final

1.2.3. *Corynebacterium jeikeium* M/10101

Cette souche a été envoyée à des fins didactiques: aussi bien à cause de la question concernant la pathogénicité du germe qu'à cause de l'inexistence de directives pour la détermination de l'antibiogramme. 144 des 173 laboratoires ont répondu *Corynebacterium jeikeium*. Dix d'entre eux ont mentionné que la bactérie en question n'est que rarement la cause d'une infection urinaire ou que la pathogénicité n'est pas prouvée pour ce site. Quatre de ces laboratoires demanderaient en routine un échantillon de contrôle. Deux des 10 laboratoires ont mentionné que dans le cas actuel (culture pure, pyurie +++), le germe serait quand même mentionné, avec une remarque ou non. Six laboratoires ont répondu *Corynebacterium* species: un d'entre eux a mentionné que l'uréase est négative et se pose des questions concernant la pathogénicité. Un autre laboratoire ayant répondu *Corynebacterium* species, a mentionné avoir exclu la possibilité qu'il s'agit d'une *Corynebacterium urealyticum* et qu'une identification au niveau de l'espèce et un antibiogramme ne sont donc pas nécessaires. Quatre laboratoires ont répondu "absence de pathogènes". Les autres laboratoires ont retrouvé d'autres germes.

Douze laboratoires qui ont identifié le germe en question, n'ont pas effectué d'antibiogramme. Trois laboratoires qui ont effectué la diffusion par disque ont fourni le diamètre sans interprétation mais avec la mention qu'il n'existe pas de directives. Douze autres laboratoires qui ont effectué la diffusion par disque ont fourni le diamètre et l'interprétation, mais ont également mentionné qu'il n'existe pas de directives. Sept laboratoires ont mentionné avoir utilisé les directives des streptocoques, 5 ont mentionné avoir utilisé les directives des staphylocoques et un laboratoire les directives des streptocoques et des staphylocoques.

Le commentaire concernant l'enquête a abordé ces 2 points de plus près.

C. jeikeium est une espèce **saprophyte de la peau** au niveau axillaire, inguinal et rectal. Elle est isolée de divers prélèvements cliniques mais aussi de l'environnement hospitalier. C'est une espèce **multirésistante** aux antibiotiques, notamment aux bêta-lactamines. Les quelques pourcents de souches encore sensibles à l'ampicilline montrent toutefois des CMI élevée à cette antibiotique. La résistance aux autres classes d'antibiotiques est variable au sein des corynébactéries avec une fréquence plus élevée chez *C. jeikeium*. Cette multirésistance participe au développement et à la sélection de cette bactérie en milieu hospitalier. Par ailleurs, elle amènera le clinicien à traiter des infections sévères à *C. jeikeium* à l'aide de glycopeptides.

D'un point de vue clinique, *C. jeikeium* a été associée à **diverses infections telles que des septicémies et des endocardites**, notamment chez **des patients immunodéprimés** (neutropénies sévères) et **chez des patients hospitalisés pendant de longs séjours**, situations souvent associées à la prescription multiple d'antibiotiques. Le **tropisme pour les matériels étrangers** amène *C. jeikeium* à être à l'origine d'infections sur sondes, cathéters, port-à-cath (PAC), dérivations ventro-péritonéales et prothèses articulaires.

La pathogénicité de *C. jeikeium* dans les infections du tractus urinaire n'est pour le moins pas établie. Son caractère multirésistant inquiète mais n'en fait pas une bactérie pathogène dans toute circonstance. La combinaison de « *C. jeikeium* et UTI » (Urinary Tract Infection) dans le moteur de recherche « Pubmed » ne fait sortir aucun article. Une référence de 1991 citée dans le chapitre traitant des corynébactéries des Actualités Permanentes en Bactériologie mentionne l'isolement fréquent de *C. jeikeium* au sein d'urinocultures de patients hospitalisés. Toutefois il s'agit de cultures faites sur des milieux sélectifs contenant des antibiotiques ce qui favorise la croissance de cette bactérie d'une part, et d'autre part dans le groupe de patients chez qui on a retrouvé *C. jeikeium* il

n'y avait pas de plaintes cliniques. Cette étude ne démontre dès lors en rien la pathogénicité de *C. jeikeium* dans les infections urinaires mais montre que son isolement dans les urines n'est pas inhabituel. Toutefois, vu le tropisme pour le matériel étranger, la prudence devrait raisonnablement guider l'attitude du biologiste et du clinicien en cas d'isolement de *C. jeikeium* d'urinocultures d'un patient cathétérisé présentant des signes d'infection urinaire et les amener à discuter l'attitude à suivre. Dans les autres cas tel celui présenté dans cette enquête (culture pure et pyurie) une discussion avec le prescripteur et des urines de contrôle s'imposeraient.

Dès lors **les réponses *C. jeikeium* et « absence de pathogène » peuvent toutes deux être acceptées.** La recherche de *C. urealyticum*, pathogène urinaire bien établi, étant elle clairement indiquée, les réponses *Corynebacterium* sp sont insuffisantes sauf si les labos ont exclus *C. urealyticum*. Par conséquent, 87% des laboratoires ont répondu correctement l'identification.

Les laboratoires ayant effectué un antibiogramme ont pour la quasi totalité d'entre eux retrouvé le caractère multirésistant de la souche, seulement sensible à la vancomycine. A juste titre, quelques laboratoires n'ont pas fait d'antibiogramme, non seulement pour les raisons développées précédemment mais aussi parce qu'il n'y a pas de recommandations. Et en effet, **les seules recommandations existantes sont celles du CLSI, pour *Corynebacterium* spp**, définissant des breakpoints pour les antibiogrammes réalisés en microdilution. **Certains breakpoints sont propres aux corynébactéries (Pen, Erythro), d'autres sont adaptés de ceux des streptocoques (Céphalosporines), des entérocoques (Linézolide) et enfin des staphylocoques (autres AB).** Ceci explique l'attitude non orthodoxe certes mais pour autant non condamnables de nombreux laboratoires qui réalisent les antibiogrammes coryné avec des batteries strepto et ou staph. La plupart le font en diffusion. Toutefois la détermination de la CMI est clairement indiquée pour une infection sévère à *C. jeikeium* même si ceci nécessite l'envoi de la souche vers un autre laboratoire.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2010/2.

Tableau 1.2.3. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10101 (*Corynebacterium jeikeium*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline	R	149	-	-	146	3 ¹
Oxacilline	R	124	2	-	118	4 ^{1,2}
Amoxicilline-acide clavulanique	R	132	-	-	128	4 ^{1,2}
Erythromycine	R	147	4	4	134	5 ^{1,2,3}
Clarithromycine ⁴	R	2	-	-	2	-
Clindamycine	R	142	-	-	138	4 ^{1,2}
Gentamicine	R	124	1	-	119	4 ^{1,2}
Vancomycine	S	149	144	-	2	3 ¹
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	78	-	-	76	2 ¹
Lévofloxacine	R	27	-	-	27	-
Moxifloxacine	R	10	-	-	9	1 ¹
Norfloxacine	R	15	1	-	14	-
Ofloxacine	R	20	-	-	20	-

¹ Trois laboratoires ont effectué la diffusion par disque pour un certain nombre d'antibiotiques; ils ont fourni le diamètre mais pas l'interprétation.

² Un laboratoire a bien fourni le diamètre des antibiotiques mais pas l'interprétation pour les antibiotiques dont ils ont effectué la diffusion par disque. Pour la pénicilline, la vancomycine et la ciprofloxacine, ce laboratoire a utilisé l'E-test et a fourni aussi bien le résultat quantitatif que l'interprétation.

³ Un laboratoire a bien fourni le diamètre (15 mm.) pour l'érythromycine mais pas l'interprétation. Pour tous les autres antibiotiques, ce laboratoire a fourni aussi bien le résultat quantitatif que l'interprétation.

⁴ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.

1.2.4. *Streptococcus pneumoniae* M/10252

Cette souche était une souche de *Streptococcus pneumoniae*, qui était sensible à la pénicilline et aux quinolones (lévofloxacine, moxifloxacine, ofloxacine) mais résistent à l'érythromycine, à la clindamicine et à la tétracycline. Il est à noter que les automates Vitek 2 et Vitek 2 compact ont eu du mal à démontrer la résistance à l'érythromycine.

Pour cette raison, nous avons envoyé la souche à bioMérieux pour des examens complémentaires.

Leur conclusion était:

« Résultat attendu ERY (R).

L'intervalle de CMI des cartes est limité pour un résultat résistant (≥ 1 mg/L).

Nous avons constaté une discordance mineure avec l'ancienne formulation (AST-P533) et une CMI pour ERY qui est trop basse en comparaison avec la CMI de référence.

Cependant avec la nouvelle formulation, la résistance est bien détectée (la carte AST –P576 remplace la carte AST-P533 et AST-GP68 remplace les cartes GP62 & GP65) »

Le commentaire l'enquête a mentionné que la grande variation des quinolones utilisées par les laboratoires belges est étonnante. Une première considération est qu'une « réponse générale » pour la famille des fluoroquinolones n'est pas suffisante étant donné que les concentrations des breakpoints sont différentes pour les diverses quinolones. Une deuxième considération est que **l'on doit tester une fluoroquinolone dont les concentrations des breakpoints ont été fixées par le CLSI ou l'EUCAST**. Le CLSI n'a par exemple pas de breakpoints pour la ciprofloxacine et la norfloxacine. L'EUCAST n'a pas de breakpoints pour la gatifloxacine, la norfloxacine et la sparfloxacine. Dans le rapport global 2010/2 vous pouvez retrouver un tableau avec un aperçu des antibiotiques et des breakpoints du CLSI et de l'EUCAST pour tester *S. pneumoniae*.

Le commentaire a souligné que les résultats pour la pénicilline étaient excellents, indépendant de la méthode utilisé. Cependant il est important d'utiliser les critères corrects: pour les souches « non-méningites », le breakpoint de sensibilité de la pénicilline utilisé par le CLSI est ≤ 2 mg/L. L'EUCAST utilise le même breakpoint pour les « souches de pneumonie » à condition que le patient soit traité avec une dose journalière d'au moins 6x 2.4 g de pénicilline. **Le rapportage du résultat de la pénicilline selon les breakpoints actuels doit être encouragé** car ceci incite à prescrire plus fréquemment la pénicilline et l'amoxicilline et à épargner les céphalosporines de 3^e génération et les fluoroquinolones respiratoires.

Les utilisateurs des disques en papier et disques Neosensitabs (charges classiques et nouvelles) ont correctement retrouvé la résistance à l'érythromycine, à la clindamicine et à la tétracycline. Six laboratoires ont également déterminé la CMI pour l'érythromycine avec l'E-test et ont obtenu un résultat correct. Pour les utilisateurs du **Vitek 2 et surtout du Vitek 2 compact** l'on pouvait remarquer un **grand problème** pour le résultat de l'érythromycine.

En outre le commentaire a mentionné en bref les données concernant **l'évolution de la résistance aux antibiotiques** de *S. pneumoniae* en Belgique. En comparaison avec l'an 2000 (l'année avec les pourcentages de résistance les plus élevés), nous remarquons **un tournant favorable dans les années récentes**. L'évolution favorable de cette résistance peut probablement être expliquée par une combinaison de différents facteurs, comme la réduction significative de la consommation des antibiotiques – surtout en pratique ambulatoire – et la vaccination systématique des nourrissons avec le vaccin conjugué 7-valent. Ce vaccin contient quelques sérotypes multirésistants, qui jusque récemment circulaient fréquemment (14, 19F, 6B, 23F et 9V).

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2010/2.

Tableau 1.2.4.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10252 (*Streptococcus pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R
Pénicilline	S	167	163	3	1
Erythromycine	R	166	7	13	146
Clarithromycine ¹	R	5	-	-	5
Clindamycine	R	121	7	5	109
Tétracycline	R	140	7	6	127
Doxycycline ²	R	17	3	3	11
Quinolone					
Ciprofloxacine	NC	20	16	4	-
Gatifloxacine		1	1	-	-
Lévofloxacine	S	45	45	-	-
Moxifloxacine	S	68	68	-	-
Norfloxacine	NC	5	4	-	1
Ofloxacine	S	25	24	-	1
Sparfloxacine		1	1	-	-
Quinolone ³		10	9	-	1

NC: Non Conseillé pour le *S. pneumoniae*

¹ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu de l'érythromycine; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la clarithromycine et à l'érythromycine.

² Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la doxycycline au lieu de la tétracycline

³ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

1.2.5. *Streptococcus gallolyticus* M/10237

Cette souche était sensible pour la plupart des antibiotiques et n'a donc pas posé de grands problèmes pour la majorité des laboratoires. Un certain nombre d'entre eux ont cependant mentionné qu'une détermination des CMI est nécessaire.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que cette bactérie est presque toujours sensible à la pénicilline. Le commentaire a également souligné que nous devons être plus précis pour le traitement des endocardites et que la valeur de la CMI est importante pour le choix correct de la combinaison d'antibiotiques et la durée du traitement. Ci-dessous nous reprenons le schéma conseillé par l'American heart association (qui est plus développé dans le Sanford guide). Une durée plus courte peut évidemment être utilisée en cas d'absence d'endocardite et il est également conseillé de rechercher une pathologie intestinale.

CMI ≤ 0.12

β-lactame (PenG ou Ceftriaxone) + aminoside: 2 semaines

β-lactame seule: 4 semaines (> 65, ou fonction rénale diminuée, ou lésion au nerf auditif)

0.5 > CMI > 0.12

β-lactame 4 semaines + gentamicine 2 semaines

β-lactame 6 semaines + gentamicine 2 semaines en cas de valve artificielle

MIC > 0.5 (et sensible)

Ampicilline ou pénicilline 4 – 6 semaines + gentamicine 2 semaines

Intolérance aux B-lactames :

Vancomycine 4 semaines, et jusque 6 semaines en cas de valve artificielle

D'autres modifications sont basées sur la durée de l'infection avant le diagnostic: 4 semaines si < 3 mois, à prolonger à 6 semaines en cas d'une durée > 3 mois

C'est une nécessité de **tester la résistance à haut niveau des aminosides** en cas d'endocardite par entérocoques; si une telle résistance est présente, nous ne pouvons pas conseiller la combinaison d'une pénicilline avec un aminoside. Cette forme de résistance est pour le moment probablement peu fréquente chez *S. viridans* et *S. gallolyticus*, il n'existe pas de directives techniques claires dans les directives du CLSI et de l'EUCAST, mais probablement il **sera utile dans le futur d'inclure** la détection de cette résistance si on teste ces espèces.

Le tableau suivant avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2010/3.

Tableau 1.2.5.: Résultats de l'antibiogramme de M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline	S	164	135 ¹	21	1	7 ²
Vancomycine	S	161	159 ³	-	-	1 ⁴
Céphalosporines de 3e génération						
Ceftazidime	S	19	18	-	-	1 ⁵
Ceftriaxone	S	54	49 ⁶	1	1	3 ⁷
Céfotaxime	S	76	72	-	3	1 ⁸
Céfépime	S	2	2	-	-	-
Céfixime	S	1	-	-	1	-
Céphalosporine de 3e génération ⁹	S	4	4	-	-	-

¹ Deux laboratoires ont cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

² Six laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'ils n'effectuent pas) est nécessaire. Un laboratoire (avec un résultat de 0.185 mg/L pour le test MICE) a répondu: « le dosage de l'antibiotique est modifié en fonction de la CMI ».

³ Un laboratoire a cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

⁴ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

⁵ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

⁶ Un laboratoire a cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

⁷ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

Un deuxième laboratoire a mentionné que la sensibilité aux céphalosporines dépend de la sensibilité à la pénicilline (pour laquelle une détermination de la CMI, qu'il n'effectue pas, est nécessaire). Un troisième laboratoire (avec un résultat de 0.75 mg/L pour le test MICE) a répondu: « le dosage de l'antibiotique est modifié en fonction de la CMI ».

⁸ Un laboratoire a mentionné que la sensibilité aux céphalosporines dépend de la sensibilité à la pénicilline (pour laquelle une détermination de la CMI, qu'il n'effectue pas, est nécessaire).

⁹ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine utilisée.

1.2.6. *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen M/10452

Il s'agissait d'une souche, originaire d'une hémoculture, qui était résistante à l'acide nalidixique, avec pour conséquence qu'elle était également résistante aux fluoroquinolones. En plus elle était porteuse d'une BLSE.

75 laboratoires ont mentionné la présence d'une BLSE. 7 laboratoires ont mentionné de ne pas pouvoir évaluer la sensibilité aux fluoroquinolones étant donné qu'ils n'effectuent pas d'antibiogramme pour l'acide nalidixique. 21 laboratoires ont mentionné une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones sur base de la résistance à l'acide nalidixique.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que les **directives du CLSI** (M100-S20) conseillent, en cas d'isolations à partir des selles, de **tester la sensibilité pour l'ampicilline, la triméthoprime-sulphaméthoxazole et une fluoroquinolone**. Pour les **isolats extra-intestinaux** elles conseillent de tester également une **céphalosporine de troisième génération**.

La souche M/10452 était résistante aux céphalosporines de troisième génération et était productrice d'une Extended-Spectrum Beta-lactamase (ESBL, Bêta-lactamase à Spectre Étendu, BLSE). Les résultats du comité d'experts ont démontré une CMI pour la céfotaxime et la ceftriaxone de 4 mg/l pour les 2 antibiotiques. L'identification au niveau moléculaire (Prof. Youri Glupczynski) a démontré la présence du gène SHV-2 like (ESBL DNA low-density array, Check-Points, Wageningen, Pays-bas).

Les nouveaux critères d'interprétation du CLSI (M100-S20) et **les directives de l'EUCAST** proposent de **ne plus tester la production des BLSE** – le conseil des directives CLSI précédentes pour rechercher la production des BLSE se limitait d'ailleurs aux *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. et *Proteus* spp. Une partie des réponses "sensibles" pour les céphalosporines de troisième génération en utilisant les disques peut être expliquée par l'utilisation d'anciens critères du CLSI.

En plus la souche M/10452 était résistante aux quinolones telles que la ciprofloxacine, la moxifloxacine et la levofloxacine. Les résultats du comité d'experts ont démontré une CMI pour la ciprofloxacine de 0.5 mg/l. A cause de leur pénétration intracellulaire, les quinolones sont des antibiotiques efficaces dans le traitement des infections extra-intestinales par *Salmonella* spp., et ils sont par exemple le premier choix pour le traitement de la fièvre typhoïde.

Les breakpoints du CLSI pour la ciprofloxacine pour les *Enterobacteriaceae* sont ≤ 1 mg/l et ≥ 4 (donc > 2) mg/l, ceux de l'EUCAST sont ≤ 0.5 mg/l et > 1 mg/l. Les observations cliniques ont montré que certains patients souffrant de la fièvre typhoïde ne réagissaient pas bien au traitement avec les fluoroquinolones, malgré leur sensibilité apparente *in-vitro*. Ces isolats semblaient avoir une "decreased ciprofloxacin susceptibility" ("DCS"), avec des valeurs de CMI entre 0.125 mg/l et 1.0 mg/l. Le mécanisme de résistance est basé sur une mutation ponctuelle dans le gène *gyrA*, qui cause la substitution d'un acide aminé dans l'ADN-gyrase bactérienne, qui forme la cible des fluoroquinolones. La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones peut être détectée avec une bonne précision à l'aide de la résistance à l'acide nalidixique, un précurseur des fluoroquinolones. Les isolats résistants à l'acide nalidixique sont indiqués comme "nalidixic acid resistant S. Typhi" ou "NARST". Une petite proportion des souches "DCS" ne peut cependant pas être retrouvée à l'aide de la détection de la résistance à l'acide nalidixique. Le **manuel du CLSI** conseille donc en cas d'**isolats extra-intestinaux** de **tester la sensibilité à l'acide nalidixique et en cas de résistance d'informer le clinicien de la possibilité d'échec thérapeutique des quinolones**. Les **directives de l'EUCAST** mentionnent l'alternative de tester l'acide nalidixique

dans les versions antérieures mais l'ont supprimé dans la version 1.2 de décembre 2010, et l'ont complété avec la **“low-level fluoroquinolone resistance”**, définie comme une valeur de CMI pour la ciprofloxacine > 0.064 mg/l. Il est donc nécessaire d'effectuer la **détermination de la CMI pour la ciprofloxacine**, qui peut être effectuée avec les E-strips ou languettes similaires (Tableau 1.)

Le tableau ci-dessous présente cette approche différente du CLSI et de l'EUCAST.

Tableau 1.2.6. Sensibilité diminuée de *Salmonella* spp. aux fluoroquinolones, approche du manuel du CLSI et les directives de l'EUCAST.

CLSI M100-S20	EUCAST
Valeur de CMI de Ciprofloxacine pour les Enterobacteriaceae: ≤ 1 mg/l et ≥ 4 mg/l (> 2 mg/l)	Valeur de CMI de Ciprofloxacine pour les Enterobacteriaceae: ≤ 0.5 mg/l et > 2 mg/l
Déterminer la résistance à l'acide nalidixique pour tester la "reduced fluoroquinolone susceptibility" en cas d'infections extra-intestinales à <i>Salmonella</i> spp.	"Low level fluoroquinolone resistance" de <i>Salmonella</i> spp. en cas de valeur de CMI de ciprofloxacine > 0.064 mg/l

Le tableau suivant présente les résultats qui ont été obtenu par les participants et a été publié dans le rapport global 2010/3.

Tableau 1.2.7.: Résultats de l'antibiogramme de M/10452 (*Salmonella* Typhimurium var. Copenhagen)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Acide nalidixique	R	112	-	-	112	-
Ampicilline	R	164	-	-	162	2 ¹
Céphalosporines de 3e génération						
Céfotaxime	R	86	5	7	74	-
Ceftazidime	R	58	8	4	46	-
Ceftriaxone	R	34	1	7	24	2 ²
Céfépime	R	1	-	-	1	-
Céphalosporine de 3e gén ³	R	5	1	-	4	-
Fluoroquinolones						
Ciprofloxacine		131	38 ⁴	8	79	6 ⁵
Lévofloxacine		25	10	-	15	-
Moxifloxacine		1	-	-	-	1 ⁶
Norfloxacine		11	3	-	7	1 ⁷
Ofloxacine		6	3 ⁸	1	-	2 ⁹
Fluoroquinolone ¹⁰		2	-	-	2	-

- ¹ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre et le résultat brut (« R ») mais pas le résultat final. Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.
- ² Un laboratoire a bien mentionné le diamètre et le résultat brut (« R ») mais pas le résultat final. Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.
- ³ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine utilisée.
- ⁴ Un certain nombre de laboratoires ont pourvu la réponse « S » d'une remarque:
- l'acide nalidixique est résistant:→ possibilité de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine:
→l'éradication peut être incomplète
 - le résultat de la ciprofloxacine est sous réserve étant donné qu'il n'y a pas de résultat pour l'acide nalidixique (envoyé en routine) et qu'il s'agit d'un isolat extra-intestinal
 - l'acide nalidixique est résistant:→ contact téléphonique avec le clinicien pour discussion du traitement
 - l'acide nalidixique pourrait indiquer une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine in vivo mais n'est pas testé en routine au labo
 - risque d'échec thérapeutique en cas de traitement avec fluoroquinolones
- ⁵ Cinq laboratoires ont mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'ils ne testent pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones. Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire
- ⁶ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.
- ⁷ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.
- ⁸ Un laboratoire a mentionné que l'acide nalidixique est résistant:→ sensibilité diminuée aux fluoroquinolones in vivo (détermination de la CMI nécessaire).
- ⁹ Deux laboratoires ont mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'ils ne testent pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.
- ¹⁰ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la fluoroquinolone utilisée.

II. PARASITOLOGIE

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

2.1. Enquête 1

Deux suspensions de selles formolées, P/7374 et P/9839 ont envoyées. 169 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/7374 contenait des œufs d'*Hymenolepis nana*.

Hymenolepis nana (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 164 (97.0%) laboratoires. Les œufs ont été retrouvés par 157 (95.7%) des participants.

L'échantillon P/9839 contenait des oocystes de *Cryptosporidium parvum*.

Cryptosporidium parvum (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 154 (91.1%) laboratoires. Les oocystes ont été retrouvés par 124 (80.5%) participants.

Le commentaire concernant l'enquête a décrit le cycle de vie, la symptomatologie, l'épidémiologie et le diagnostic au laboratoire des cryptosporidies. **Le diagnostic de routine** est basé sur **la mise en évidence des oocystes dans les échantillons de selles** ou dans les prélèvements obtenus par biopsies intestinales soit par examen microscopique soit par recherche antigénique. L'examen microscopique est réalisé **après concentration des selles**. Bien que les oocystes puissent être reconnu sans coloration, le diagnostic microscopique se fait essentiellement par **la technique de Ziehl-Neelsen** modifiée par Henriksen et Pohlenz qui met en évidence les oocystes sous forme d'éléments arrondis ou ovalaires de 4 à 6 µm de diamètre en fonction des espèces, **colorés en rouge vif** sur le fond bleu du contre colorant.

La coloration à base d'auramine-phénol (AP) est également utilisée. Les oocystes apparaissent de forme ronde ou ovoïde et présentent une **fluorescence vert pomme** brillante caractéristique sur un fond sombre.

Récemment, des méthodes de détection des acides nucléiques ont été développées. Celles-ci sont souvent plus sensibles que les tests microscopiques et immunologiques pour détecter les oocystes fécaux, mais sont souvent restreintes à des laboratoires spécialisés et peuvent être utiles dans le cadre d'épidémie.

2.2. Enquête 2

Un frottis sanguin, P/9405, a été envoyé et un parasite tissulaire, P/9274, a été présenté sous forme de photographies sur notre site web.

177 laboratoires ont participé à l'enquête pour le parasite sanguin et 173 à l'enquête pour le parasite tissulaire.

Les photos de l'échantillon P/9274 montraient un kyste et des scolex d'*Echinococcus granulosus*.

Echinococcus granulosus a été identifié par 170 (98.3%) laboratoires ; les 3 autres ont répondu *Echinococcus multilocularis*. 82 participants ont mentionné le kyste ; 74 ont mentionné les scolex.

Le commentaire concernant l'enquête a présenté une description de différentes structures macroscopiques et microscopiques, qui peuvent être identifiés dans le diagnostic **parasitologique** (kyste **hydatique**, **scolex**, **crochets**,...). **Le diagnostic au laboratoire** est cependant **principalement** basé sur la **sérologie**, qui est effectuée à l'Institut de Médecine tropicale à Anvers. Le commentaire a également décrit le cycle de vie et le traitement.

L'échantillon P/9405 contenait des trophozoïtes, des schizontes et des gamétocytes de *Plasmodium ovale*.

Plasmodium ovale (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 74 (41.8%) laboratoires. 43 (24.3%) laboratoires ont répondu *Plasmodium* non-falciparum et 19 (10.7%) *Plasmodium* species. 36 (20.3%) laboratoires ont proposé un des 2 autres *Plasmodium* non-falciparum comme identification.

Pour *Plasmodium ovale*, 71 (95.9%) participants ont retrouvé les trophozoïtes, 60 (81.1%) participants les schizontes et 23 (31.1%) participants les gamétocytes.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné une fois de plus l'intérêt de réaliser la distinction entre *P. falciparum* et les autres espèces. Sont considérées comme "erreurs majeures": ne pas retrouver un *P. falciparum*, répondre faussement *P. falciparum* et la non détermination de l'espèce en cas *P. falciparum* (réponse *Plasmodium* species). La raison est que l'approche thérapeutique est différente en cas d'une infection par *P. falciparum*, et ce aussi bien en ce qui concerne le choix des produits qu'en ce qui concerne l'urgence.

2.3. Enquête 3

Deux suspensions de selles formolées, P/10417 et P/10603, ont été envoyés.

163 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/10417 contenait des œufs de *Schistosoma mansoni*.

Schistosoma mansoni (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 139 (85.3%) laboratoires. 136 laboratoires ont mentionné la présence des œufs.

Le commentaire concernant l'enquête a décrit la distribution géographique des différentes espèces des Schistosomes, une courte description du cycle de vie et les œufs des différentes espèces des Schistosomes (les différences entre les œufs permettent d'identifier les espèces).

L'échantillon P/10603 était négatif en ne contenant pas de parasites.

145 (89.0%) laboratoires ont répondu « Absence de parasites ». 3 (1.8%) laboratoires ont inversé les 2 échantillons. 14 (8.6%) laboratoires ont rapporté la présence d'un parasite et 1 (0.6%) laboratoire la présence de 2 parasites.

Cet échantillon a déjà été envoyé lors des enquête 2007/1 sous le numéro P/7255 et 2006/1 sous le numéro P/6695.

Le tableau suivant présente la comparaison des résultats des 3 enquêtes.

Tableau 2.2. Comparaison des résultats pour les échantillons P/10603 (2010/3), P/7255 (2007/1) et P/6695 (2006/1) (échantillon négatif)

Numéro d'échantillon (enquête)	% labos avec résultat "négatif"
P/10603 (2010/3)	89.0%
P/7255 (2007/1)	92.1%
P/6695 (2006/1)	86.8%

2.4. Utilisation du Toolkit

Le nombre de réponses envoyé par voie informatique (Toolkit) est respectivement 49.7%, 63.8% et 49.7% 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,...

2.5. Tests rapides malaria

En 2010 également, trois échantillons ont été envoyés pour la recherche de l'antigène de la malaria. Ces échantillons étaient des sangs prélevés sur EDTA, conservés à -70°C et donc hémolysés ; cependant la conservation à -70°C n'influçait pas la stabilité des antigènes de *Plasmodium*.

Les échantillons nous étaient fournis par le centre de référence, l'Institut de Médecine tropicale (à Anvers).

Les résultats attendus (basé sur les résultats du centre de référence) étaient:

P/10085 *P. falciparum* (une infection mixte avec *P. vivax*, *P. ovale* ou *P. malariae* ne peut être exclue).

P/10086 Négatif

P/10087 *P. vivax* ou *P. ovale* ou *P. malariae* ou une infection mixte avec *P. vivax* et/ou *P. ovale* et/ou *P. malariae*

Cent-vingt-huit laboratoires ont participé à cette enquête. Seuls le laboratoire de référence et un laboratoire qui disposait de 2 trousse (la trousse de routine et une trousse en phase de test) ont utilisé plus qu'une trousse; tous les autres laboratoires ont effectué un test par échantillon,

Les trousse les plus utilisées étaient: Binax Now malaria (Alere Health) (41.5%), Palutop 4+ (All Diag) (20.0%), OptiMAL-IT (Diamed) (16.2%), Care Start Malaria (AccessBio) (9.2%) et S.D. Bioline Malaria Ag P.f./Pan (Standard Diagnostics) (9.2%).

Les réponses peuvent être résumées par échantillon comme suit:

Tableau 2.5.1. Résultats par laboratoire pour l'échantillon P/10085 (résumé).

Résultat	N labos
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> (une infection mixte ne peut pas être exclue) (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	57
Positif <i>Plasmodium</i> spp. et positif <i>Plasmodium falciparum</i> .	3
<i>Plasmodium falciparum</i> Ag : Positif - <i>Plasmodium vivax</i> Ag : négatif.	1
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	42
<i>Plasmodium</i> Ag positif (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	8
Positif (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	11
<i>Plasmodium</i> sp (<i>vivax</i> , <i>ovale</i> , <i>malariae</i>) (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	2
Trousse 1: test d'antigène positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> . Possibilité d'infection mixte de <i>Plasmodium falciparum</i> avec un <i>P. ovale</i> , <i>P. malariae</i> ou <i>P. vivax</i> . Trousse 2: <i>P. falciparum</i>	1
Réponse sur base de la microscopie.	2
Pas de réponse	1
Total	128

Tableau 2.5.2. Résultats par laboratoire pour l'échantillon P/10086 (résumé).

Résultat	N labos
Négatif (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	119
Négatif pour <i>P. falciparum</i> et <i>P. vivax</i> .	2
Négatif pour <i>P. falciparum</i> .	1
Trousse 1: test d'antigène négatif pour <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i> , <i>Plasmodium malariae</i> et <i>Plasmodium vivax</i> . Trousse 2: Négatif	1
<i>Plasmodium falciparum</i> . Si images au microscope typiques. Si non rajoute du commentaire « la possibilité d'une infection mixte par <i>Plasmodium vivax</i> , <i>ovale</i> , <i>malariae</i> ne peut être exclue ».	1
Réponse sur base de la microscopie.	2
Pas de réponse	2
Total	128

Tableau 2.5.3. Résultats par laboratoire pour l'échantillon P/10087 (résumé).

Résultat	N labos
Trousses de routine: Résultat positif pour <i>P. vivax</i> ou <i>P. ovale</i> ou <i>P. malariae</i> ou une infection mixte avec <i>P. vivax</i> et/ou <i>P. ovale</i> et/ou <i>P. malariae</i> . Trousse spécifique pour <i>P. vivax</i> : Positif pour <i>Plasmodium vivax</i>	1
Trousse 1: test d'antigène négatif pour <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i> , <i>Plasmodium malariae</i> et <i>Plasmodium vivax</i> . Trousse 2: Positif pour <i>Plasmodium vivax</i> .	1
Positif pour <i>Plasmodium vivax</i> (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	30
Positif pour <i>Plasmodium</i> non- <i>falciparum</i> (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	29
Positif pour <i>Plasmodium</i> species (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	9
Positif (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	4
Négatif (différentes variantes de cette réponse sont possibles)	49
Négatif pour <i>P. falciparum</i> .	1
Réponse sur base de la microscopie.	2
Pas de réponse	2
Total	128

Tous les résultats négatifs pour cet échantillon ont été obtenus avec la trousse Binax Now malaria. Cette trousse n'a fourni aucun résultat positif: les laboratoires ayant utilisé cette trousse mais qui ont renvoyé au résultat de la microscopie pour le résultat au clinicien ou qui ont laissé ouvert ce résultat, ont également obtenu des "bandes" négatives avec cette trousse.

En outre de l'enquête proprement dite, nous avons également envoyé un questionnaire aux laboratoires. Ce questionnaire a demandé après l'utilisation et l'interprétation des tests rapides malaria dans les laboratoires en 2010. Vous pouvez retrouver les réponses à ce questionnaire dans le rapport global 2010/2.

Le commentaire concernant cette enquête a d'abord traité la définition et le principe des tests Rapides Malaria (Malaria Rapid Diagnostic Tests, MRDT). Ensuite les résultats et interprétation pour les différents échantillons ont été analysé et discuté; dans cette discussion le lien entre les résultats et l'information reprise dans les inserts a été discuté; les sensibilité des différents MRDT ont également été mentionné. Pour finir, le commentaire a analysé les réponses au questionnaire. Vous pouvez retrouver ce commentaire détaillé sur notre site web:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_2010.htm

III. SEROLOGIE INFECTIEUSE

En 2010, les paramètres sérologiques pour la rubéole, la syphilis, l'hépatite A, la toxoplasmose, l'hépatite B, l'hépatite C et le VIH ont été évalués. Le nombre de participants dépendait du paramètre. Pendant la 2e enquête nous avons également envoyé des échantillons d'urine pour la détection de l'antigène de la Legionella.

3.1. La rubéole

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Rubella, S/9769 et S/9770. L'interprétation devrait être effectuée sur l'ensemble des 2 échantillons.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

« Souhait de grossesse chez une patiente vaccinée. Les échantillons S/9769 et S/9770 ont été prélevés respectivement 1 et 2 mois après la vaccination. »

Les résultats et interprétations attendues étaient :

S/9769: IgG positif, IgM positif
S/9770: IgG positif, IgM négatif
Interprétation:
IgG positif dans les 2 échantillons
IgM positif un mois après vaccination et IgM négatif dans le deuxième prélèvement (code 005)

La répartition des tests effectués par laboratoire est présentée dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1.1. La répartition des tests effectués par laboratoire pour la rubéole (2010/1).

Tests effectués	N labos S/9769	N labos S/9770
Ac totaux seuls	1	1
IgG seuls	12	12
IgG + IgM	136	147
IgG + 2 IgM	14	3
Total	163	163

Sur l'échantillon S/9769 ont donc été effectués: 1 détermination des anticorps totaux, 162 déterminations des IgG et 164 déterminations des IgM. Sur l'échantillon S/9770 ont respectivement été effectués 1 détermination des anticorps totaux, 162 IgG et 153 IgM

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): AxSym Rubella IgG (Abbott) (17.9%), Architect Rubella IgG (Abbott) (17.3%), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (16.7%), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (14.8%)
- IgM: VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (21.3% et 17.0%), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (16.5% et 17.6%), AxSym Rubella IgM (Abbott) (15.8% et 16.3%), Architect Rubella IgM (Abbott) (15.2% et 16.3%)

Les résultats des IgG:

Pour les IgG, un laboratoire a obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/9769 et un résultat positif pour l'échantillon S/9770. Un deuxième laboratoire a obtenu un résultat borderline pour l'échantillon S/9769 et un résultat positif pour l'échantillon S/9770. Tous les 160 autres laboratoires ont obtenu des résultats positifs pour les 2 échantillons. Pour chacun des appareils utilisés, les médianes obtenues pour l'échantillon S/9770 étaient plus élevées que celles obtenues pour l'échantillon S/9769.

162 laboratoires ont donné une interprétation pour les IgG: 111 (68.5%) laboratoires ont choisi « IgG positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination »; 42 (25.9%) ont opté pour « IgG positives dans les 2 échantillons. Pas d'augmentation significative du titre » et 6 (3.7%) ont préféré « IgG borderline positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination ». Trois laboratoires ont choisi d'autres interprétations.

La relation entre les trousseuses utilisées, les résultats qualitatifs des 2 échantillons, les résultats quantitatifs et les interprétations a été reprise dans le rapport global.

Les résultats des IgM:

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global.

Tableau 3.1.2. Résultats des IgM anti-Rubella (2010/1).

Résultat S/9769	Résultat S/9770	N labos
Positif	Positif	2
Positif	Borderline	8
Positif ¹	Borderline /Négatif ²	1
Positif ³	Négatif ⁴	80
Positif/Borderline ²	Borderline /Négatif ²	1
Positif/Borderline ²	Négatif	5
Borderline ⁵	Négatif	44
Négatif	Négatif	9
Total		150

¹ Un laboratoire a obtenu le résultat « positif » pour S/9769 avec les 2 techniques qu'il a utilisées.

² Un certain nombre de laboratoires ont obtenu des résultats différents avec les différentes techniques qu'ils ont utilisées.

³ Y compris 6 laboratoires qui ont obtenu le résultat « positif » avec les différentes techniques qu'ils ont utilisées.

⁴ Y compris 1 laboratoire qui a obtenu le résultat « négatif » avec les différentes techniques qu'il a utilisées.

⁵ Y compris 1 laboratoire qui a obtenu le résultat « borderline » avec les différentes techniques qu'il a utilisées.

150 laboratoires ont donné une interprétation pour les IgM: 107 (71.3%) laboratoires ont choisi « IgM positives un mois après vaccination et IgM négatives dans le deuxième prélèvement »; 21 (14%) ont opté pour « IgM borderline un mois après vaccination et IgM négatives dans le deuxième prélèvement »; 8 (5.3%) laboratoires ont référé dans leur interprétation aux résultats positifs pour les IgM dans les 2 échantillons, 14 (9.3%) autre ont référé aux résultats négatifs IgM pour les IgM dans les 2 échantillons.

Le commentaire de l'enquête a étudié de plus près la notion d' "augmentation significative du titre". Dans la littérature, **une augmentation significative** est définie par une **augmentation d'au moins 4 fois le titre entre 2 échantillons**. Cette définition est applicable aux **méthodes semi-quantitatives qui utilisent des dilutions en série** telles que fixation du complément, immunofluorescence, ... Pour les **tests immunoenzymatiques**, qu'ils soient exprimés en index, unités arbitraires, unités internationales, etc., il n'existe pas de consensus à ce sujet. Certains auteurs proposent **un doublement du signal** (densité optique, unités de luminescence, ...) comme significatif. Une autre approche serait d'utiliser **le coefficient de variation intra-essai** de

la technique et de considérer une **différence** d'au moins **3 écarts-type entre 2 échantillons comme significative**. Quelque soit le critère utilisé, il est impératif de **tester les échantillons dans la même série** pour évaluer une différence entre ceux-ci.

D'une manière générale, lorsque l'on se trouve face à un **résultat d'IgM positif**, il faut demander un **second prélèvement** 2 à 3 semaines plus tard, ainsi que des **renseignements cliniques et le contexte** dans lequel le test a été demandé. En effet, **après vaccination**, la majorité (85-95 % selon les études) des personnes développent des **anticorps de type IgM** et ceux-ci peuvent persister plus de 6 mois dans certains cas. Il est donc utile d'exclure en priorité cette possibilité. D'autre part, une rubéole est **peu probable chez l'adulte en dehors de tout symptôme ou de notion de contact avec un cas de rubéole**. Donc, si dans ce contexte, on observe une stabilité des IgG et des IgM 3 semaines plus tard, on peut raisonnablement exclure une infection récente.

A l'occasion de cette enquête nous avons demandé les cut-offs utilisés par les laboratoires, aussi bien pour la détermination de l'immunité que pour la détermination de positivité des IgM. Il était remarquable que, même si la plupart des cut-offs étaient comparables, nous ayons constaté des différences, non seulement entre les différentes trouses, mais même au sein d'une même trousse. Comme déjà mentionné dans le rapport de 2008, **un cut-off différent de celui préconisé par le fabricant peut être utilisé, mais il doit être validé**.

3.2. La syphilis

2 échantillons lyophilisés, S/8683 et S/8684 ont été envoyés pour effectuer la détermination des anticorps anti-tréponémiques.

Echantillons S/8683 et S/8684

« Un médecin travaillant dans un centre de référence pour MST reçoit en consultation consécutivement 2 hommes, qui mentionnent tous les 2 avoir des contacts sexuels libres. Le premier patient (échantillon S/8683) vient pour un check-up et n'a pas de plainte. Le deuxième patient (échantillon S/8684) consulte pour une éruption cutanée généralisée et mentionne avoir eu un ulcère génital trois semaines auparavant. L'ulcère a guéri spontanément. »

Les interprétations attendues étaient:

S/8683: Interprétation: « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active. »

S/8684: Interprétation: « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active. »

165 laboratoires ont participé à cette enquête.

Sur l'échantillon S/8683 les 165 laboratoires ont effectué 354 tests (1 labo a répondu les IgG et IgM séparément pour une même trousse), à savoir 202 tests tréponémiques et 152 tests non-tréponémiques.

11 laboratoires ont effectué 1 test, 128 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests, 7 laboratoires ont effectué 4 tests et 1 laboratoire a effectué 5 tests.

Sur l'échantillon S/8684 ils ont effectué 355 tests (1 labo a répondu les IgG et IgM séparément pour une même trousse), à savoir 203 tests tréponémiques et 152 tests non-tréponémiques.

11 laboratoires ont effectué 1 test, 128 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests, 6 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires 5 tests.

72.7% des laboratoires effectuant 1 test, ont utilisé un test tréponémique et 27.3% un test non-tréponémique. 96.1% des laboratoires effectuant plus d'un test ont utilisé la combinaison de tests tréponémiques et non-tréponémiques et 3.9% uniquement des tests tréponémiques.

Les trousse les plus utilisées sont Serodia TPPA (Fujirebio) (49.1% pour les 2 échantillons), Murex Syfacard-R (Abbott) (21.8% pour les 2 échantillons), RPR Carbon (Spinreact) (18.2% pour les 2 échantillons), Liaison Treponema Screen (DiaSorin) (14.5% et 15.1%), RPR nosticon (bioMérieux) (14.5% pour les 2 échantillons) et Architect Syphilis TP (Abbott) (13.9% pour les 2 échantillons).

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

Pour les tests non-tréponémiques pour l'échantillon S/8683, 51% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 33.1% un résultat positif et 15.2% un résultat borderline; un laboratoire a obtenu des résultats différents (positif et négatif) avec les 2 trousse utilisées.

Pour les tests tréponémiques 99.4% des laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif pour les anticorps "totaux". Pour les IgG, 5 laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif; les 6 laboratoires ayant recherché les IgM ont tous obtenu un résultat négatif.

109 (66.1%) laboratoires ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active ». 3.0% des laboratoires ont choisi cette même interprétation mais ont ajouté une remarque. 18.8% ont préféré « Présence d'anticorps suggestifs

d'une infection active ». 10.9% des laboratoires ont proposé leur propre suggestion, (qui tenait compte de la présence d'anticorps). 1.2% ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps ».

Pour les tests non-tréponémiques pour l'échantillon S/8684, 98% des laboratoires ont obtenu un résultat positif, 1.3% un résultat négatif et 0.7% un résultat borderline. Pour les tests tréponémiques pour les anticorps "totaux", 95.0% des laboratoires ont obtenu un résultat positif, 1.9% un résultat borderline, 1.9% un résultat négatif et 1.2% des résultats différents (positif et négatif) avec les 2 trousseuses utilisées. Pour les IgG 4 laboratoires ont obtenu un résultat positif, un laboratoire un résultat borderline et un laboratoire un résultat négatif; les 6 laboratoires ayant recherché les IgM ont tous obtenu un résultat positif.

La plupart des laboratoires (N = 155; 93.9%) ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ». 1.2% ont préféré « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active ». 3.0% des laboratoires ont déclaré de ne pas pouvoir faire la distinction entre infection active ou non-active (certains ont suggérés d'effectuer des tests complémentaires et/ou de suivi). 1.8% des laboratoires ont proposé leur propre suggestion, (qui tenait compte de la présence d'anticorps).

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que le nombre de remarques ajoutés par les laboratoires au résultat de l'échantillon S/8683 illustre bien **la difficulté d'établir un diagnostic sur seule base des résultats de laboratoire chez des patients à risque**. Afin de faire **une interprétation complète correcte, les données cliniques, une bonne anamnèse et les résultats des examens cliniques anciens sont nécessaire et il peut être nécessaire d'examiner un échantillon de suivi**.

Pour l'échantillon S/8684 le commentaire a mentionné qu'un échantillon de suivi n'est pas vraiment nécessaire pour établir le diagnostic dans cette situation. **Les patients qui ont un comportement à risque sont testés tous les 3 mois**. Ce suivi permet d'évaluer l'effet du traitement et de rechercher une éventuelle réinfection.

3.3 L'hépatite A

Deux échantillons ont été envoyés : S/6529 (lyophilisé) et S/10041 (prêt à l'emploi) pour effectuer la sérologie d'hépatite A.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante: « Patients souffrant de jaunisse. »

Les résultats et interprétations attendues étaient:

Echantillon S/6529

IgG négatifs, IgM négatifs
Pas d'immunité

Echantillon S/10041

IgG positifs, IgM positifs
Profil sérologique suggestif d'une infection récente/actuelle causée par le virus de l'hépatite A

Au total 166 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse ; ils ont effectué 313 tests sur l'échantillon S/6529 et 317 tests sur l'échantillon S/10041.

Sur l'échantillon S/6529, 20 laboratoires ont effectué un test, 145 laboratoires 2 tests et 1 laboratoire 3 tests.

Sur l'échantillon S/10041 18 laboratoires ont effectué un test, 145 laboratoires 2 tests et 3 laboratoires 3 tests.

Le tableau ci-dessous reprend les paramètres effectués par laboratoire.

Tableau 3.3.1. Nombre de participants répartis par paramètre pour l'HAV (2010/2)

Nombre de tests	Types de tests	S/6529	S/10041
1 test	Ac totaux	4	2
	IgM	16	16
2 tests	Ac totaux + IgM	110	111
	IgG + IgM	35	34
3 tests	Ac totaux + 2 IgM	1	2
	IgG + 2 IgM	-	1
Total		166	166

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect HAV IgG (Abbott) (100% les 2 échantillons) (il n'existe qu'une trousse pour détermination des IgG anti-HAV sur le marché belge)
- Ac. totaux: AxSym HAVAB 2.0 (Abbott) (19.1% les 2 échantillons), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (19.1% les 2 échantillons), Advia Centaur HAV Total (Siemens) (13.9% les 2 échantillons), Modular anti-HAV (Roche) (11.3% les 2 échantillons) et Unicel DxI HAV AB (Beckman) (10.4% les 2 échantillons)
- IgM: Architect HAV IgM (Abbott) (22.7% et 22.2%), AxSym HAVAB M 2.0 (Abbott) (17.2% et 17.4%), VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (14.1% et 14.9%) en Advia Centaur HAV IgM (Siemens) (9.8% et 9.6%)

Pour l'échantillon S/6529, tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux, les ont trouvés négatifs.

Les IgG ont été considérées comme négatifs par 34 (97.1%) laboratoires. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatifs.

91% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Pas d'immunité ». 3.6% ont donné comme interprétation « Pas d'arguments pour une infection récente/actuelle causée par le virus de l'hépatite A » et 3.6% « L'interprétation du statut immunitaire est impossible sur seule base des IgM/ des tests complémentaires (HAV IgG) sont nécessaires ». Ces 2 dernières interprétations ont été fournies par des laboratoires qui ne déterminent que les IgM. Un laboratoire a répondu « Immunité » ; et 2 laboratoires n'ont pas donné d'interprétation.

Pour l'échantillon S/10041, tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux ou les IgG, les ont trouvés positifs.

81.7% des laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés positifs et 17.7% les ont trouvés borderline. Un laboratoire qui a utilisé 2 techniques différentes a obtenu des résultats différents (positif et borderline) avec ces 2 techniques. Tous les résultats borderline ont été obtenus avec la trousse Architect HAVAb IgM (30 des 37 utilisateurs de cette trousse ont obtenu un résultat borderline et 7 un résultat positif). Nous avons envoyé l'échantillon à la firme Abbott afin de leur permettre de l'examiner. Ci-dessous vous trouverez leurs conclusions:

We appreciate you bringing this to our attention. We have reviewed the documented complaint information and note that you have observed a potentially depressed proficiency sample result with ARCHITECT HAVAb-IgM, list number 6C30-25. The lot number was not provided due to the blind study character. The proficiency sample was received and tested.

- A review of the shipping history was performed and we have reviewed the complaint and manufacturing records for ARCHITECT HAVAb-IgM reagent kits, list number 6C30-25, potentially being used at your laboratory (i.e. lot numbers 82015HN00, 83890HN00, 83895HN00, 86820HN00 and 88958HN00). This review did not identify any problems relating to your observation.
- To assess current sensitivity performance, one of the above mentioned reagent lot numbers in question was tested with a commercially available seroconversion panel consisting of 5 individual panel members. The results were comparable with historic reference data generated on this seroconversion panel. As an outcome of this study, we conclude that current sensitivity performance of ARCHITECT HAVAb-IgM meets its safety, effectiveness, and label claims.
- The provided proficiency sample (ID: 10041) was tested with ARCHITECT HAVAb-IgM reagent kit, list number 6C30-20, lot number 83894HN00 and resulted gray-zone reactive with 0.97 S/CO. Subsequent reference testing with AxSYM HAVAB-M 2.0 resulted reactive with an Index Value of 2.57. Both results reproduce the observations made in your laboratory.

Based on our investigation, we have determined that ARCHITECT HAVAb-IgM, list number 6C30-20, lot number 83894HN00, is performing acceptably. The components of this reagent lot are identical with list number 6C30-25, lot number 83895HN00, potentially in use at your laboratory.

However, the gray-zone result with ARCHITECT HAVAb-IgM that does not confirm with AxSYM HAVAB-M 2.0 could be reproduced for the proficiency sample in question. It remains unclear why you observed a potential false depressed result with the Proficiency sample. Please note that the ARCHITECT HAVAb-IgM assay was designed and validated for use with human serum or plasma from individual patient and donor specimens. In addition, the analytical sensitivity of different assays is not comparable, discrepant results can be explained by the different assay formats, different antigens and antigen concentrations used by the different assays.

We apologize for any inconvenience this may have caused you. Thank you for providing the information to assist with our investigation and for your continued support of Abbott Diagnostics. Note: Upon receipt of further information or product return this complaint may be reopened and additional evaluation conducted at that time.

90.3% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Profil sérologique suggestif d'une infection récente/actuelle causée par le virus de l'hépatite A ». 4.2% des laboratoires (principalement des laboratoires qui ont obtenu un résultat borderline pour les IgM) ont donné comme interprétation « Immunité » ; et 3.0% ont conseillé de contrôler le résultat borderline (où certains ont soulevé la possibilité d'une interférence) ; 1.8% des laboratoires ont répondu que des tests complémentaires (HAV IgG) sont nécessaires ». Un laboratoire n'a pas donné d'interprétation.

Le commentaire concernant l'enquête a discuté d'il faut oui ou non, prélever des échantillons de suivi. Pour l'échantillon S/6529 le commentaire a mentionné qu'étant donné que les IgM atteignent leur maximum au cours de la phase symptomatique de l'infection par hépatite A et qu'il s'agissait d'un patient symptomatique (jaunisse), l'exécution d'une sérologie de suivi par un nouveau prélèvement n'est pas indiquée. Pour l'échantillon S/10041 le commentaire a mentionné qu'étant donné que le profil sérologique et le contexte clinique sont très suggestifs pour une infection **récente/actuelle** causée par le virus de l'hépatite A et que la négativation des IgM peut prendre quelques mois, les confirmations/sérologies de suivi ne sont pas indiquées.

3.4 Le toxoplasme

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Toxoplasme, S/5622 et S/6629.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/5622: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »

S/6629: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »

Les résultats attendus étaient :

S/5622: IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps spécifiques

S/6629:

IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien

(anticorps protecteurs)

164 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 336 tests sur l'échantillon S/5622 et 362 tests sur l'échantillon S/6629.

Pour l'échantillon S/5622, 158 laboratoires ont effectué 2 tests, 4 laboratoires ont effectué 3 tests et 2 laboratoires ont effectué 4 tests.

Pour l'échantillon S/6629, 135 laboratoires ont effectué 2 tests, 24 laboratoires ont effectué 3 tests et 5 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 2010/2)

Nombre de tests	Types de tests	S/5622	S/6629
2 tests	IgG + IgM	158	135
3 tests	IgA + IgG + IgM	2	1
	IgG + IgM + IgM	1	1
	IgG + IgM + avidité	1	22
4 tests	IgG + IgG + IgM + IgM	2	2
	IgA + IgG + IgM + avidité	-	1
	IgG + IgM + IgM + avidité	-	2
Total		164	164

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): AxSym Toxo IgG (Abbott) (18.7%), Architect Toxo IgG (Abbott) (17.5%), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (15.7%), VIDAS Toxo IgG II (bioMérieux) (12.0%), Unicel Dxl Toxo IgG (Beckman) (9.6%) et Advia Centaur Toxo IgG (Siemens) (7.8%)
- IgM: AxSym Toxo IgM (Abbott) (18.6% en 18.3%), Architect Toxo IgM (Abbott) (16.8% et 16.6%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (15.6% et 15.4%), VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (12.6% et 13.0%), Unicel Dxl Toxo IgM (Beckman) (9.6% et 9.5%) et Advia Centaur Toxo IgM (Siemens) (7.2% et 7.7%)
- IgG avidité (échantillon M/6974): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (72%)

Pour l'échantillon S/5622, 99.4% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG. Un laboratoire a obtenu un résultat positif (inversion des échantillons).

Les 2 laboratoires ayant dosé les IgA, les ont trouvées négatives.

93.9% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM; 2.4% un résultat positif et 2.4% un résultat borderline. 1.2% des laboratoires ont obtenu des résultats différents pour les 2 trousse qu'ils ont utilisées. Tous les résultats non-négatifs ont été obtenus avec la trousse ADVIA Centaur Toxo IgM. La firme a été contactée à ce sujet. Vous trouvez les résultats de leur examen sous la discussion de l'échantillon S/6629.

152 (92.7%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Absence d'anticorps spécifiques » pour l'échantillon S/5622. Huit (4.9%) 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. Deux laboratoires ont proposé d'autres interprétations et un laboratoire a préféré de ne pas donner d'interprétation.

98.7% des laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG pour l'échantillon S/6629. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline et 1 laboratoire un résultat négatif (inversion des échantillons).

Les 2 laboratoires ayant dosé les IgA, les ont trouvées négatives.

93.3% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM. 4.9% ont obtenu un résultat positif et 1.8% des résultats différents pour les 2 trousse qu'ils ont utilisées. Tous les résultats non-négatifs ont été obtenus avec la trousse Immulite Toxoplasma IgM. La firme a été contactée à ce sujet. Ci-dessous vous trouvez les résultats de leur examen.

"Tests were performed on the 2 survey samples with different reagent lots with our different ToxoM assays in order to confirm (or not) lab results.

Upon the first file, concerning sample "ToxM Lot 68 2010-2217-EUR-LTS" the single replicate for this sample was a high negative. This type of result is consistent with 6 positives, 4 equivocal and 2 negatives. The sample is near cut off.

The second file "ANA-GEM 2010-2217-EUR-LTS, xls", the discordant positive survey sample on the Centaur is ANA positive. There is indication of a non specific interaction with ANA samples tested for submissions in the cross reactivity panel associated with the ANA disease state. There were three discordant samples reported between June 2009 and June 2010. Three samples reported out of the volume of Toxoplasma reagents shipped in 12 months time supports the assay meeting specificity claims in the IFU.

The GEM is closed as not confirmed due to assay meeting specificity claims."

Vingt-quatre (96%) laboratoires ont obtenu une avidité élevée; un laboratoire une avidité borderline pour l'échantillon S/6629.

151 (92.1%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs) » pour l'échantillon S/6629. Douze (7.3%) laboratoires ont choisi « La sérologie ne permet pas d'exclure ni de confirmer une infection; à confirmer par un échantillon de suivi » ou une variante de cette interprétation. Un laboratoire a combiné ces 2 interprétations. Un laboratoire a répondu « Absence d'anticorps spécifiques ».

Le commentaire concernant l'EEQ a souligné en ce qui concerne les IgM, que ces 2 échantillons ont montré d'une bonne manière que **chaque trousse peut avoir des problèmes avec certains échantillons.**

Des résultats faussement positives peuvent être et seront retrouvés avec toutes les trousse, et **l'on ne peut jamais conseiller de changer de trousse sur des résultats obtenus sur un seul échantillon.**

Chaque fabricant utilise pour la production d'une trousse sérologique un antigène produit d'une certaine manière. Cette trousse a donc une certaine **sensibilité** et **spécificité** pour rechercher les anticorps et possède donc un certain taux de réactivité croisée. Il est donc parfaitement possible que **la trousse X ait des réactions faussement positives avec l'échantillon A et pas avec l'échantillon B tandis que la trousse Y donne de faux positifs avec l'échantillon B et pas avec l'échantillon A**. Afin de pouvoir qualifier une trousse comme « moins performante » ces résultats faussement positifs doivent être retrouvés plus fréquemment qu'avec d'autres trousse; et le test doit être effectué sur des échantillons non-sélectionnés (les échantillons choisis pour être envoyés dans le contrôle de qualité sont contrôlés auparavant par les experts et peuvent donc être considérés comme des « échantillons sélectionnés »).

Le commentaire a également souligné que les IgM positives en combinaison avec les IgG négatives doivent toujours être contrôlées pour l'apparition d'IgG spécifiques. Si ces IgG n'apparaissent pas, le diagnostic d'infection récente ne peut jamais être retenu. Une période de 2 à 3 semaines suffit normalement pour voir l'apparition des IgG, mais une période plus longue est parfois nécessaire surtout si le traitement a déjà été commencé.

3.5 L'hépatite B

Les deux échantillons envoyés (S/5631 et S/6624) avaient été prélevés chez des femmes enceintes et étaient accompagnés de l'information clinique suivante : « Dépistage lors de la grossesse ».

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. 3.7. Interprétation d'hépatite B et C).

Les résultats attendus pour l'hépatite B étaient:

S/5631:

HBsAg négatif
HBsAc négatif
HBcAc négatif
HBeAg négatif
HBeAc négatif

S/6624:

HBsAg positif
HBsAc négatif
HBcAc positif
HBeAg négatif
HBeAc positif

Pour l'échantillon S/5631, les 171 laboratoires ont effectué 672 tests, répartis comme suit:

- Ag Hbs: 172 tests
- Ag HBs confirmation: 1 test
- Ac anti-HBs: 169 tests
- Ac anti-HBc totaux: 164 tests
- IgM anti-HBc: 3 tests
- Ag HBe: 83 tests
- Ac anti-HBe: 80 tests

Un laboratoire a effectué 1 test, 5 laboratoires 2 tests, 81 laboratoires 3 tests, 5 laboratoires 4 tests, 78 laboratoires 5 tests et un laboratoire 8 tests.

Pour l'échantillon S/6624, les 171 laboratoires ont effectué 738 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs: 172 tests
- Ag HBs confirmation: 7 tests
- Ac anti-HBs: 170 tests
- Ac anti-HBc totaux: 164 tests
- IgM anti-HBc: 6 tests
- Ag HBe: 112 tests
- Ac anti-HBe: 107 tests

Un laboratoire a effectué 1 test, 4 laboratoires 2 tests, 52 laboratoires 3 tests, 7 laboratoires 4 tests, 100 laboratoires 5 tests, 5 laboratoires 6 tests, 1 laboratoire 7 tests et un laboratoire 8 tests.

Les trousseaux les plus utilisés pour les différents paramètres sont:

- Ag HBs: Architect HBsAg (Abbott) (28.5%, les 2 échantillons), AxSym HBsAg (Abbott) (13.4%, les 2 échantillons), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (9.3%, les 2 échantillons), Modular HBsAg II (Roche) (8.1%, les 2 échantillons), UniceL DxI HBsAg V3 (Beckman) (7.0%, les 2 échantillons) et VIDAS HBsAg Ultra (bioMérieux) (7.0%, les 2 échantillons)
- Ac anti-HBs: Architect anti-HBs (Abbott) (respectivement 27.8% et 27.6%), AxSym AUSAB (Abbott) (respectivement 13.0% et 12.9%), Modular anti-HBs (Roche) (respectivement 7.7% et 8.2%), ADVIA Centaur anti-HBs (Siemens) (respectivement 7.7% et 7.6%), VIDAS anti-HBs Total Quick (bioMérieux) (respectivement 7.7% et 7.6%) et UniceL DxI HBsAb (Beckman) (6.5% les 2 échantillons)
- Ac anti-HBc totaux: Architect anti-HBc (Abbott) (28.0%, les 2 échantillons), AxSym CORE (Abbott) (12.8%, les 2 échantillons), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (9.8%, les 2 échantillons), ADVIA Centaur anti-HBc Total (Siemens) (7.9%, les 2 échantillons), Modular anti-HBc (Roche) (7.9%, les 2 échantillons) et UniceL DxI HBcAb (Beckman) (6.1%, les 2 échantillons)
- Ag HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectivement 34.9% et 42.9%), Architect HBeAg (Abbott) (respectivement 22.9% et 22.3%) et AxSym HBe 2.0 (Abbott) (respectivement 12.0% et 9.8%)
- Ac anti-HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectivement 31.3% et 40.2%), Architect anti-HBe (Abbott) (respectivement 26.3% et 24.3%) et AxSym anti-HBe 2.0 (Abbott) (respectivement 11.3% et 9.3%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

S/5631 : 96.5% des participants ont trouvé l'antigène HBs négatif et 98.8% ont trouvé les anticorps anti-HBs négatifs ; tous les participants ont trouvé anticorps anti-HBc totaux, les anticorps anti-HBc IgM, l'antigène HBe et les anticorps anti-HBe négatifs.

S/6624: tous les participants ont trouvé l'antigène HBs positif (y inclus le test de confirmation, s'ils l'ont effectué); tous ont trouvé les anticorps anti-HBs négatifs, 99.4% ont trouvé les anticorps anti-HBc totaux positifs ; tous ont trouvé les anticorps anti-HBc IgM négatifs; 98.2% l'antigène HBe négatif et 98.1% ont trouvé les anticorps anti-HBe positifs.

3.6. 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/5631:	Anticorps positifs
S/6624:	Anticorps négatifs

165 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont déterminé les anticorps anti-HCV. Pour l'échantillon S/5631 nous n'avons obtenu que 164 résultats évaluable étant donné qu'un laboratoire a répondu avoir une quantité d'échantillon insuffisante pour effectuer la détermination des Ac. anti-HCV. Un certain nombre de laboratoires ont effectué deux tests par échantillon: 10 laboratoires pour l'échantillon S/5624 et 2 laboratoires pour l'échantillon S/5632.

Les laboratoires ont effectué 168 tests ELISA, 2 tests LIA et 4 tests « blot » pour l'échantillon S/5631 et 167 tests ELISA pour l'échantillon S/6624.

Les trousse les plus utilisées étaient: Architect HCV (Abbott) (29.3% et 30.5%), AxSym HCV 3.0 (Abbott) (13.2% et 13.8%), ADVIA Centaur HCV (Siemens) (11.5% et 12.0%) et Access HCV Ab Plus sur l'appareil Dxl 800 (Biorad) (9.2% en 9.6%).

Pour l'échantillon S/5631, 164 laboratoires ont obtenu un résultat positif avec toutes les méthodes utilisées. Un laboratoire a obtenu un résultat positif pour une méthode et un résultat borderline pour une autre. Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/6624

3.7. Interprétation de l'hépatite B et C

Comme mentionné dans le chapitre 3.5. 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/5631 : « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires » (code 08)

S/6624 : « 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 » (code 01)

Au total 161 laboratoires ont fourni une interprétation combinée pour l'échantillon S/5631 et 162 laboratoires pour l'échantillon S/6624.

Pour l'échantillon S/5631 148 (91.9%) laboratoires ont choisi l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires ». Deux laboratoires ont choisi : « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; positif pour le virus de l'hépatite C » (un de ces 2 laboratoires a effectué un test de confirmation; l'autre a obtenu un rapport élevé pour les Ac anti-HCV). Un laboratoire a répondu « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires ». Neuf laboratoires ont choisi une autre des interprétations proposées. Un autre laboratoire a proposé sa propre interprétation.

Pour l'échantillon S/6624 159 (98.1%) 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 ». Deux laboratoires ont choisi une autre des interprétations proposées ou des combinaisons. Un autre laboratoire a proposé sa propre interprétation.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné que la majorité des laboratoires ont obtenu des résultats corrects pour les analyses techniques et qu'ils ont fourni les interprétations corrects; et ce pour les deux échantillons. Même si les interprétations discordantes, proposées par quelques laboratoires, correspondaient à leurs résultats techniques, ces derniers étaient incorrects.

Pour l'échantillon S/5631 il faut mentionner qu'il **n'est pas nécessaire de déterminer les Ac. anti-HBe et l'AgHBe en cas de négativité de l'AgHBs**. La grande majorité des laboratoires qui ont choisi l'interprétation correcte ont formulé des remarques (95%, 140 des 148 laboratoires), qui imposent **une confirmation supplémentaire de la sérologie positive de l'HCV**. Ces remarques **doivent être interprétées dans le cadre d'un protocole validé dans un laboratoire donné**: aussi bien la PCR HCV que d'autres EIA ou RIBA ou LIA ou les immunoblots ou même l'absence de confirmation peuvent être considérés comme tests complémentaires corrects. Il faut cependant mentionner que les protocoles internationaux conseillent la confirmation d'une sérologie positive de l'HCV par des techniques sérologiques ou de biologie moléculaire (NHS, CDC). **La détermination quantitative de l'ARN de l'HCV et le géotypage de l'HCV ne sont pas nécessaires comme confirmation d'une sérologie positive de l'HCV**; détermination de l'ADN HCV est une réponse incorrecte étant donné que l'HCV est un virus ARN.

Pour l'échantillon S/6624, **positif pour AgHBs**, il était **important d'évaluer les marqueurs HBe** étant donné que dans la situation clinique d'un dépistage lors de la grossesse, le statut des marqueurs HBe va déterminer si le nouveau-né a, en plus du vaccin, également besoin des immunoglobulines. La majorité des laboratoires (87%, 141 des 162) ont formulé des remarques qui imposent **la confirmation complémentaire de l'AgHBs positif ou le suivi clinique, sérologique et éventuellement moléculaire-diagnostique**. Ces remarques **doivent être interprétées dans le contexte global des tests sérologiques effectués et des algorithmes validés dans un laboratoire donné**: dans ce cas aussi bien un nouveau prélèvement pour la détermination de l'AgHBs que la confirmation de l'AgHBs et même l'absence de confirmation de la positivité de l'AgHBs peuvent être considérés comme des remarques correctes. Il faut mentionner qu'au vu **d'un suivi postnatal correct d'un nouveau-né, la confirmation de l'AgHBs et les marqueurs HBe sont à préférer** et que la charge virale de l'HBV et la recherche des mutants précoces n'apportent pas de valeur supplémentaire dans cette situation clinique

3.8. Le VIH

2 échantillons « prêts-à-l'emploi » (S/5626 et S/8693) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Nous avons également demandé quelle serait l'attitude des laboratoires si les échantillons seraient prélevés chez un enfant de moins de 6 mois.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon S/5626 était négatif pour les anticorps anti-VIH.

L'échantillon S/8693 était positif pour les anticorps anti-VIH.

170 laboratoires belges et luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Les laboratoires ont effectué 183 tests de dépistage sur l'échantillon S/5626: 157 laboratoires ont effectué 1 test et 13 laboratoires 2 tests. En outre 10 laboratoires ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) et 2 laboratoires le résultat qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux).

Les laboratoires ont effectué 193 tests de dépistage sur l'échantillon S/8693: 147 laboratoires ont effectué 1 test et 23 laboratoires 2 tests. En outre 9 laboratoires ont répondu le résultat de l'antigène p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA. Deux laboratoires ont déterminé l'Ag p24 sur cet échantillon avec la trousse VIDAS HIV p24 II et 1 laboratoire avec la trousse Innotest HIV Antigen mAb (Innogenetics); 3 laboratoires ont effectué un test de confirmation : ils ont utilisé les trousse suivantes: GENELABS HIV 2.2 BLOT (Genelabs), Inno-LIA HIV Confirmation (Innogenetics) et HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics).

Les réactifs les plus utilisés sont Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (25.1% en 23.8% pour les 2 échantillons), AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (13.7% en 13.5% pour les 2 échantillons), HIV Combi 2nd Generation (Roche) (12.6% en 11.9% pour les 2 échantillons) et VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (10.9% en 12.9% pour les 2 échantillons).

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon S/5626: il a été considéré négatif par 169 (99.4%) laboratoires et positif par un laboratoire.

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/8693: 169 (99.4%) laboratoires ont obtenu un résultat positif avec les tests de dépistage. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

Les laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé ».

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, Inno-LIA HIV Confirmation et HIV-Blot 2.2 étaient tous positifs.

Nous avons également demandé quelle serait l'attitude des laboratoires si les échantillons étaient prélevés chez un enfant de moins de 6 mois. Même s'il y avait beaucoup de variation dans les réponses des laboratoires, la plupart ont donné une réponse acceptable.

Les réponses attendues aux questions posées étaient:

- 1) Est-ce que l'enfant a été contaminé en cas de test positif? La réponse est « non » ou « il n'est pas possible de le savoir », car le test sérologique utilisé n'est pas adéquat et inutile. Le test positif peut aussi bien être du à la présence d'anticorps maternels.
- 2) Est-ce que ces échantillons (sérum) sont pertinents pour effectuer le diagnostic? Ces échantillons ne sont pas adéquats. Il faudra du sang prélevé sur EDTA afin de permettre d'effectuer la recherche d'ADN proviral.
- 3) Quel type d'échantillon enverriez-vous à un laboratoire de référence? On enverra un échantillon prélevé sur EDTA, tel que spécifié ci-dessus. Le laboratoire de référence effectuera la recherche du génome proviral éventuellement associé à la recherche d'ARN viral.

Ces réponses ont été développées dans le commentaire : chez les petits enfants de mère infectée par le VIH la présence d'anticorps maternels est systématique et peut persister jusqu'au delà 15 mois. Le diagnostic devra donc faire appel à d'autres méthodes que sérologiques (voir le site des laboratoires de référence SIDA : <http://www.wiv-isp.be/epidemiolo/EPIEN/AIDSEN/ARLEN/findex.html>) et il est indiqué d'envoyer pour ce faire des échantillons à un laboratoire de référence SIDA, selon le schéma indiqué sur le site. Le test le plus important est la recherche de provirus dans les globules blancs. Ceci nécessite l'envoi de sang complet prélevé sur un anticoagulant compatible. L'EDTA est préféré (le citrate est possible, mais entraîne une certaine dilution, l'héparine n'est pas indiquée car des traces d'héparine inhibent la polymérase dans la réaction de polymérase en chaîne ou PCR). Un échantillon pris rapidement à la naissance permet souvent déjà le diagnostic, mais ne peut être prélevé à partir du cordon, car ceci peut entraîner une contamination avec le sang maternel. Ensuite on prélèvera à 1 mois et 3 mois, éventuellement également à 2 et 6 mois. Il est important d'avoir des résultats positifs sur deux échantillons indépendants avant de conclure à l'infection. Le suivi d'un enfant qui est devenu séronégatif, se fait en sérologie classique.

3.9. Ag Legionella

Deux échantillons d'urine ont été envoyés pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/10093 en Ag/10118.

Les résultats des 2 échantillons étaient positifs.

71 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Tous les laboratoires ont effectué un test sur chacun des 2 échantillons.

Les réactifs les plus utilisés sont Binax Now Legionella Urinary Ag test (Alere Health) (76.1%), SAS Legionella Test (SA Scientific) (9.9%) et Legionella Urinary Antigen Lateral Flow (IVD Research Inc.) (8.5%)

Pour l'échantillon Ag/10093, 70 laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat borderline.

Pour l'échantillon Ag/10118, 63 laboratoires ont obtenu un résultat positif, 6 un résultat borderline, un laboratoire a obtenu un résultat négatif et un laboratoire a laissé la réponse ouverte.

Les résultats borderline ont été obtenus avec 2 trousse différentes: le résultat de l'échantillon Ag/10093 et 3 des résultats de l'échantillon Ag/10118 avec la trousse Legionella Urinary Antigen Lateral Flow; les 3 autres résultats de l'échantillon Ag/10118 avec la trousse Binax Now Legionella Urinary Ag test; le résultat négatif a également été obtenu avec cette dernière trousse.

Le commentaire concernant l'enquête a décrit la clinique et le diagnostic de *Legionella* species.

La *Legionella* sp. est principalement connue comme étant la cause de pneumonies aiguës (maladie du légionnaire) présentant un taux de mortalité élevé. Un diagnostic rapide suivi d'une antibiothérapie adaptée sont d'une grande importance pour la survie. La *Legionella pneumophila* est dans 90% des cas la cause des pneumonies dues aux légionelles, et plus spécifiquement le sérotype 1 (70 à 80%). Les légionelles sérotypes 2-15 et les Légionelles non pneumophila peuvent néanmoins aussi être la cause de pneumonies et autres pathologies. Outre les pneumonies, *Legionella pneumophila* peut aussi être la cause d'autres pathologies telles que la fièvre de Pontiac et même des endocardites

Le diagnostic d'une infection par des légionelles peut se faire par culture d'échantillons respiratoires. Le **désavantage d'une culture** est qu'il faut **plusieurs jours d'incubation** et **des milieux de culture spéciaux**. Des **diagnostics moléculaires** sont également possibles sur des échantillons respiratoires, mais **ne sont pas disponibles dans tous les laboratoires**. La **sérologie n'est possible que quelques semaines après l'infection** aiguë et ne permet donc **pas de diagnostic rapide**, mais peut être utilisée à des fins épidémiologiques.

Un test simple et qui est très accessible, est le **test d'antigène urinaire**. Il existe différents types de tests (Enzyme-Linked immunosorbent Assays (**ELISA**) et tests immunochromatographiques (**ICT**)) qui sont **aptés** à la détection de ***Legionella pneumophila* sérotype 1**. Ces tests ont généralement une **bonne spécificité** (jusque 99%), mais une **sensibilité limitée** (selon la population testée et le test utilisé). Cela signifie que ces tests peuvent être utilisés pour **diagnostiquer** la légionellose, mais **pas pour exclure** une infection avec certitude.

Par ailleurs c'est principalement *Legionella pneumophila* sérotype 1 qui est détectée, bien que pour quelques tests il est avancé que d'autres sérotypes sont détectés. Le fait

de tester d'autres échantillons en cas de résultat négatif dépendra de la clinique du patient et de la probabilité (p.ex. voyage récent, absence d'autres pathogènes respiratoires, ...)

Il est aussi important de mentionner auprès du résultat que seulement le séro groupe 1 a été dépisté. Isenberg conseille à ce sujet de rapporter comme suit :

"Positif pour l'antigène urinaire du séro groupe 1 de *Legionella pneumophila* "

"Négatif pour l'antigène urinaire du séro groupe 1 de *Legionella pneumophila* "

Comme commentaire complémentaire : autres séro groupes et types de légionelles ne sont pas détectés avec ce test. La culture de sécrétions respiratoires est à conseiller si une infection de Legionella est suspectée.

Pour les deux échantillons positifs envoyés dans l'enquête, la plupart des laboratoires ont donné des résultats corrects. **En cas de doute, un échantillon de contrôle est obligatoire.**