

**INSTITUT SCIENTIFIQUE DE SANTE PUBLIQUE
QUALITE DES LABORATOIRES MEDICAUX**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

RAPPORT ANNUEL 2011

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

MICRO/SERO/PARA

ISP-2011/Micro/Séro/Para/88

Service Qualité des laboratoires médicaux
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
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. PADALCO 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. VERROKEN Alexia	:	02/764.67.32 – FAX : 02/764.69.33
	:	e-mail : alexia.verroken@uclouvain.be
Dr. WOESTYN Sophie	:	056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
	:	e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Réunion du comité d'experts : 13/09/2012

Autorisation de diffusion de rapport : Kris Vernelen - 19/09/2012



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 2011 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 171 laboratoires ont participé à au moins une enquête. Un laboratoire (0.6%) a participé à 1 enquête, quatre laboratoires (2.3%) ont participé à 2 enquêtes et 166 (97.1%) ont participé aux 3 enquêtes. Quatre laboratoires ont cessé leur activité. Le nombre de laboratoires participants s'élevait à 171, 170 et 166 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 110 laboratoires hospitaliers, 48 laboratoires privés et 4 laboratoires de polycliniques ; 9 laboratoires luxembourgeois ont également participé aux enquêtes.

1.1. Rapport de l'identification des cultures

1.1.1. Répartition des résultats par échantillon.

Les participants ont reçu 13 échantillons (huit échantillons lyophilisés et cinq échantillons simulés).

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

Pour *Capnocytophaga sputigena* (hémoculture; enquête 2011/1) et *Shigella sonnei* (selles; enquête 2011/3) une identification jusqu'au niveau du genre était suffisante.

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

Germe	% d'identifications acceptables
<i>Capnocytophaga sputigena</i> (hémoculture)	81.3
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (hémoculture)	95.3
<i>Acinetobacter baumannii</i> (plaie abdominale)	97.7
Absence de pathogènes (écouvillon de gorge)	60.4
<i>Enterobacter gergoviae</i> (urine)	95.9
<i>Enterococcus faecium</i> (hémoculture)	92.9
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100.0
<i>Listeria monocytogenes</i> (hémoculture)	94.7
<i>Neisseria meningitidis</i> (urine)	82.4
<i>Clostridium difficile</i> , toxine + (selles)	92.1
<i>Clostridium difficile</i> , toxine - (selles)	89.1
Absence de <i>Clostridium difficile</i> (<i>Clostridium</i> non-difficile) (selles)	96.3
<i>Shigella sonnei</i> (selles)	99.4

Le score relativement faible pour « absence de pathogènes » pour l'écouvillon de gorge de la 1^e enquête peut s'expliquer par le fait que cet échantillon contenait un *S. pneumoniae* (non-pathogène pour cette localisation); un certain nombre de laboratoires a cependant quand même répondu ce *S. pneumoniae*.

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

Chaque laboratoire a dû réaliser 13 identifications. 56 (32.7%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 115 (67.3%) 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 = 171)	Distribution selon le type de labo (hôpital, polyclinique, privé, Luxembourg)
0	56 (32.7%)	47 + 1 + 7 + 1
1	64 (37.4%)	40 + 0 + 21 + 3
2	28 (16.4%)	15 + 3 + 7 + 3
3	12 (7.0%)	4 + 0 + 7 + 1
4	8 (4.7%)	3 + 0 + 4 + 1
5	2 (1.2%)	0 + 0 + 2 + 0
8	1 (0.6%)	1 + 0 + 0 + 0

Pour les 3 labos avec le plus grand nombre de fautes, nous constatons:

- labo 1 (5 erreurs): 3 inexactitudes au niveau de l'espèce, 1 problème dans l'interprétation des « non-pathogènes » et 1 réponse incorrecte au niveau du genre
- labo 2 (5 erreurs): 2 inexactitudes au niveau de l'espèce, 1 problème dans l'interprétation des « non-pathogènes » et 3 réponses incorrectes au niveau du genre
- labo 3 (8 erreurs): 4 inexactitudes au niveau de l'espèce, 2 problèmes dans l'interprétation des « (non)-pathogènes » et 2 réponses incorrectes au niveau du genre

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 = 171)	Distribution selon le type de labo (hôpital, polyclinique, privé, Luxembourg)
0	56 (32.7%)	47 + 1 + 7 + 1
1	63 (36.8%)	40 + 0 + 20 + 3
2	28 (16.4%)	15 + 3 + 7 + 3
3	12 (7.0%)	4 + 0 + 7 + 1
4	8 (4.7%)	3 + 0 + 4 + 1
5	2 (1.2%)	0 + 0 + 2 + 0
6	1 (0.6%)	0 + 0 + 1 + 0
8	1 (0.6%)	1 + 0 + 0 + 0

1.2. Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 5 germes, *Staphylococcus lugdunensis* M/10426, *Acinetobacter baumannii* M/10639, *Enterococcus faecium* M/10848, *Escherichia coli* M/11025 et *Shigella sonnei* M/11022 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

1.2.1. *Staphylococcus lugdunensis* M/10426

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que *S. lugdunensis* était **sensible à la majorité des antibiotiques**, toutes classes confondues. Cependant, alors qu'en 1990, moins de 4% d'isolats étaient résistants à la pénicilline G, de 12 à 27% de résistance ont été décrits dans les isolats cliniques au cours des dix dernières années. Sa résistance à la méthicilline est rarement décrite, ce qui a conduit le **CLSI à modifier les breakpoints du test de diffusion en disque à l'oxacilline en 2005 pour les aligner sur ceux de *S. aureus*, et à remplacer le test à l'oxacilline par celui à la céfoxitine en 2006.**

Pour *S. lugdunensis*, une valeur de CMI à l'oxacilline ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ est bien corrélée à la présence du gène *mecA* et de la *pbp2a*.

Le tableau 1.2.1 reprend les critères d'interprétation actuels.

Tableau 1.2.1. Critères d'interprétation pour *S. lugdunensis*

		EUCAST[6]				CLSI [7]			
		CMI (mg/L)		Diamètre (mm)		CMI (mg/L)		Diamètre (mm)	
		S	R	S	R	S	R	S	R
Oxacilline 1 μg	<i>S.lugd.</i>	-	>2	-	-	≤ 2	≥ 4	-	-
	CNS	-	>0.25	-	-	≤ 0.25	≥ 0.5	-	-
Cefoxitine screen	<i>S.lugd.</i>	-	>4	≥ 22	<22	≤ 4	≥ 8	≥ 22	≤ 21
	CNS	-	>0.25*	$\geq 25^*$	<25*	-	-	≥ 25	≤ 24

*Pour les CNS autres que *S. lugdunensis*, la valeur de la CMI à la céfoxitine est un moins bon prédicteur de la présence du gène *mecA*.

Le germe envoyé a surtout posé des problèmes pour la pénicilline et pour l'oxacilline-céfoxitine, comme illustré par le grand nombre de remarques pour le tableau 1.2.2. (qui a été publié dans le rapport global 2011/1).

Il faut noter que les utilisateurs de disques (papier ou Rosco) et de l'automate Phoenix n'ont rencontré que très peu de problèmes d'interprétation des résultats, par contre, les utilisateurs du Vitek2 et Vitek2 compact ont rendu plus fréquemment une réponse erronée qu'une réponse correcte (R au lieu de S pour la pénicilline). **Pour toute valeur de CMI ≤ 0.12 mg/mL ou tout diamètre d'inhibition ≥ 29 mm, il est recommandé de tester la production de bêta lactamase (CLSI 2011. Supplément M100-21).**

Tableau 1.2.2. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline		155	87 ¹	-	66 ²	2 ³
Oxacilline	S	150	124 ⁴	-	26 ⁵	-
Méthicilline	S	8	7	-	1	-
Céfoxitine	S	128	111 ⁶	-	17 ⁷	-
Gentamicine	S	153	153	-	-	-
Vancomycine	S	161	158	-	2	1 ⁸
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	50	50	-	-	-
Lévofloxacine	S	77	76	-	1	-
Moxifloxacine	S	32	31	-	1	-
Ofloxacine	S	9	9	-	-	-
Quinolone ⁹	S	14	14	-	-	-

¹ Un laboratoire a donné la remarque: "Discordance entre les disques (S) et le Vitek 2 (R); β -lactamase négatif. Conclusion: S

² Un laboratoire a mentionné la présence d'une population hétérogène

³ Un laboratoire a donné la remarque: "Discordance disque Rosco (R) Vitek (S); test de céfinase pour la détection de la β -lactamase est négatif. En routine nous enverrions cet échantillon au centre de référence pour détermination de l'E-test."

Un laboratoire a bien répondu le résultat de la détermination de la CMI avec Vitek 2 compact (0,25 mg/L) mais n'a pas fourni d'interprétation.

⁴ Dix laboratoires ont fourni une remarque:

- Nous remarquons un résultat tout à fait opposé concernant la céfoxitine avec le Vitek (R) et les disques Rosco (S). Le test a été effectué en double sur le Vitek. *S. lugdunensis* est normalement une bactérie relativement sensible. Dans la pratique nous contrôlons toujours les discordances sur le Vitek (pas le même résultat pour la céfoxitine et l'oxacilline) avec les disques. Pour info: le test rapide PBP2a était négatif. En routine nous communiquerions au clinicien un résultat OXA-S.

- cfr AB manuel (céfoxitine S)

- discordance entre disque (S) et Vitek 2 (R). β -lactamase négative

- 1e AB sur Vitek compact a donné un oxa R (CMI ≥ 4) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\emptyset 30 mm.) 2e et 3e AB sur Vitek compact ont donné un oxa S (CMI 2) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\emptyset 30 mm.) \rightarrow erreur du Vitek? Cet Oxa R n'a pu être reproduite sur une autre colonie

- Discordance céfoxitine en diffusion, cefoxitinescreen Vitek II et interprétation oxa \rightarrow envoi souche pour PCR mec A. Par ailleurs, agglutination Pbp2a ininterprétable (contrôle +). Souche répondu S oxa, vu zone cefox à 35 mm.

- Discordances sur Vitek oxa: R; céfoxitine: S; quinolones: S; méthode manuelle Rosco: pas de discordances: oxa: S, céfoxitine: S, quinolones: S. Confirmation de l'AB est souhaitable.

- En routine l'antibiogramme est envoyé au centre de référence

- Commentaire système expert Osiris: les *S. aureus* et *S. lugdunensis* pour lesquels le \emptyset de la céfoxitine est ≥ 22 mm. doivent être rendus sensibles à l'oxacilline.

- Le Vitek 2 compact est contrôlé par le test de diffusion sur disque. Ce résultat est transmis au clinicien.

- Discordance oxacilline-céfoxitine entre les résultats du Vitek 2 (R) et du disque de Rosco céfoxitine (S). Selon le manuel de Rosco in ne faut tester que la céfoxitine: \rightarrow en routine nous répondrons donc S.

⁵ Quatre laboratoires ont fourni une remarque:

- Souche à envoyer au laboratoire de référence pour cause de résultats discordants entre l'oxacilline et la céfoxitine obtenus avec Vitek 2 compact (R) et diffusion en agarose Rosco (S)

- Cefoxitinescreen (CMI 6): négatif; oxacilline CMI ≥ 4 ; PBP2'a négatif. Selon les directives CLSI/2008 ces souches doivent être répondu comme oxacilline R: "pour cause de présence exceptionnelle de mécanismes de résistances autres que mecA, les isolats qui sont négatifs pour le PBP2'a, mais ont une CMI oxa ≥ 4 rapporter comme R. Ces isolats peuvent tester sensible à la céfoxitine, en diffusion sur disque." En plus, à cause de la clinique, pour ne rien risquer au traitement, rapporter comme « MRSE ».

- Test Vitek cefoxitinescreen positif; oxacilline: CMI = 1 = S: \rightarrow résultat final R car céfoxitine R

- population hétérogène

⁶ Neuf laboratoires ont fourni une remarque:

- Nous remarquons un résultat tout à fait opposé concernant la céfoxitine avec le Vitek (R) et les disques Rosco (S). Le test a été effectué en double sur le Vitek. *S. lugdunensis* est normalement une bactérie relativement sensible. Dans la pratique nous contrôlons toujours les discordances sur le Vitek (pas le même résultat pour la céfoxitine et l'oxacilline) avec les disques. Pour info: le test rapide PBP2a était négatif. En routine nous communiquerions au clinicien un résultat OXA-S.
- discordance entre disque (S) et Vitek 2 (R). β -lactamase négative
- 1e AB sur Vitek compact a donné un oxa R (CMI ≥ 4) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\varnothing 30 mm.) 2e et 3e AB sur Vitek compact ont donné un oxa S (CMI 2) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\varnothing 30 mm.) → erreur du Vitek? Cet Oxa R n'a pu être reproduite sur une autre colonie
- Discordance céfoxitine en diffusion, céfoxitinescreen Vitek II et interprétation oxa → envoi souche pour PCR mec A. Par ailleurs, agglutination PBP2a ininterprétable (contrôle +). Souche répondu S oxa, vu zone cefox à 35 mm.
- Discordances sur Vitek oxa: R; céfoxitine: S; quinolones: S; méthode manuelle Rosco: pas de discordances: oxa: S, céfoxitine: S, quinolones: S. Confirmation de l'AB est souhaitable.
- Discordance oxacilline-céfoxitine entre les résultats du Vitek 2 (R) et du disque de Rosco céfoxitine (S). Selon le manuel de Rosco in ne faut tester que la céfoxitine: → en nous répondrons donc S
- En routine l'antibiogramme est envoyé au centre de référence
- test Vitek céfoxitinescreen positif: interprétation difficile; à contrôler par recherche du gène mecA
- Le Vitek 2 compact est contrôlé avec le test de diffusion sur disque. Ce résultat est transmis au clinicien.

⁷ Deux laboratoires ont fourni une remarque:

- Souche à envoyer au laboratoire de référence pour cause de résultats discordants entre l'oxacilline et la céfoxitine obtenus avec Vitek 2 compact (R) et diffusion en agarose Rosco (S)
- Céfoxitinescreen (CMI 6): négatif; oxacilline CMI ≥ 4 ; PBP2'a négatif. Selon les directives CLSI/2008 ces souches doivent être répondu comme oxacilline R: "pour cause de présence exceptionnelle de mécanismes de résistances autres que mecA, les isolats qui sont négatifs pour le PBP2'a, mais ont une CMI oxa ≥ 4 rapporter comme R. Ces isolats peuvent tester sensible à la céfoxitine, en diffusion sur disque." En plus, à cause de la clinique, pour ne rien risquer au traitement, rapporter comme « MRSE ».

⁸ Un laboratoire a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

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

1.2.2. *Acinetobacter baumannii* M/10639

L'échantillon M/10639 était une souche d'*Acinetobacter baumannii* **résistante à tous les antibiotiques incluant les carbapénèmes à l'exception de la colistine**. Cette souche produisait **une oxacillinase acquise** (β -lactamase de classe D d'Ambler) **ayant des propriétés de carbapénémase (OXA-23) retrouvée quasi exclusivement chez *A. baumannii***. La souche **co-hébergeait** par ailleurs un **gène de résistance *bla*_{PER-1} codant pour une beta-lactamase à spectre élargi de type PER-1** (classe A d'Ambler) également parfois retrouvée chez *A. baumannii* et chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Le commentaire concernant l'enquête présentait une **discussion élaborée des résistances, mécanismes de résistance, et dispersion des résistances chez *Acinetobacter baumannii*** (cfr. rapport global 2011/1).

Concernant les résultats de l'enquête le commentaire a constaté que **l'interprétation des résultats** pour le méropénème et pour les autres agents testés (à l'exception de l'amikacine) **ne posait pas de problème**. Pour les **aminoglycosides**, le mécanisme de **résistance était de bas niveau** (surexpression par efflux probable) avec une CMI de 32 mg/L pour l'amikacine par microdilution (soit I selon les recommandations du CLSI (M100-S21) et R selon celles de l'EUCAST). La souche était par ailleurs de sensibilité limite à la gentamicine; CMI 2-4 mg/L). Pour les autres antibiotiques non testés, cette souche restait encore **sensible à la colistine** (CMI : 0.25 mg/L) et à la **tigecycline** (CMI : 0.5-1 mg/L). Lorsqu'ils sont actifs *in vitro*, ces deux antibiotiques peuvent être utiles pour le traitement d'infections compliquées à *A. baumannii*, à condition d'être administrés **en association avec un deuxième agent** (rifampicine, carbapénème, aminoglycoside).

La **majorité des participants** a reconnu le caractère multi-résistant de cette souche et **l'enverrait** (soit dans un but épidémiologique, soit pour confirmation du mécanisme de résistance) **au laboratoire de référence**. Cependant, il est inquiétant de constater qu'environ 25% des participants n'enverrait pas une souche d'*Acinetobacter* possédant un pareil profil de multi-résistance aux antibiotiques ni pour confirmation ni pour détermination du mécanisme de résistance. Il serait intéressant d'enquêter auprès de ces laboratoires afin de savoir si cette attitude est liée à la méconnaissance de l'importance de ces souches tant aux plans thérapeutiques que de l'hygiène hospitalière ou si ceci est éventuellement lié à d'autres facteurs (économiques p.ex.)

Enfin, il paraît utile de rappeler encore une fois que les **tests phénotypiques recherchant la présence d'une synergie entre l'imipenem ou le méropénème et l'EDTA (ou l'acide dipicolinique) ne sont pas appropriés pour détecter la présence d'oxacillinases hydrolysant les carbapénèmes chez *A. baumannii***. C'est plus le **profil de résistance aux carbapénèmes et de multi-résistance** qui doit faire évoquer la présence de ce mécanisme de résistance dont la **confirmation nécessite la réalisation de tests moléculaires** (PCR-séquençage) qui peuvent être obtenus auprès d'un laboratoire de référence.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2011/1.

Tableau 1.2.3. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	171	-	-	171	-
Céfépime	R	155	-	-	155	-
Méropénème	R	152	-	-	152	-
Amikacine	I	164	79	30	54 ¹	1 ²
Colistine	S	111	100	1	4	6 ³
Ciprofloxacine	R	168	1	-	167	-
Lévofloxacine	R	100	-	-	100	-

¹ AB discordant pour amikacine: AB sur Vitek compact R; AB sur disque papier Biorad S (sur Vitek compact genta et tobra S (CMI≤1); sur disque genta et tobra S (Ø 16 mm. et 17 mm.):→souche à envoyer pour confirmation de l'AB).

² Un laboratoire mentionne bien le diamètre qu'il a obtenu avec les disques papier (8 mm.) mais ne donne pas d'interprétation.

³ Un laboratoire mentionne que la détermination de la CMI est nécessaire. Cinq autres laboratoires ont laissé ouvert l'interprétation (2 d'entre eux mentionnent qu'il n'existe pas de critères d'interprétation du CLSI pour l'*Acinetobacter*).

1.2.3. *Enterococcus faecium* M/10848

Cette souche était un *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine, mais sensible à la teicoplanine: un VRE (Vancomycine Resistent Enterococcus), porteur du gène *van B*.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2011/2.

Tableau 1.2.4. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	165	162	-	2	1 ¹
Gentamicine	S	158	142	6 ²	5 ³	5 ⁴
Vancomycine	R	165	1	6	154	4 ⁵
Teicoplanine	S	133	129	-	2 ⁶	2 ⁷

¹ Un labo a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

² Deux de ces laboratoires ont utilisé les disques à bas niveau; 2 utilisateurs du Vitek 2 ont changé un résultat brut « S » dans un résultat final « I ».

³ Quatre de ces laboratoires ont utilisé les disques à bas niveau.

⁴ Un labo a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire. Un labo a mentionné que la sensibilité à haute niveau pour les aminoglycosides doit être testée (qu'ils envoient). Un labo a mentionné « R bas niveau: Van B; synergie possible avec β -lactamines et teicoplanine (pas avec la vancomycine) ». Deux laboratoires ont laissé ouvert la réponse finale (un a mentionné un diamètre de 25 mm. pour les disques Neosensitabs classiques, lus avec le Sirscan; le deuxième a répondu pour le Vitek 2 compact: haut niveau et « S » pour l'antibiogramme brut et expert).

⁵ Trois laboratoires ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire. Un labo a laissé ouvert la réponse finale (diamètre avec les disques en papier = 12 mm. et le résultat brut = « R »).

⁶ Un de ces labos a répondu la teicoplanine comme résistant en attente d'une confirmation du gène Van A ou Van B. L'autre a mentionné « Van B like, le traitement clinique avec la teicoplanine ne donne pas de bons résultats ».

⁷ Deux laboratoires ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

1.2.4. *Escherichia coli* M/11025

Cette souche a été envoyée parce qu'elle était résistante au nitrofurantoïne et aux quinolones, mais sensible à la plupart des autres antibiotiques.

Bien que **les modes d'action et les mécanismes de résistance** des bactéries aux **fluoroquinolones** soient bien **spécifiques** et non liés à ceux des autres classes d'antibiotiques, **une corésistance à plusieurs classes d'antibiotiques** (dont les pénicillines et les céphalosporines, le cotrimoxazole, les tétracyclines et parfois aussi les aminoglycosides) est souvent **associée à la résistance aux quinolones**. Ceci peut s'expliquer d'une part par des expositions répétées des patients à plusieurs cures de traitement antibiotique et aussi par l'association chez une même bactérie de multiples gènes de résistance qui sont colocalisés sur des structures génétiques communes (intégrons) et transmis via des éléments mobiles multiples (transposons, plasmides,...).

Les modes d'action et les mécanismes de résistance ont été amplement discutés dans le rapport global de l'enquête.

De nombreuses études font état d'une **augmentation progressive de la résistance aux quinolones chez *Escherichia coli*** au cours des deux dernières décennies partout dans le monde. Ainsi en Belgique la proportion de souches invasives d'*E. coli* (isolats d'hémocultures positives) résistantes aux quinolones est passée de 8.9% en 2001 à 20% en 2009. Le taux élevé de résistance aux quinolones (20%) maintenant observé chez *E. coli* tant en médecine de ville qu'en milieu hospitalier **contre-indique l'utilisation empirique de cette classe d'antibiotiques en première intention** en particulier chez les personnes ayant été exposées à des traitements récents à base de quinolones (cf. recommandations du guide Sanford Belge, Edition 2010/2011).

Les antibiotiques à étudier à l'antibiogramme pour les entérobactéries ainsi que les valeurs critiques recommandées en Europe par l'EUCAST et aux Etats-Unis par le CLSI sont consignés dans le tableau 1.2.5. ci-dessous.

La **norfloxacine** devrait être testée **uniquement sur les isolats urinaires** car cet antibiotique n'est utilisé que pour le traitement d'infections urinaires non compliquées. Le choix entre **ciprofloxacine et levofloxacine** devrait être basé sur des considérations locales (coût du traitement, effets secondaires), et **il n'est pas nécessaire de les tester les deux molécules** car leur activité intrinsèque est très similaire sur les entérobactéries et les résistances sont habituellement croisées. Il n'est pas nécessaire de tester l'activité de la **moxifloxacine** en routine sur les entérobactéries car le créneau d'utilisation de cet antibiotique est **essentiellement limité au traitement de pneumonies communautaires chez des patients allergiques aux pénicillines**. La moxifloxacine ne présente par ailleurs aucun avantage en terme d'activité antibactérienne sur les bactéries à Gram-négatif et le coût de traitement est nettement plus élevé que celui des autres fluoroquinolones.

Tableau 1.2.5. Seuils et concentrations critiques des quinolones pour les Entérobactéries

Quinolone	EUCAST (2011)	CLSI (2011)
Norfloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 4 / R ≥ 16
Ofloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 2 / R ≥ 8
Ciprofloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 1 / R ≥ 4
Lévofloxacine	S ≤ 1 / R > 2 (≥ 4)	S ≤ 2 / R ≥ 8
Moxifloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	- -

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2011/2.

Tableau 1.2.6.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	164	157	4	3	-
Amoxicilline-acide clavulanique	S	169	167	1	1	-
Co-trimoxazole	S	168	168	-	-	-
Céfuroxime	S	165	157	5	2 ¹	1 ²
Nitrofurantoïne	R	167	10	17	140	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	124	1	-	123	-
Lévofloxacine	R	14	-	-	14	-
Norfloxacine	R	40	-	-	40	-
Ofloxacine	R	9	-	-	9	-
Acide nalidixique	R	3	-	-	3	-
Quinolone ³	R	9	1	-	8	-

¹ Ces 2 laboratoires ont mentionné avoir teste céfuroxime axetil.

² Un laboratoire répond: « S pour la céfuroxime parentérale et I pour la céfuroxime orale ».

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

1.2.5. *Shigella sonnei* M/11022

La particularité de cette souche était une sensibilité à l'ampicilline mais une résistance au triméthoprime-sulfaméthoxazole et aux quinolones. Les résultats obtenus pour les antibiogrammes étaient excellents.

Le commentaire de l'enquête a principalement porté sur des **problèmes dans la détection de la sensibilité aux aminopénicillines**. La souche était sensible à l'ampicilline et à l'amoxicilline. Cependant plus de 14% des laboratoires ont rapporté la souche comme résistante. L'analyse approfondie des résultats a montré que les utilisateurs des techniques de diffusion avec disques papier ou Rosco Neosensitabs et les utilisateurs du Phoenix ont obtenu des résultats corrects pour ces aminopénicillines. **Vingt-trois des 84 (27%) utilisateurs du Vitek ont cependant rapporté une résistance erronée.**

La firme bioMérieux a examiné la souche et a obtenu les conclusions suivantes :
"We duplicated the customer issue.

We reproduced the customer's variability of results with MIC variability probably due to the growth (weak) of the strain in the PC well. So we observed some false resistances for ampicillin.

Indeed, we can see a very weak growth on strain in the PC well. This observation explains the variability of MIC results (>,<) which leads to some false resistances for ampicillin.

These data and organism have been forwarded to R&D. This complaint is now closed at the global level."

Le commentaire a également repris quelques données épidémiologiques. Le rapport annuel du Centre National de Référence pour *Salmonella* et *Shigella* indique qu'en 2010, 357 souches de *Shigella* ont été analysées avec la répartition suivante sur les 4 différentes espèces: *S. sonnei* (248), *S. flexneri* (94), *S. boydii* (12) et *S. dysenteriae*(3). *S. sonnei* était donc responsable de 69% des infections confirmées par le centre de référence belge.

Le Centre National de Référence surveille également **l'évolution de la sensibilité** des souches envoyées. 85 isolats de *S. sonnei* ont été analysés en 2010. Les pourcentages de résistance étaient: ampicilline (10.6%), céfotaxime (2.6%), **ciprofloxacine (24.6%)**, tétracycline (77.6%), chloramphénicol (2.4%) gentamicine (1.2%), azithromycine (28.2%) et co-trimoxazol (85.9%). Les breakpoints du CLSI ont été utilisés pour l'interprétation, sauf pour l'azithromycine où il n'existe pas de directives du CLSI.

Beaucoup de manuels d'antibiothérapie continuent à conseiller les fluoroquinolones pour la thérapie empirique, mais **l'augmentation de la résistance nécessitera probablement une modification de ces directives**. L'azithromycine à une raison de 500 mg/j pendant trois jours peut être considérée comme une alternative. Contrairement au *Salmonella Typhi*, la résistance aux fluoroquinolones chez *Shigella* est probablement un moins grand problème thérapeutique étant donné que l'infection reste limitée à une invasion des cellules épithéliales intestinales sans bactériémie.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2011/3.

Tableau 1.2.7.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11297 (*Shigella sonnei*).

Antibiotique	<i>Résultat attendu</i>	<i>Total</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	S	159	135	1	23
Amoxicilline ¹	S	4	3	1	-
Co-trimoxazole	R	159	2	-	157
Ceftriaxone	S	92	89	-	3
Céfotaxime ²	S	30	30	-	-
Ceftazidime ³	S	8	8	-	-
Quinolones					
Acide nalidixique	R	6	-	-	6
Ciprofloxacine	R	129	-	3	126
Lévofloxacine	R	22	-	3	19
Norfloxacine	R	13	-	-	13
Ofloxacine	R	4	1	-	3
Quinolone ⁴	R	6	-	-	6

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

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la sensibilité pour la céfotaxime au lieu de la ceftriaxone.

³ Un certain nombre de laboratoires ont testé la sensibilité pour la ceftazidime au lieu de la ceftriaxone.

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

II. PARASITOLOGIE

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

2.1. Enquête 1

A l'occasion de cette enquête 1 frottis de sang (P/010324) a été envoyé. En plus les parasites d'un deuxième frottis (P/10813) ont été présentés sous forme de photographies sur notre site web. 172 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/10324 contenait des trophozoïtes et des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*.

Plasmodium falciparum (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 136 (79.1%) laboratoires. Les trophozoïtes ont été retrouvés par 131 (96.3%) et les gamétocytes par 69 (50.7%) d'entre eux. 35 (20.3%) laboratoires ont mentionné la présence de *Plasmodium* sp., autre que, *Plasmodium falciparum*.

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.

Les photos de l'échantillon P/10813 montraient les microfilaires de *Loa loa* et *Mansonella perstans*.

Loa loa (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 163 (94.8%) laboratoires et *Mansonella perstans* par 94 (54.7%) laboratoires. Les microfilaires ont été retrouvées respectivement par 157/163 (96.3%) et 91/94 (96.8%) d'entre eux.

Le commentaire de l'enquête a discuté de plus près la morphologie des 2 parasites, la symptomatologie des infections dont ils sont la cause et le traitement. En plus il a mentionné que la présence d'une infection mixte peut avoir des conséquences pour le traitement. **Donc: non seulement la présence de microfilaires est importante mais également l'identification des différentes espèces et la microfilarémie.**

2.2. Enquête 2

Deux suspensions de selles formolées, P/10973 et P/10874, ont été envoyés.

163 laboratoires ont participé à cette enquête (163 ont envoyé les résultats pour P/10973 et 162 pour P/10974).

L'échantillon P/10973 contenait des oocystes de *Cryptosporidium* species.

Cryptosporidium species (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 145 (89.0%) laboratoires. Les oocystes ont été retrouvés par 126 (86.9%) d'entre eux.

Le commentaire concernant l'enquête a décrit la taxonomie, le cycle de vie, la transmission, les symptômes et le traitement de *Cryptosporidium parvum*.

Le **diagnostic** peut se faire par **microscopie et détection de l'antigène**. La **PCR est plus sensible et permet l'identification jusqu'au niveau de l'espèce** mais est **moins utilisée** dans le diagnostic de routine.

Les oocystes ont un diamètre de 4-6 µm. A cause de leur faible taille, ils peuvent être difficiles à voir ou confondus avec des cellules de levures. Ils ne se colorent cependant pas à l'iode. Les colorations permanentes (trichrome, Fe-hematoxyline) ne colorent pas bien les oocystes mais en grande concentration ils peuvent être détectés. Les oocystes se colorent à l'auramine mais la confirmation par une coloration acido-résistante ou par un test immunologique est nécessaire. Une alternative simple pour le dépistage est la **coloration négative selon Heine**. Les échantillons fixés peuvent être colorés par les colorations acido-résistantes modifiées pour lesquelles une bonne décoloration est surtout nécessaire. La spécificité des méthodes microscopiques est bonne si elles sont effectuées par un personnel expérimenté et dépend de la qualité de l'échantillon, de la densité du parasite, du degré de coloration des oocystes et du temps passé à l'examen de l'échantillon. Les artéfacts peuvent poser un problème. Il est utile que les laboratoires qui manquent d'expérience avec la méthode comparent les résultats des patients avec un contrôle positif.

La **détection de l'antigène s'effectue par EIA ou par des tests immunochromatographiques (rapides) individuels**. Ces derniers existent pour la détection de *Cryptosporidium* seul ou en combinaison avec *Giardia* et éventuellement *E. histolytica*. La spécificité de tous ces tests est raisonnable. La sensibilité varie suivant les études et est meilleure pour les EIA que pour les tests rapides. Les laboratoires avec un nombre de demandes suffisant font donc mieux de les tester en batch par EIA. La qualité de la détection de l'antigène de *C. hominis* est égale à celle de *C. parvum*. Il semble que la détection des *Cryptosporidium* spp. moins fréquents soit moins bonne.

L'échantillon P/10974 contenait des oocystes de *Cyclospora cayetanensis*.

Cyclospora cayetanensis (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 150 (92.0%) laboratoires. Les oocystes ont été retrouvés par 140 (93.3%) d'entre eux.

Le commentaire concernant l'enquête a décrit la taxonomie, le cycle de vie, la transmission, les symptômes et le traitement de *Cyclospora cayetanensis*.

Le **diagnostic** est effectué par la **détection dans les selles d'oocystes** parfaitement ronds, qui ont un diamètre de 8-10 µm. La paroi claire et lisse des oocystes et la présence d'inclusions qui ressemblent à des morulas et qui sont fortement réfringentes facilitent leur mise en évidence. **Les techniques de concentration sont indispensables** pour rechercher les infections moins sévères avec une sensibilité suffisante. Dans les préparations fraîches, colorées au lugol, les oocystes ne fixent

d'habitude pas le lugol. **La coloration acido-résistante des oocystes est variable** (certains oocystes n'absorbent pas la coloration acido-résistante), ce qui ne favorise pas la sensibilité de l'examen. Leur caractéristique acido-résistante a son importance quand on utilise ces colorations acido-résistantes pour la recherche des *Cryptosporidium*, avec lesquelles *Cyclospora* peut être confondue quand les quatre sporozoïtes de *Cryptosporidium* ne peuvent pas être bien visualisés dans les oocystes. Il en va de même si on utilise l'immunofluorescence pour la recherche des *Cryptosporidies* et autres parasites. Les oocystes de *Cyclospora* montrent notamment une autofluorescence à une longueur d'onde de 340-380 nm mais pour observer cela les préparations ne peuvent pas être trop épaisses.

2.3. Enquête 3

Deux suspensions de selles formolées, P/10977 et P/11307, ont été envoyés.

160 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/10977 contenait des œufs d'Ancylostomatoidea, kystes de *Giardia lamblia*, et kystes de *Endolimax nana*.

87 (54.4%) laboratoires ont mentionné la présence d'Ancylostomatoidea (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites), 34 (21.2%) la présence d'*Ancylostoma duodenale* et 17 (10.6%) la présence de *Necator americanus* ; en total 138 (86.2%) laboratoires ont donc mentionné des parasites appartenant aux Ancylostomatoidea.

A un laboratoire près (qui a répondu « kyste » pour *N. americanus*), tous les laboratoires ont mentionné les œufs comme stade d'évolution.

Giardia lamblia (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 145 (90.6%) laboratoires. 140 laboratoires ont mentionné la présence des kystes.

Endolimax nana (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 83 (51.9%) laboratoires. 80 laboratoires ont mentionné la présence des kystes.

Le commentaire concernant l'enquête a décrit entre autres la morphologie, le cycle de vie, la pathogénèse et le diagnostic des Ankylostomes (vers des mineurs). Comme correctement mentionné par plusieurs participants, **il est impossible de distinguer microscopiquement les œufs d'*A. duodenale* de *N. americanus* et il est plus correct de répondre « œufs d'Ancylostomatoidea ou d'Ancylostomatidae »**. La différenciation entre les deux espèces n'a pas de grand intérêt clinique.

L'échantillon P/11307 contenait des kystes de *Blastocystis hominis*.

Blastocystis hominis (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 122 (76.3%) laboratoires. 104 laboratoires ont mentionné la présence des kystes.

Le commentaire de l'enquête a discuté plus amplement les problèmes concernant ce parasite. La nomenclature actuelle fait plutôt état de *Blastocystis* spp. au lieu de *B. hominis* ; il est anaérobie et vit dans le tractus intestinal bas (colon et caecum) de l'homme et de nombreux mammifères et oiseaux. Il est cosmopolite et **la controverse existe toujours quant à son rôle pathogène**. C'est le parasite le plus fréquemment retrouvé dans les selles tant chez les enfants que chez les adultes.

Le **diagnostic de routine** se fait par **la mise en évidence de formes de type kystiques** ("cyst-like stage") à l'examen microscopique à frais des selles ou par l'examen de frottis colorés, par exemple au trichrome.

On n'observe généralement pas de leucocytes dans les selles. *Blastocystis* spp. est fréquemment associé à d'autres parasites pathogènes ou non.

Il existe tant des méthodes de culture que de biologie moléculaire, mais elles ne sont pas utilisées en routine ; les tests ELISA sur le sérum ne sont pas utiles au diagnostic clinique.

Il s'agit donc très certainement d'un parasite "à suivre" pour lequel des informations plus précises sont attendues.

2.4. Utilisation du Toolkit

Le nombre de réponses envoyé par voie informatique (Toolkit) est respectivement 70.9%, 51.5% et 52.5% pour chacune des enquêtes.

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

III. SEROLOGIE INFECTIEUSE

En 2011, les paramètres sérologiques pour la borréliose, le CMV, l'EBV, la rubella, la brucellose, la *Chlamydomphila pneumoniae* 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 borréliose

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Borrelia, S/4897 et S/5379.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

S/4897: Homme de 45 ans, garde forestier, n'a pas de plaintes particulières. Examen fait dans le cadre d'un bilan de santé.

S/5379: Prélèvement chez un homme de 63 ans avec une arthrite du genou droit.

Les résultats attendus étaient :

S/4897: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Absence d'anticorps

S/5379: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Absence d'anticorps

138 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 247 tests sur l'échantillon S/4897 et 246 tests sur l'échantillon S/5379.

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau 3.1.1.

Tableau 3.1.1 Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour la détermination des anticorps anti-Borrelia de l'enquête 2011/1.

Nombre de tests	Type de trousse	Type de technique	S/4897	S/5379
1 test	Ac. tot.	générale	38	38
		anti-C6	11	11
2 tests	IgG et IgM	nonblot - nonblot	72	73
		blot - blot	1	1
3 tests	Ac. tot. et IgG et IgM	générale - nonblot - nonblot	4	4
		générale - blot - blot	2	2
		antiC6 - nonblot - nonblot	1	1
		antiC6 - blot - blot	1	1
	IgG et 2 x IgM	nonblot - nonblot - blot	6	5
4 tests	2 x IgG et 2 x IgM	nonblot - blot - nonblot - blot	1	1
6 tests	3 x IgG et 3 x IgM	nonblot - nonblot - blot - nonblot - nonblot - blot	1	1

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps totaux (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): VIDAS Lyme (bioMérieux) (77.2%) et C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA (Immunitics) (22.8%)
- IgG (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (54.3%) et Borrelia Plus VLsE Elisa IgG (Euroimmun) (21.8%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (46.9% et 47.4%) et Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun) (20.4% et 20.6%)

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux et pour les IgG pour l'échantillon S/4897, indépendamment de la technique utilisée. Pour les IgM, avec les tests non-blot, 70 (82.3%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 4 un résultat borderline et 11 un résultat positif ; avec les tests blot, 10 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 2 un résultat positif.

128 (92.8%) laboratoires ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia » ; 6 laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. » et 2 l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. » Deux laboratoires ont proposé leur propre interprétation qui référait au résultat borderline pour les IgM.

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux pour l'échantillon S/5379, indépendamment de la technique utilisée. Pour les IgG, avec les tests non-blot, 84 (98.8%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 1 laboratoire un résultat borderline; avec les tests blot, 3 laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 2 un résultat borderline et 1 laboratoire un résultat positif.

Pour les IgM, avec les tests non-blot, 72 (84.7%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 9 un résultat borderline et 4 un résultat positif ; avec les tests blot, 8 laboratoires ont obtenu un résultat négatif 2 un résultat borderline et 1 laboratoire un résultat positif.

129 (93.5%) laboratoires ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia » ; 4 laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. » et 2 l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. » Trois laboratoires ont proposé leur propre interprétation qui référait au résultat borderline pour les IgM.

Étant donné que tous les résultats non-négatifs pour les 2 échantillons ont été obtenus avec des trousse de la compagnie Euroimmun, nous avons contacté cette firme et nous leur avons demandé d'analyser les échantillons. Les résultats de leur examen ont été repris dans le rapport global de l'enquête.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné que la plupart des résultats « techniques » étaient corrects (surtout en ce qui concerne les IgG et les anticorps totaux) et a discuté de plus près la problématique des trousse d'Euroimmun mentionnées ci-dessus: les tests ELISA d'Euroimmun contiennent les antigènes natifs des 3 espèces principales de *Borrelia*, ce qui les rend probablement bien sensibles, mais également moins spécifiques à cause de la présence de la protéine p41, antigène flagellaire commun à tous les spirochètes. La moins bonne spécificité de ces tests conduit donc à la réalisation d'immunoblots inutiles et coûteux. Une alternative pour les utilisateurs de ce type de trousse pourrait être de demander un sérum de contrôle 2 ou 3 semaines plus tard plutôt que de réaliser d'emblée un immunoblot.

Le commentaire a également mentionné que la plupart des interprétations étaient corrects et a commenté sur les quelques interprétations discordantes, à savoir « Présence d'anticorps anti-*Borrelia* » sur base d'un test ELISA IgM positif uniquement: la spécificité des IgM anti-*Borrelia* est très variable selon les kits et peut descendre jusqu'à 52 % chez des patients avec une infection virale ou un facteur rhumatoïde. Il est donc important de confirmer la présence d'IgM par un immunoblot ou mieux, d'observer l'apparition d'IgG sur un sérum de contrôle 2 ou 3 semaines plus tard. En effet, même les immunoblots IgM montrent une mauvaise concordance entre eux, certains manquant de spécificité.

La conclusion finale du commentaire était: **le diagnostic de borréliose reste difficile, en raison de la grande variabilité de la performance des tests sérologiques disponibles et de la faible sensibilité de la recherche directe du pathogène.** Les

recommandations classiques consistent à **réaliser un test de screening IgG et IgM ou anticorps totaux de type immunoassay suivi d'un immunoblot en cas de résultat positif ou douteux**. La confirmation par immunoblot n'est pas toujours nécessaire si la suspicion clinique de borreliose est élevée. En cas d'érythème migrant, manifestation pathognomonique, le diagnostic est clinique et la sérologie n'est pas nécessaire. **Les résultats de sérologie *Borrelia* doivent toujours être interprétés en fonction des renseignements cliniques**. La présence d'anticorps spécifiques ne prouve pas l'existence de la maladie mais peut être liée à un contact ancien, symptomatique ou non. Etant donné la faible sensibilité de la sérologie dans les premières semaines, il est important de prévoir un échantillon de suivi lorsque la sérologie est négative ou douteuse, mais uniquement en cas de suspicion clinique d'infection récente.

3.2. Le CMV

Deux échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie du CMV.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/4173: Femme en âge de procréation, ayant consulté pour un syndrome grippal accompagné de myalgies, de fièvre et de malaise généralisé. L'échantillon soumis au Q.C. a été prélevé un mois après le début des manifestations cliniques.

S/4898: Une semaine après, le mari de la patiente mentionnée ci-dessus, consulte son généraliste avec les mêmes symptômes.

Les résultats attendus étaient :

S/4173: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Sérologie négative pour CMV

S/4898: IgG positif
IgM négatif
Avidité élevée
Interprétation: Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV

168 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 337 tests pour l'échantillon S/4173 et 359 tests pour l'échantillon S/4898.

Les tests effectués sur l'échantillon S/4173 étaient répartis comme suit : 1 détermination des anticorps totaux, 168 IgG, 167 IgM et 1 détermination de l'avidité.

Les tests effectués sur l'échantillon S/4898 : 1 détermination des anticorps totaux, 169 IgG, 169 IgM et 20 déterminations de l'avidité.

Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 3.2.1.

Tableau 3.2.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Type test	S/4173	S/4898
1 test	IgG	3	3
2 tests	IgG + IgM	160	141
	IgG + Ac. totaux	1	1
3 tests	IgG + IgM + avidité	1	17
	IgG + IgM + IgM	3	3
4 tests	IgG + IgM + IgM + avidité	-	2
	IgG + IgG + IgM + avidité	-	1
Total		168	168

Les trousseaux les plus utilisés pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect CMV IgG (22.6% et 22.5%), Liaison CMV IgG (Diasorin) (20.2% et 20.1%), VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (16.1% et 16.6%) et AxSYM CMV IgG (Abbott) (14.9% et 14.8%)
- IgM: Architect CMV IgM (21.6% et 21.3%), Liaison CMV IgM (Diasorin) (21.0% et 20.7%), VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (19.2% et 19.5%) et AxSYM CMV IgM (Abbott) (10.8% et 10.7%)
- Avidité (échantillon S/4898) : VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (75.0%) et Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (20.0%)

Le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux, a obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/4173.

166 (98.8%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG pour cet échantillon. Deux laboratoires ont fourni la réponse « positif » : un des deux a probablement inversé les 2 échantillons (résultat pour S/4898 : « négatif ») ; l'autre a probablement coché la mauvaise case (le résultat quantitatif plaide en faveur d'un résultat négatif et l'interprétation est « sérologie négative »)

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

164 (97.6%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie négative pour CMV » ; 1 laboratoire a répondu « Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV », un laboratoire « Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV » et un laboratoire « IgG négatifs ». Un laboratoire n'a pas fourni d'interprétation.

Le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux, a obtenu un résultat positif pour l'échantillon S/4898.

165 (98.2%) laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG pour cet échantillon. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline. Deux laboratoires ont fourni la réponse « négatif » : un des deux a probablement inversé les 2 échantillons (cfr. échantillon S/4173) ; l'autre a probablement inversé les IgG et IgM au moment de remplir le formulaire (les IgM sont « positif » mais l'interprétation est « infection ancienne »).

159 (97.0%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM avec toutes les techniques utilisées. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline et 2 un résultat positif (dont le laboratoire mentionné ci-dessus qui a inversé les IgG et IgM). Deux laboratoires ont obtenu des résultats différents pour les 2 techniques utilisées (négatif et borderline; négatif et positif).

17 laboratoires ont obtenu une avidité élevée ; un laboratoire a fourni la réponse « intermédiaire » (résultat quantitatif 68.7%) et 2 laboratoires une réponse « faible » (résultats quantitatifs respectivement 28% et 75.5%).

162 (96.4%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV » ; 1 laboratoire a répondu « Sérologie négative pour CMV », un laboratoire « Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV », deux laboratoires ont mentionné la nécessité d'un nouveau prélèvement et un laboratoire a répondu « IgG négatifs ». Un laboratoire n'a pas fourni d'interprétation.

Le commentaire concernant l'enquête a discuté l'approche générale d'une infection par CMV possible: **le diagnostic d'une infection par le cytomégalovirus** chez les patients immunocompétents en général et chez les femmes enceintes en particulier **se fait par sérologie**. Il est principalement basé sur **une séroconversion objectivée ou une croissance significative du titre des anticorps IgG**. Toutefois, il est impossible, pour un échantillon de sérum isolé, ou en cas de titres d'IgG qui ont atteint un plateau, avec la présence concomitante d'IgM, d'essayer de dater l'infection ou de distinguer une infection primaire d'une réactivation, réinfection ou stimulation polyclonale sur seule base des analyses d'IgG et IgM. Cette information est cependant nécessaire pour un diagnostic prénatal adéquat, où on essaie d'obtenir une connaissance concernant une infection primaire par CMV. **Le test d'avidité anti-CMV IgG est actuellement la procédure sérologique la plus fiable pour exclure une infection primaire (en cas d'avidité élevée). Une avidité faible ne peut pas exclure une infection ancienne**, étant donné qu'il existe une proportion de patients infectés qui ont pendant une longue période des anticorps IgG à avidité faible persistants. Ceci est dû à la variation interindividuelle de la maturation des anticorps IgG au cours du temps après une infection primaire. Le pourcentage de personnes de la population générale avec des anticorps anti-CMV IgG à avidité élevée dépend en plus du test utilisé et du cut-off de ce test.

Concernant l'enquête, le commentaire a mentionné que pour l'échantillon S/4173 presque tous les résultats et interprétations étaient corrects. Concernant l'échantillon S/4898, le commentaire a référé à la trousse AxSYM CMV IgM (mentionné ci-dessus), avec laquelle au total quatre résultats « faux positifs » ou « borderline » ont été obtenus. C'est bien que les utilisateurs de cette trousse connaissent en partie le problème, vu que 2 des 4 laboratoires disposent d'une deuxième technique pour les IgM: de cette façon ils peuvent éviter le rapportage d'IgM aspécifiques et fournir une interprétation finale correcte au clinicien. Concernant l'exécution d'une détermination d'avidité IgG sur cet échantillon, il faut préciser qu'en routine il n'existe pas d'argument pour effectuer ce test chez un jeune homme en bonne santé. Les 20 laboratoires qui ont cependant déterminé l'avidité l'ont fait parce qu'il s'agissait d'une EEQ.

3.3 L'EBV

Un échantillon (IS/11067) a été envoyé pour effectuer la sérologie d'EBV. Les laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair ont cependant reçu un échantillon différent sous ce même numéro.

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes:

« Un étudiant de 18 ans se plaint de frissons, d'une faible fièvre, de mal de tête, d'un manque d'appétit, et d'une forte fatigue. Il se présente chez son généraliste où une prise de sang est effectuée. »

Les résultats attendus étaient :

Laboratoires pairs: Ac. hétérophiles : négatif
IgG (totaux, VCA, EBNA): négatif
IgM (totaux, VCA): négatif
Interprétation : Sérologie négative pour EBV

Laboratoires impairs: Ac. hétérophiles : négatif
IgG (totaux, VCA, EBNA): positif
IgM (totaux, VCA): négatif
Interprétation : Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV

154 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse : 88 labos avec numéro d'agrément pair et 66 avec numéro d'agrément impair.

Les 88 laboratoires pairs ont effectué 265 tests (47 Ac. hétérophiles, 9 IgG totaux, 10 IgM totaux, 57 VCA IgG, 14 VCA-EA IgG, 76 VCA IgM, 45 EBNA IgG, 6 EA IgG et 1 EA IgM). Les 66 laboratoires impairs ont effectué 203 tests (48 Ac. hétérophiles, 6 IgG totaux, 6 IgM totaux, 37 VCA IgG, 9 VCA-EA IgG, 55 VCA IgM, 36 EBNA IgG, 5 EA IgG et 1 EA IgM).

Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 3.3.1.

Tableau 3.3.1. Nombre de participants répartis par paramètre pour l'EBV (2011/2)

Nombre de tests	Paramètre	Laboratoires pairs	Laboratoires impairs
1 test	Ac. Hétérophiles	2	3
2 tests	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG	-	1
	VCA IgG + VCA IgM	14	7
3 tests	VCA-EA IgG + VCA IgM	3	2
	EBNA IgG + VCA IgM	1	1
	IgG totaux + IgM totaux	2	-
	Ac. hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM	15	10
	Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM	3	3
	Ac. Hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux	4	5
	Ac. hétérophiles + EBNA IgG + VCA IgM	3	8
	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + IgM totaux	1	-
	Ac. hétérophiles + EBNA IgG + EA IgM	-	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	9	7
4 tests	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	6	-
	IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	2	-
	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	13	8
	Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	2	4
	Ac. Hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	1	1
	2 Ac. hétérophiles + VCA IgM + EBNA IgG	1	-
5 tests	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	1
	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	1	4
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG + EA IgM	1	-
Total		88	66

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ac hétérophiles: Clearview IM (Alere Health) (63.8% (pair) et 70.8% (impair))
- IgG totaux: Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens) (100%, les 2 groupes)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100%, les 2 groupes)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (DiaSorin) (52.6% (pair) et 54.1% (impair)) et Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa (Euroimmun) (14.0% (pair) et 8.1% (impair))
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (DiaSorin) (44.4% (pair) et 42.9% (impair)) et VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (22.2% (pair) et 27.8% (impair))
- EA IgG: Liaison EA IgG (DiaSorin) (66.7% (pair) et 80% (impair))
- IgM totaux: Enzygnost anti-EBV IgM II (Siemens) (100%, les 2 groupes)
- VCA IgM: Liaison EBV IgM (DiaSorin) (42.1% (pair) et 40% (impair)), VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (18.4% (pair) et 23.6% (impair)) et Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa (Euroimmun) (11.8% (pair) et 7.3% (impair))

Laboratoires pairs

93.5% des laboratoires ont trouvé les Ac hétérophiles négatifs; 4.3% ont obtenu un résultat borderline et un laboratoire a mentionné qu'il était impossible d'interpréter les Ac hétérophiles.

Tous les laboratoires qui ont déterminé les IgG et les IgM, les ont trouvés négatives, indépendamment de leur nature.

97.7% des laboratoires ont donné l'interprétation correcte « Sérologie négative pour EBV ». Un laboratoire a proposé « Ac. hétérophiles borderline positifs ; pour exclure le début d'une infection par EBV, un nouveau prélèvement est nécessaire »; et un laboratoire n'a pas donné d'interprétation.

Laboratoires impairs

97.9% des laboratoires ont trouvé les Ac hétérophiles négatifs; un laboratoire a obtenu un résultat positif.

Tous les laboratoires qui ont déterminé les IgG totaux, les VCA-EA IgG et les EBNA IgG, les ont trouvés positifs. 99.4% des laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les VCA IgG et 2 laboratoires un résultat négatif (pour un de ces 2 laboratoires, il s'agit probablement d'une erreur de transcription au moment de remplir le formulaire de réponse: pour les VCA IgM ce laboratoire a rapporté un résultat positif).

Tous les laboratoires qui ont déterminé les IgM totaux et les EA IgM les ont trouvés négatifs. 98.2% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les VCA IgM et un laboratoire un résultat positif (probablement une erreur de transcription : cfr. supra)

90.9% des laboratoires ont donné l'interprétation correcte « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV »; 4.5% ont proposé « Sérologie négative pour EBV ». En plus un laboratoire a proposé « Immunité acquise »; un deuxième a proposé « Sérologie positive dans l'essai IgM pour EBV; afin d'exclure une infection primaire par EBV une confirmation est nécessaire par tests supplémentaires (à savoir GOT/GPT, formule lymphos, R = T, Paul-Bunnell-Davidson) » et un laboratoire, qui n'a déterminé que les Ac hétérophiles a mentionné que les autres paramètres devraient être effectués afin de pouvoir donner une interprétation correcte..

Le commentaire a souligné qu'**il est impossible de fournir l'interprétation "sérologie négative pour EBV" en ne se basant que sur la détermination d'anticorps hétérophiles**. La présence d'anticorps hétérophiles, si la demande est effectuée dans un contexte clinique adéquat, est "assez" spécifique pour une infection EBV aiguë, mais la sensibilité est relativement basse, surtout chez les enfants. Dix à 50 % des enfants de moins de 5 ans ne sont pas en état de produire des anticorps hétérophiles, mais aussi chez les adolescents et les adultes (certainement les personnes âgées) la sensibilité n'est pas de 100%. Des anticorps hétérophiles faussement positifs peuvent être trouvés chez des patients atteints de leucémie, ayant un lymphome, une rubéole, ...

Pour les personnes les plus immunocompétentes, la détermination de 3 paramètres sérologiques suffisent à l'interprétation de la sérologie EBV: VCA IgM (Viral Capsid Antigen), VCA IgG et EBNA-1 IgG (Epstein Barr Nuclear Antigen). La présence d'anticorps EBNA-1 exclut définitivement une infection primaire récente. Mais certains individus ne produisent pas d'anticorps EBNA-1 IgG et en outre les anticorps EBNA-1 IgG peuvent disparaître à nouveau.

Une infection primaire est caractérisée par l'apparition rapide d'anti-VCA IgM. Quand les anti-VCA-IgG apparaissent, les anti-VCA IgM diminuent jusqu'à disparition complète. Les anti-VCA-IgG persistent à vie chez les personnes immunocompétentes. Une infection EBV passée est caractérisée par l'absence d'anti-VCA IgM et la présence d'IgG contre tant les VCA que les EBNA.

Ci-après vous trouvez le tableau pour l'interprétation des différents paramètres sérologiques.

Table 1. Interpretation of EBV-specific serological profiles for diagnosis					
Atypical lymphocytes	Heterophile antibodies	VCA IgG	VCA IgM	EBNA-1 IgG	Interpretation
-	-	-	-	-	No infection
+/-	+/-	+	+	-	Acute infection
-	-	+	-	+	Past infection
-	-	+	+	+	Past infection most probable
+/-	+/-	+	-	-	Past infection**
-	-	-	+	-	Undetermined*
-	-	-	-	+	Impossible***

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

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

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

3.4 La rubéole

Un échantillon (IS/11068) a été envoyé pour effectuer la sérologie de la rubéole. Les laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair ont cependant reçu un échantillon différent sous ce même numéro.

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes:

« Une jeune femme, qui n'a pas été vaccinée dans sa jeunesse, se présente chez son médecin avec un rash et de la fièvre.»

Les résultats attendus étaient :

Laboratoires pairs:IgG : positif

IgM: négatif

Interprétation : Immunité

Laboratoires pairs:IgG : positif

IgM: borderline à positif

Interprétation : Possibilité d'une infection récente

153 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse : 89 labos avec numéro d'agrément pair et 64 avec numéro d'agrément impair.

Les 89 labos pairs ont effectué 174 tests: 6 laboratoires ont effectué 1 test, 82 laboratoires ont effectué 2 tests et 1 laboratoire a effectué 4 tests.

Tous les laboratoires qui ont effectué 1 test, ont déterminé les IgG. Les 82 laboratoires ayant effectué 2 tests ont déterminé les IgG et les IgM ; le laboratoire qui a effectué 4 tests a déterminé 2 fois les IgG et 2 fois les IgM (avec des méthodes différentes).

Au total les laboratoires ont donc effectué 90 déterminations des IgG et 84 déterminations des IgM.

Les 64 labos impairs ont effectué 129 tests : 5 laboratoires ont effectué 1 test, 53 laboratoires ont effectué 2 tests et 6 laboratoires ont effectué 3 tests.

Quatre des laboratoires qui ont effectué 1 test ont déterminé les IgG et 1 laboratoire a déterminé les anticorps totaux. Les 53 laboratoires ayant effectué 2 tests ont déterminé les IgG et les IgM ; les 6 laboratoires qui ont effectué 3 tests ont déterminé les IgG et 2 fois les IgM (avec des méthodes différentes).

Au total les laboratoires ont donc effectué 1 détermination des anticorps totaux, 63 déterminations des IgG et 65 déterminations des IgM.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

-IgG: Architect Rubella IgG (Abbott) (21.1% (pair) et 31.7% (impair)), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (17.8% (pair) et 14.3% (impair)), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (8.9% (pair) et 17.5% (impair)) et AxSYM Rubella IgG (Abbott) (8.9% (pair) et 9.5% (impair))

-IgM: Architect Rubella IgM (Abbott) (22.6% (pair) et 29.2% (impair)), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (19.0% (pair) et 13.8% (impair)) et VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (11.9% (pair) et 23.1% (impair))

Laboratoires_pairs

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG.

94.0% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM; 3.6% (trois labos) un résultat positif et 2.4% un résultat borderline. Les trois résultats positifs et un des résultats borderline ont été obtenus avec la trousse Immulite Rubella IgM. La firme Siemens a été contactée à ce sujet et a examiné l'échantillon. Ils nous ont communiqué la conclusion suivante :

"Results for this sample on L2KRM kit lot 211 are similar to those on kit lot 210 with nonreactive results after treatment with HBT indicating the results were affected by heterophilic interference".

76 (87.6%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité » ou une variante de cette interprétation. Un laboratoire a mentionné que les IgG étaient présentes mais qu'il faut déterminer les IgM pour obtenir une interprétation correcte. Deux laboratoires ont choisi « pas d'immunité » et un laboratoire « Possibilité d'une infection récente ». Un laboratoire a préféré ne pas donner d'interprétation.

Laboratoires_impairs

96.8% des laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG et 3.2% des laboratoires un résultat négatif.

55.9% % des laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgM. 32.2% un résultat borderline et 5.1 % un résultat négatif. 5.1% des laboratoires ont obtenu des résultats différents pour les 2 trouses qu'ils ont utilisées. Un laboratoire n'a pas fourni l'interprétation qualitative de son résultat quantitatif.

54 (84.4%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Possibilité d'une infection récente ». Sept (10.9%) laboratoires ont choisi « Immunité » ou une variante de cette interprétation. Un laboratoire a combiné ces 2 interprétations. Un laboratoire a choisi « positif » et un laboratoire a préféré ne pas donner d'interprétation.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné qu'il est **impossible d'exclure une infection récente** si on a uniquement effectué la détermination des IgG **sans connaissance des IgM**. L'interprétation "pas d'immunité" dans le cas d'une positivité analytique des IgG et une négativité des IgM ne peut pas être considérée comme correct. L'exécution de l'avidité des IgG Rubella en cas d'un résultat possiblement positif des IgM (le laboratoire en question n'a effectué que les IgG) ne peut pas être conseillée dans le contexte clinique: les **déterminations d'avidité des IgG** ont plutôt pour but de **dater les infections**, ce qui est surtout important dans le début de la grossesse. Une **autre manière de dater** une infection récente par Rubella est de démontrer la **présence des IgG anti-E2** par immunoblot: ces IgG dirigées contre la glycoprotéine E2 de l'enveloppe apparaissent 3-4 mois après une infection primaire par Rubella.

Il est important de **confirmer une infection récente** par au moins une des possibilités suivantes: a) **la confirmation de la positivité des IgM** par une **autre méthode** analytique, de préférence au Centre National pour la rougeole et la rubéole; b) **démontrer une sérologie évolutive** sous forme d'une augmentation significative sur un nouveau prélèvement 1-2 semaines après la première analyse; c) **démontrer la présence d'anticorps à avidité élevée/IgG anti-E2** s'il est important de dater l'infection.

3.5. La brucellose

Un échantillon (IS/7727) a été envoyé.

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

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

L'échantillon était négatif en anticorps anti-brucellose.

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

72 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 90 tests sur l'échantillon IS/7727.

55 laboratoires ont effectué 1 test, 16 laboratoires ont effectué 2 tests et 1 laboratoire a effectué 3 tests.

51 tests servaient à déterminer les anticorps totaux:

- 35 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. abortus*
- 13 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. melitensis*
- 3 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. abortus* et anti-*B. melitensis* (les 2)

35 tests servaient à déterminer les IgG

4 tests servaient à déterminer les IgM;

Le tableau ci-dessous présente un aperçu des combinaisons des tests effectués.

Tableau 3.5.1. Aperçu des combinaisons des tests utilisés dans la détermination des anticorps anti-Brucella.

Nombre de tests	Type test	N labos
1 test effectué	Anticorps totaux: <i>B. abortus</i>	21
	Anticorps totaux: les 2	1
	IgG	31
	IgM	2
2 tests effectués	Anticorps totaux: <i>B. abortus</i> et <i>B. melitensis</i>	12
	IgG + Anticorps totaux: les 2	2
	IgG + IgM	2
3 tests effectués	Anticorps totaux: 2 * <i>B. abortus</i> + 1 * <i>B. melitensis</i>	1
Total		72

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ac. totaux: Stained Febrile Antigens Brucella abortus (Diamondial) (29.4%), Stained Febrile Antigens Brucella melitensis (Diamondial) (13.7%) et Febrile serodiagnostic agglutination test (BioSystems) (13.7%)
- IgG: Brucella Rose Bengal (BioRad) (97.1%)
- IgM: Brucella Wright (BioRad) (75.0%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

91.7% (33/36) des laboratoires ayant déterminé les Ac. totaux les ont trouvés négatifs; un labo a obtenu un résultat borderline, un labo un résultat positif et un labo n'a pas fourni d'interprétation qualitative de son résultat.

94.3% (33/35) des laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvées négatives; deux labos ont obtenu un résultat positif.

75% (3/4) des laboratoires ayant déterminé les IgM les ont trouvées négatives; un labo a obtenu un résultat positif.

91.7% (66/72) des laboratoires ont donné l'interprétation correcte « Absence d'anticorps. »; la réponse « Absence d'anticorps IgM » (donné par un labo qui n'a déterminé que les IgM) peut également être considérée comme correcte; 4 (5.6%) labos ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps, suggérant une infection » et un labo « Résultat douteux à contrôler sur second prélèvement ».

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que **les méthodes sérologiques recommandées sont les agglutinations (SAT), le Rose-Bengale et l'ELISA**. Ces méthodes permettent le diagnostic des infections à *Brucella* sp. Quelque soit le test sérologique utilisé, le **diagnostic sérologique de la brucellose est délicat** car des **réactions croisées** existent entre les anticorps dirigés contre le lipopolysaccharide de brucella et celui d'autres bactéries. En cas de **réaction douteuse** en sérologie une **nouvelle prise de sang** peut être envisagée après une quinzaine de jours pour affiner le diagnostic. **L'envoi du sérum au CNR** est également une possibilité. Différents tests sérologiques peuvent y être réalisés en parallèle pour affiner le diagnostic.

3.6. La sérologie de *Chlamydomphila pneumoniae*

Un échantillon a été envoyé pour effectuer la sérologie de la *C. pneumoniae*.

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes:

IS/8687: Un homme de 45 ans sans pathologie sous-jacente souffre d'une toux continue, d'un malaise général, d'éraïllement et de fièvre durant les 10 derniers jours.

Les résultats attendus étaient :

IS/8687: IgG négatif
IgM négatif
IgA négatif

93 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 186 tests pour l'échantillon IS/8687. Les tests étaient répartis comme suit : 3 déterminations des anticorps totaux, 95 IgG, 18 IgM et 70 IgA.

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

Tableau 3.6.1. Nombre de participants répartis par paramètre pour *C. pneumoniae* pour l'échantillon IS/8687.

Nombre de tests	Type test	IS/8687
1 test	Ac. totaux	2
	IgG	13
	IgM	1
	IgA	4
2 tests	IgG + IgM	6
	IgG + IgA	50
3 tests	Ac. totaux + IgG + IgM	1
	IgG + IgM + IgA	7
	2* IgG + IgA	7
4 tests	2* IgG + IgA + IgM	1
5 tests	2* IgG + IgA + 2* IgM	1
Total		93

* tests faits en double avec 2 troussees différentes

Les troussees les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ac. totaux: Chlamydia complement fixation test (Serion) (100%)
- IgG: Chlamydia pneumoniae IgG ELISA plus (Medac) (15.8%), Chlamydia MIF IgG (Focus Diagnostics) (13.7%) et Chlamydia pneumoniae IgG Elisa (Euroimmun) (12.6%)
- IgM: Chlamydia MIF IgM (Focus Diagnostics) (22.2%) et Chlamydia pneumoniae IgM Elisa (Euroimmun) (16.7%)
- IgA: Chlamydia IgA r-ELISA (Medac) (27.1%) et Chlamydia pneumoniae IgA Elisa (Euroimmun) (10.0%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

Toutes les déterminations des anticorps totaux, IgM et IgA étaient négatives.

98.8% (85/86) des laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvées négatives; un a obtenu un résultat borderline.

83.9% des laboratoires ont donné l'interprétation « Profil sérologique pas suggestif d'une infection récente/active par *Chlamydomphila pneumoniae* » ou un variant; 11.8% ont donné

l'interprétation « La sérologie n'est pas adaptée pour le diagnostic d'une infection récente/active par *Chlamydomphila pneumoniae* »: 3.2% ont précisé dans l'interprétation qu'un 2^e prélèvement est nécessaire. Un laboratoire n'a pas fourni d'interprétation.

10 des 11 laboratoires qui ont indiqué dans l'interprétation que la serologie n'est pas adaptée, ont mentionné la technique qu'ils utilisent pour le diagnostic de *C. pneumoniae*: sept labos utilisent une technique moléculaire et trois renvoient à une autre technique sérologique.

Le commentaire sur l'enquête a mentionné qu'il est connu que pour les infections à *C. pneumoniae* les IgM n'apparaissent qu'après 2-3 semaines et les IgG après 6-8 semaines après le début des symptômes en cas d'infection aiguë; en cas de réinfection (ce qui semble le plus probable dans le cas actuel étant donné l'âge du patient), la production des IgM peut manquer complètement et les IgG apparaissent dans 1-2 semaines après le début des plaintes.

L'utilisation des techniques moléculaires a prouvé que *C. pneumoniae* est responsable d'un pourcentage plus bas d'infections respiratoires aiguës qu'on le supposait sur base des études sérologiques. Les données scientifiques récentes, basées sur l'utilisation de la PCR, ont montré que ***C. pneumoniae* a été détecté dans < 1% d'infections respiratoires aussi bien chez les patients ambulatoires que chez les patients hospitalisés et ceci dans toutes les catégories d'âge.**

NB Diagnostic de *C. trachomatis*

Le tableau ci-dessous reprend les techniques utilisées par les laboratoires pour le diagnostic de *C. trachomatis*. 96 laboratoires ont répondu à cette question.

Tableau 3.6.2. Diagnostic de *C. trachomatis*.

N techniques	Quelles techniques	N labos
1 technique		
	Sérologie	21
	Détection de l'Ag	4
	Techniques moléculaires	11
2 techniques		
	Sérologie + détection de l'Ag	18
	Sérologie + techniques moléculaires	37
	Techniques moléculaires + culture	1
3 techniques		
	Sérologie + détection de l'Ag + techniques moléculaires	3
	Sérologie + techniques moléculaires + culture	1
Total		96

Il est important de souligner qu'il **n'y a pas de place pour la sérologie dans le diagnostic des infections génitales aiguës ou dans le screening des patients asymptomatiques.** Pour le diagnostic du patient individuel la sérologie est surtout utilisée pour le lymphogranulome vénérien (LGV) et l'évaluation de l'infertilité tubaire. L'utilisation de la sérologie pour ces 2 applications reste cependant controversée. Les tests sérologiques spécifiques pour les IgG et IgA anti-*C. trachomatis* peuvent renforcer la suspicion d'un LGV mais pas confirmer le diagnostic en soi. Vu (i) le faible risque de développement d'infertilité tubaire après infection à *C. trachomatis* et (ii) les limites connues de la sérologie telles que la réactivité croisée avec les *Chlamydophilas* et la standardisation insuffisante des essais, l'utilité de la sérologie à cette fin est également mise en cause.

Il existe des **recommandations distinctes pour l'utilisation des tests moléculaires sur les échantillons génitaux, et récemment aussi les échantillons extra-génitaux, aussi bien chez les hommes que chez les femmes.**

3.7. Le VIH

2 échantillons « prêt-à-l'emploi » (S/9591 et IS/10519) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Les résultats attendus étaient :

Echantillon S/9591 : positif pour les anticorps anti-VIH.

Echantillon IS/10519 : négatif pour les anticorps anti-VIH

165 laboratoires belges et luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Les laboratoires ont effectué 189 tests de dépistage sur l'échantillon S/9591: 141 laboratoires ont effectué 1 test et 24 laboratoires 2 tests. En outre 6 laboratoires ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux). Trois 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); 5 laboratoires ont effectué un test de confirmation : ils ont utilisé les trousse suivantes: Inno-LIA HIV I/II Score (Innogenetics) (3 labos) et HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics) (2 labos).

Les laboratoires ont effectué 178 tests de dépistage sur l'échantillon IS/10519: 152 laboratoires ont effectué 1 test et 13 laboratoires 2 tests. En outre 5 laboratoires ont répondu le résultat de l'antigène p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA et 2 laboratoires le résultat qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux).

Les réactifs les plus utilisés sont Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (24.3% et 25.8% pour les 2 échantillons), AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (10.5% et 10.1% pour les 2 échantillons), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (10.5% et 7.8% pour les 2 échantillons) et HIV Combi 2nd Generation (Roche) (8.5% et 9.0% pour les 2 échantillons).

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon S/9591: 163 (98.7%) laboratoires ont obtenu un résultat positif avec les tests de dépistage. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif (mais il a probablement interverti les 2 échantillons) et un laboratoire n'a pas donné de réponse à cause d'un problème technique.

Les laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé ». Nous rappelons que le terme « ND » ne veut pas dire que l'Ag p24 est négatif mais que cette trousse ne sait pas déterminer l'antigène et qu'il faut utiliser une autre trousse pour la détermination de l'antigène.

Les résultats de la trousse VIDAS HIV p24 II était tous négatifs; le résultat de la trousse Murex HIV Ag Mab était également négatif.

Les résultats des trousse Inno-LIA HIV I/II score et HIV-Blot 2.2 étaient tous positifs.

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon IS/10519: il a été considéré négatif par 158 (95.8%) laboratoires, positif par 4 (2.4%) laboratoires et borderline par un laboratoire. Deux laboratoires ont obtenu des résultats différents pour les différentes trousse utilisées.

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

Le commentaire a mentionné que **la pratique générale des tests pour le diagnostic VIH semble correcte dans notre pays**. Il est nécessaire de confirmer un résultat positif ou douteux. Dans notre pays les tests sont souvent appliqués comme dépistage chez des patients avec une faible probabilité pré-test d'être positifs. Cela entraîne **une valeur prédictive positive se situant seulement autour de 50%**. Lors de la confirmation, il faut

d'abord faire confirmer l'échantillon en l'envoyant à un laboratoire de référence SIDA. Ensuite, si positif, il convient de s'assurer qu'il s'agit bien d'un échantillon du patient suspecté en testant un second échantillon, prélevé indépendamment chez le même patient. (<https://www.wiv-isp.be/epidemiologie/EPIEN/AIDSEN/ARLEN/fSERO.html>)

En ce qui concerne le test HIV DUO Ultra de la firme bioMérieux, il est à remarquer qu'il ne s'agit pas d'un test de dépistage d'antigène à proprement parler : lorsqu'un résultat positif est obtenu pour les anticorps, la composante antigène est répondeur ND (non détecté) ce qui ne signifie pas négatif. Le test n'est en effet positif que pour une des deux composantes.

3.8. Ag Legionella

Deux échantillons d'urine ont été envoyés pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/6792 en Ag/11069.

L'échantillon Ag/6792 était négatif et l'échantillon Ag/11069 positif.

79 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

78 laboratoires ont effectué un test et un laboratoire deux tests.

Les réactifs les plus utilisés sont Binax Now Legionella Urinary Ag test (Alere Health) (78.8%) et SAS Legionella Test (SA Scientific) (8.8%).

Pour l'échantillon Ag/6792, tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

Pour l'échantillon Ag/11069, 78 laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif.

THE END