

**EXPERTISE, PRESTATIONS DE SERVICE ET RELATIONS CLIENTS
QUALITE DES LABORATOIRES MEDICAUX**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

RAPPORT ANNUEL DEFINITIF

MICRO/SERO/PARA

2012

ISP-2012/Micro/Séro/Para/92

Expertise, prestations de service et relations clients
Qualité des laboratoires médicaux
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS

ISP (secrétariat) : TEL : 02/642.55.21 – FAX : 02/642.56.45
 Dr. VERNELEN K. : TEL : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
 (Coordinateur) : e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
 Dr. CHINA B. : TEL : 02/642.53.85 – FAX : 02/642.56.45
 (Remplaçant : e-mail : bernard.china@wiv-isp.be
 coordinateur d'enq.)

Experts:

Pharm. BOEL An : TEL : 053/72.47.85 – FAX : 053/72.45.88
 : e-mail : an.boel@olvz-aalst.be

Dr. CLAEYS Geert : TEL : 09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
 : e-mail : geert.claeys@ugent.be

Dr. DE BEENHOUWER Hans : TEL : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
 : e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be

Dr. DE GHELDRE Yves : TEL : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
 : e-mail : yves.degheldre@chirec.be

Dr. DEDISTE Anne : TEL : 02/535.45.42
 : e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be

Dr. DELFORGE Marie-Luce : TEL : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
 : e-mail : mdelforg@ulb.ac.be

Dr. LAGROU Katrien : TEL : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
 : e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be

Dr. MAGERMAN Koen : TEL : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
 : e-mail : koen.magerman@jessazh.be

Dr. NAESSENS Anne : TEL : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
 : e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be

Dr. PADALKO Elizaveta : TEL : 09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
 : e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be

Dr. REYNDERS Marijke : TEL : 050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
 : e-mail : marijke.reynders@azsintjan.be

Dr. VAN ESBROECK Marjan : TEL : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
 : e-mail : mvesbroeck@itg.be

Dr. VERROKEN Alexia : TEL : 02/764.67.32 – FAX : 02/764.69.33
 : e-mail : alexia.verroken@uclouvain.be

Dr. WOESTYN Sophie : TEL : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
 : e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Réunion du comité d'experts : 05/09/2013

Autorisation de diffusion de rapport: par Kris Vernelen (Coordinateur d'enquête) le 16/09/2013



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 2012 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 167 laboratoires ont participé à au moins une enquête. 4 laboratoires (2.4%) ont participé à 1 enquête, 3 laboratoires (1.8%) ont participé à 2 enquêtes et 160 (95.8%) ont participé aux 3 enquêtes. Trois laboratoires ont cessé leur activité et un s'est inscrit tardivement. Le nombre de laboratoires participants s'élevait à respectivement 166, 164 et 165 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 111 laboratoires hospitaliers, 43 laboratoires privés et 4 laboratoires de polycliniques. De plus 9 laboratoires luxembourgeois ont participé aux enquêtes.

1.1. Rapport de l'identification des cultures

1.1.1. Répartition des résultats par échantillon.

Les participants ont reçu 12 échantillons lyophilisés.

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

Pour la *Salmonella typhimurium* (selles; enquête 2012/1) et le *Campylobacter jejuni* (selles; enquête 2012/2) une identification jusqu'au niveau du genre était suffisante.

Le "*Streptococcus mitis*" de la conjonctivite de la 2^e enquête a été envoyé à des fins didactiques: le germe était sensible à l'optochine; les résultats ont d'ailleurs démontré que seuls 27% des laboratoires l'ont identifié comme *S. mitis*/*S. oralis*; la grande majorité des laboratoires l'ont identifié comme *S. pneumoniae*. Cet échantillon a été envoyé comme didactique.

En plus nous avons envoyé 1 frottis d'une hémoculture pour coloration de Gram: bacilles gram-négatifs + coques gram-positifs (M/11677)

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

Germe	% d'identifications acceptables
<i>Staphylococcus aureus</i> (hémoculture)	99.4
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (expectoration)	98.8
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100
<i>Salmonella typhimurium</i> (selles)	98.2
<i>Aerococcus urinae</i> (urine)	93.8
<i>Enterococcus faecium</i> (hémoculture)	96.9
<i>Campylobacter jejuni</i> (selles)	95.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (écouvillon rectal)	99.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (aspiration bronchique)	99.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (urine)	97.5
<i>Propionibacterium acnes</i> (révision prothèse d'épaule)	90.8

55.3% laboratoires ont fourni la réponse correcte pour le frottis M/11677, 1.9% ont répondu la présence de bacilles gram-négatifs + coques gram-positifs en combinaison avec d'autres germes; 26.7% n'ont retrouvé que les coques gram-positifs et 1.2% uniquement les bacilles gram-négatifs; 6.2 % ont retrouvé des coques gram-positifs + d'autres germes que les bacilles gram-négatifs; 3.1% les bacilles gram-négatifs + d'autres germes que les coques gram-positifs. 5.6% uniquement d'autres germes.

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

Chaque laboratoire a dû réaliser 11 identifications. 130 (77.8%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 37 (22.2%) 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 = 167)
0	130 (77.8%)
1	31 (18.6%)
2	4 (2.4%)
3	1 (0.6%)
4	1 (0.6%)

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 = 167)
0	129 (77.2%)
1	30 (18.0%)
2	4 (2.4%)
3	1 (0.6%)
4	1 (0.6%)
5	1 (0.6%)
8	1 (0.6%)

1.2. Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 7 germes, *Staphylococcus aureus* M/5467, *Streptococcus pneumoniae* M/11283, *Escherichia coli* M/11407, *Streptococcus mitis* M/11417, *Enterococcus faecium* M/11681, *Klebsiella pneumoniae* M/11719, M/11720 et M/11721 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

1.2.1. *Staphylococcus aureus* M/5467

Ce germe était caractérisé par la présence d'une résistance MLS_B inductible, qui a été mentionnée explicitement par 35 laboratoires ; mais la majorité des laboratoires l'ont clairement constatée, comme prouvé par les résultats de la clindamycine

Tableau 1.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/5467 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline	S	154	140 ¹	-	13	1 ²
Oxacilline	S	145	145	-	-	-
Céfoxitine	S	119	119	-	-	-
Clindamycine	R	162	15 ³	6 ⁴	141	-
Clarithromycine ⁵	R	2	-	-	2	-
Erythromycine	R	162	1	-	161	-
Vancomycine	S	155	146	1	2 ⁶	5 ⁷
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	51	51	-	-	-
Lévofloxacine	S	77	77	-	-	-
Moxifloxacine	S	37	37	-	-	-
Norfloxacine	S	4	4	-	-	-
Ofloxacine	S	10	10	-	-	-
Quinolone ⁸	S	3	3	-	-	-

¹ Un laboratoire a fourni la remarque: « EUCAST serait plus vite à répondre Pénicilline G S en cas de doute. Vu la gravité du cas, on ne conseillerait pas l'utilisation de la pénicilline G »

² Un laboratoire a bien répondu le résultat quantitatif (MIC ≤ 0.06 mg/L, obtenu avec l'appareil Phoenix) et le résultat brut (« S ») mais a laissé ouvert le résultat final.

³ Trois laboratoires ont accompagné cette réponse de la remarque qu'il existe une résistance MLS_B inductible.

⁴ Un laboratoire a accompagné cette réponse de la remarque qu'il existe une résistance MLS_B inductible et que le traitement est déconseillé pour les infections sévères.

⁵ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu qu'à l'érythromycine.

⁶ Un de ces deux laboratoires a obtenu ce résultat avec la diffusion en disque et a mentionné qu'une confirmation par CMI est nécessaire.

⁷ Cinq laboratoires qui n'ont effectué que la diffusion en disque, ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

⁸ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

1.2.2. *Streptococcus pneumoniae* M/11283

Ce germe était caractérisé par un profil de résistance spécifique, qui pouvait être lié à l'utilisation multiple d'antibiotiques par le patient et ce sans contrôle médical.

La résistance aux macrolides et la sensibilité aux fluoroquinolones ont été rapportées correctement par la majorité des laboratoires.

L'évaluation de résultats de la benzylpénicilline est cependant plus complexe. Les valeurs de CMI mesurées sont relativement bonnes, mais l'interprétation de ces résultats (tableau 1.2.3.) est beaucoup moins concordante, ce qui est sans doute dû au paradoxe (connu depuis des années) entre les valeurs de CMI mesurées pour les pneumocoques, basées sur les distributions des CMI, et les résultats cliniques obtenus lors du traitement aux infections par pneumocoques. Ceci a mené aux soi-disant breakpoints PK/PD, qui sont de plus en plus utilisés ces dernières années aussi bien dans les normes de la CLSI que dans celles de l'EUCAST (tableau 1.2.2).

Cette souche a été isolée de l'expectoration d'un patient souffrant de BPCO. Il faut donc utiliser les critères « non-méningite » dans l'interprétation des valeurs de CMI obtenues. Le tableau 1.2.2 ci-dessous reprend les directives de 2012 de la CLSI et de l'EUCAST. Les concentrations de breakpoints pour les « méningites » n'ont pas changé. Il semble utile de reprendre les commentaires, mentionnés par la CLSI ou l'EUCAST, à côté du résultat.

Norme		S	I	R	Commentaires
CLSI 2012	méningite	≤ 0.06		≥ 0.12	A
	non méningite	≤ 2	4	≥ 8	B
	orale (pénicilline V)	≤ 0.06	0.12 - 1	≥ 2	
EUCAST 2012	méningite	≤ 0.06		≥ 0.12	
	non méningite	≤ 0.06	0.12 - 2	≥ 4	C

Commentaires concernant le tableau 2

- A. Au moins 3 millions unités internationales toutes les quatre heures pour un adulte avec une fonction rénale normale (2).
- B. Au moins 2 millions unités internationales toutes les quatre heures pour un adulte avec une fonction rénale normale (12 million UI par 24 h) pour les souches avec une CMI ≤ 2 mg/L. Pour les souches avec une CMI de 4 mg/L 18 à 24 million UI par 24 h) (2).
- C. En cas de pneumonie les souches avec une CMI ≤ 0.5 mg/L nécessitent 1.2 g x 4 pénicilline-G.
En cas de pneumonie les souches avec une CMI ≤ 1 mg/L nécessitent 2.4 g x 4 ou 1.2 g x 6 pénicilline-G.
En cas de pneumonie les souches avec une CMI ≤ 2 mg/L nécessitent 2.4 g x 6 g pénicilline-G.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2012/1.

Tableau 1.2.3. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11283 (*Streptococcus pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	S/I	S/R	I	I/R	R	*
Pénicilline	S	162	26 ¹	2 ²	3 ³	33 ⁴	1 ⁵	89 ⁶	8 ⁷
Azithromycine ⁸	R	1	-	-	-	-	-	1	-
Clarithromycine ⁹	R	2	-	-	-	-	-	2	-
Erythromycine	R	160	-	-	-	-	-	160	-
Doxycycline ¹⁰		11	5	-	-	4	-	2	-
Tétracycline	R	131	13	-	-	5	-	112	1 ¹¹
Lévofloxacine	S	114	112 ¹²	-	-	1	-	1	-
Moxifloxacine	S	125	124	-	-	-	-	1	-

- ¹ Trois laboratoires ont accompagné cette réponse d'une remarque:
- remarque pour le clinicien: en cas de pneumonie cette souche peut encore être considérée comme sensible pour une dose de pénicilline de 6 x 2.4 g/j
 - les breakpoints de la pénicilline (E-test) dépendent du dosage : nous avons utilisé le breakpoint pour un dosage de 2,4g x 4 ou 1,2 x6
 - interprétation pour la pénicilline parentérale
- ² Ces deux laboratoires ont accompagné cette réponse d'une remarque:
- en cas d'utilisation de pénicilline à une dose de 2.4gx6: isolat avec CMI ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ = sensible
 - I si traitement orale, S si traitement parentérale
- ³ Ces trois laboratoires ont accompagné cette réponse d'une remarque:
- deux laboratoires: R si traitement orale, S si traitement parentérale
 - un laboratoire: R si méningite, S si non-méningite
- ⁴ Deux laboratoires ont accompagné cette réponse d'une remarque:
- en cas de pneumonie une CMI ≤ 2 peut être considéré comme sensible pour un dosage de 2.4g x 6
 - Souche sensible à la pénicilline à haute dose en cas de pneumonie
- ⁵ Ce laboratoire a accompagné cette réponse de la remarque: R si traitement orale, I si traitement parentérale
- ⁶ Trois laboratoires ont accompagné cette réponse d'une remarque:
- E-test nécessaire (le labo n'a effectué que la diffusion en disque)
 - résistant à hautes doses de pénicilline (CMI pénicilline = 2 mg/l; CMI céfotaxime = 0.75 mg/l) si méningite: associer à la céfotaxime (300 mg/kg/jour) ou à la ceftriaxone (100 mg/kg/jour) la vancomycine (60 mg/kg/jour)
 - nous avons pris les breakpoints de la pénicilline V orale vu les informations cliniques
- ⁷ Quatre laboratoires, qui n'effectuent que la diffusion en disque, ont mentionné que la détermination d'une CMI est nécessaire. Quatre autres laboratoires ont donné une remarque:
- CMI pénicilline = 2 mg/L. Si la pénicilline est administrée en parentérale la souche est sensible; si la pénicilline est administrée par voie orale la souche est résistante
 - Pour une pneumonie CMI ≤ 2 mg/L = S si on utilise la pénicilline à haute dose. Pour une méningite CMI 0,06 = R
 - En fonction de la dose = pneumonie 2,7gx 4 ou 1, 2 x 6 isolats avec CMI ≤ 1 : S
 - oxa 1 R \rightarrow CMI amoxicilline 4 $\mu\text{g/ml}$ \rightarrow souche à sensibilité diminuée : traiter à haute dose
- ⁸ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'azithromycine au lieu qu'à l'érythromycine.
- ⁹ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu qu'à l'érythromycine.
- ¹⁰ Onze laboratoires ont déterminé la sensibilité à la doxycycline au lieu qu'à la tétracycline
- ¹¹ Un laboratoire a donné la réponse: « Discordance pour la tétracycline entre Vitek2 (« R ») et diffusion en disque (« S »): envoyer au laboratoire de référence si nécessaire ».
- ¹² Un laboratoire a indiqué la remarque: « Rosco recommande d'émettre une réserve "souche avec risque de mutation et de résistance aux FQ" pour les souches S ($\varnothing \geq 18$ mm) mais dont le \varnothing est < 20 mm. »

1.2.3. *Escherichia coli* M/11407

Ce germe était caractérisé par la présence d'une résistance isolée à la fosfomycine, qui a été retrouvée par la plupart des laboratoires.

Le commentaire concernant l'enquête a discuté plus amplement les indications et les tests de sensibilité pour la fosfomycine.

La fosfomycine possède une bonne activité vis-à-vis des agents les plus fréquemment isolés des infections des voies urinaires inférieures (*E. coli*). En cas d'échec du traitement, il peut être nécessaire d'effectuer une culture d'urine. **La fosfomycine peut être une option utile pour le traitement d'infections à entérobactéries multirésistantes.**

Le tableau 1.2.4. donne un aperçu clair des critères selon les différentes organisations.

Tableau 1.2.4.: Critères pour tester la fosfomycine							
Norme	Charge du disque	Diamètre de la zone (mm)			Breakpoint de la CMI (mg/L)		
		S	I	R	S	I	R
CLSI 2012	200 µg *	≥ 16	13 – 15	≤ 12	≤ 64	128	≥ 256
SFM 2011	50 µg *	≥ 14		< 14	≤ 32		> 32
EUCAST					≤ 32		> 32

* + 50 µg glucose-6-phosphate

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2012/1.

Tableau 1.2.5. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11407 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Amoxicilline ¹	S	2	2	-	-	-
Ampicilline	S	160	152	4	3 ²	1 ³
Amoxicilline-acide clavulanique	S	163	161	-	1	1 ⁴
Céfuroxime	S	158	146 ⁵	6	5	1 ⁶
Fosfomycine	R	120	3 ⁷	5	112 ⁸	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	122	113 ⁹	9 ¹⁰	-	-
Lévofloxacine	S	12	12	-	-	-
Acide nalidixique	S	7	7	-	-	-
Norfloxacine		41	17	2	22	-
Ofloxacine	S	2	1	-	1	-
Quinolone ¹¹	S	3	2	-	1	-

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

² Un laboratoire a donné la remarque: « étant donné que l'ampicilline est S et l'amoxicilline-acide clavulanique et la céfuroxime sont R nous répondrions en clinique R »

³ Un laboratoire a bien répondu le résultat quantitatif (≤2 mg/L, Vitek 2) mais pas son interprétation.

⁴ Un laboratoire a bien répondu le résultat quantitatif (4 mg/L, Vitek 2) mais pas son interprétation.

⁵ Deux laboratoires ont donné la remarque que cette interprétation est valide en cas d'un dosage de 3 x 1.5 mg.

⁶ Un laboratoire a bien répondu le résultat quantitatif (4 mg/L, Vitek 2) mais pas son interprétation.

⁷ Un laboratoire a donné la remarque: « présence de colonies dans la zone d'inhibition: ne doit pas être prise en compte selon la SFM »

⁸ Un laboratoire a donné la remarque: « expertisé R car présence de mutants résistants »

⁹ Un laboratoire a donné la remarque: « Souche de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine »

¹⁰ Un laboratoire a donné la remarque: « S→I sur base de la résistance à la norfloxacine »

¹¹ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

1.2.4. *Streptococcus mitis* M/11417

Même si cette souche a été envoyée à des fins didactiques (cfr. chapitre 1.1), nous avons quand-même demandé un antibiogramme étant donné son profil de résistance (sensible aux β -lactamines et résistante aux macrolides, à la clindamycine, à la tétracycline et aux fluoroquinolones).

Comme également mentionné dans le chapitre 1.1., la singularité de cette souche a eu pour conséquence que beaucoup de laboratoires l'ont identifiée comme *S. pneumoniae*.

Le commentaire a souligné que d'un côté il n'est pas toujours possible d'obtenir des identifications correctes avec les techniques automatisées et moléculaires et que d'un autre côté ces identifications sont importantes d'un point de vue clinique, les laboratoires cliniques sont obligés d'effectuer une série de tests phénotypiques classiques afin d'identifier avec plus de fiabilité ces streptocoques a-hémolytiques. L'identification de routine de *S. pneumoniae* est basée sur la sensibilité à l'optochine (éthylhydrocupréine HCl) (après incubation sous 5% CO₂) et le test de solubilité en bile. Ces 2 méthodes ont été amplement décrites dans le rapport global 2012/2.

Le commentaire a également mentionné qu'il est pertinent d'utiliser les critères appropriés pour l'antibiogramme, sur base de l'identification. Aussi bien le CLSI que l'EUCAST utilisent des critères plus ou moins différents pour *S. pneumoniae* et pour les streptocoques viridans. Le disque d'oxacilline d'1 μ g ne peut par exemple pas être utilisé pour les streptocoques viridans selon le CLSI; une méthode de détermination de la CMI s'impose. Un tableau qui reprend pour quelques antibiotiques importants les critères de la diffusion sur disque a été publié dans le rapport global 2012/2.

Vu ces critères différents, nous reprenons ci-dessous les antibiogrammes des labos qui ont répondu *S. mitis*/*S. oralis*/*S. viridans*/...et les antibiogrammes de ceux qui ont répondu *S. pneumoniae*, dans des tableaux séparés.

Tableau 1.2.6.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11417 (*Streptococcus mitis*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline	S	47	25	17	2	3 ¹
Erythromycine	R	43	-	-	41	2 ²
Clarithromycine ³	R	1	-	-	1	-
Tétracycline	R	31	-	-	30	1 ⁴
Doxycycline ⁵		2	1	1	-	-
Céfotaxime	S	32	28	-	3	1 ⁶
Ceftriaxone ⁷	S	5	5	-	-	-
Clindamycine	R	42	-	-	41	1 ⁸
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	4	-	-	4	-
Lévofloxacine	R	17	-	-	16	1 ⁹
Moxifloxacine	R	15	-	-	14	1 ¹⁰
Norfloxacine	R	1	-	-	1	-
Ofloxacine	R	3	-	-	3	-
Quinolone ¹¹	R	1	-	-	1	-

¹ Un labo, qui n'a effectué que la diffusion sur disque, a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire. Un labo qui a obtenu une CMI de 0.19 mg/L, a répondu « Le résultat se situe entre les catégories S : \leq 0.12 et I: 0.25 - 2.0. Pas d'interprétation: l'échantillon serait envoyé en routine au centre de référence. » Un troisième labo a donné la réponse: « Groupe *S. mitis*: l'AB n'est pas rapporté ».

- ² Un labo a bien donné le résultat de la détermination de la CMI obtenu avec le Phoenix (>0.5 mg/L) mais pas l'interprétation. Un deuxième labo a donné la réponse: « Groupe S. mitis: l'AB n'est pas rapporté ».
- ³ Un laboratoire a testé la sensibilité pour la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.
- ⁴ Un labo a bien donné le résultat de la détermination de la CMI obtenu avec le Phoenix (>4 mg/L) mais pas l'interprétation.
- ⁵ Deux laboratoires ont testé la sensibilité pour la doxycycline au lieu de la tétracycline.
- ⁶ Un labo a bien donné le résultat de la détermination de la CMI obtenu avec le test MICE (0.25 mg/L) mais pas l'interprétation.
- ⁷ Un certain nombre de laboratoires ont testé la sensibilité pour la ceftriaxone au lieu de la céfotaxime.
- ⁸ Un labo a donné la réponse: « Groupe S. mitis: l'AB n'est pas rapporté ».
- ⁹ Un labo a bien donné le résultat de la détermination de la CMI obtenu avec le Phoenix (>4 mg/L) mais pas l'interprétation.
- ¹⁰ Un labo a mentionné que pour les directives de l'EUCAST 2011 (« other streptococci ») il n'existe pas de diamètre ou breakpoints pour cet antibiotique.
- ¹¹ Un laboratoire n'a pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Tableau 1.2.7. Aperçu global des résultats de l'antibiogramme obtenus par les laboratoires qui ont répondu *Streptococcus pneumoniae* pour l'échantillon M/11417.

Antibiotique	Total	S	S/I	S/R	I	R	*
Pénicilline	107	51 ¹	4 ²	1 ³	38 ⁴	9	4 ⁵
Amoxicilline	3	2	-	-	-	1	-
Ampicilline	2	1	-	-	-	1	-
Erythromycine	108	-	-	-	1	107	-
Clarithromycine	2	-	-	-	-	2	-
Tétracycline	89	4	-	-	3	82	-
Doxycycline	6	1	-	-	1	4	-
Minocycline	1	-	-	-	-	1	-
Céfotaxime	87	75 ⁶	-	-	9	-	3 ⁷
Ceftriaxone	6	6	-	-	-	-	-
Céfoxitine	1	1	-	-	-	-	-
Clindamycine	87	-	-	-	-	87	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	17	-	-	-	-	17	-
Lévofloxacine	46	1	-	-	1	43	1 ⁸
Moxifloxacine	40	1	-	-	-	39	-
Norfloxacine	4	-	-	-	-	4	-
Ofloxacine	8	1	-	-	1	6	-
Quinolone	2	-	-	-	-	2	-

- ¹ Un laboratoire, qui n'a effectué que la diffusion sur disque, a donné la remarque: « L'échantillon serait envoyé au laboratoire fusionné pour effectuer la détermination de la CMI de la pénicilline et la céfotaxime. Le résultat est connu le jour même: → la détermination de la CMI donnera le résultat de la pénicilline ».
- ² Ces 4 laboratoires ont donné la remarque que la souche est sensible en cas d'administration parentérale et intermédiaire en cas d'administration orale.
- ³ Ce laboratoire a donné la remarque « non-méningite: S; méningite: R ».
- ⁴ Un laboratoire a donné la remarque que la souche est intermédiaire et qu'en cas de prélèvement d'une LCR, il faut administrer la pénicilline en hautes doses.
- ⁵ Ces 4 laboratoires qui n'ont effectué que la diffusion sur disque ont donné la remarque que la détermination de la CMI est nécessaire.
- ⁶ Un laboratoire a donné la remarque : « Sensible car prélèvement oculaire. Si LCR → faire CMI ».
- ⁷ Ces 3 laboratoires qui n'ont effectué que la diffusion sur disque ont donné la remarque que la détermination de la CMI est nécessaire.
- ⁸ Un labo, qui n'a effectué que la diffusion sur disque a bien mentionné le diamètre (9 mm.) et le résultat brut (« R ») mais pas l'interprétation finale.

1.2.5. *Enterococcus faecium* M/11681

La particularité de cette souche était une sensibilité à l'ampicilline mais une résistance au triméthoprimé-sulfaméthoxazole et les quinolones.

De façon générale, les laboratoires n'ont pas rencontré de grands problèmes.

Le commentaire concernant l'enquête a décrit le pouvoir pathogène, l'épidémiologie et la sensibilité aux antibiotiques des entérocoques.

E. faecalis et *E. faecium* présentent une **résistance naturelle** intrinsèque aux **b-lactamines** par la présence d'une PLP5 (protéine de liaison à la pénicilline) de faible affinité pour les pénicillines. Cette PLP5 entraîne une résistance de haut niveau à l'oxacilline, aux céphalosporines et aux monobactames. Une **résistance acquise** aux b-lactamines **chez l'*E. faecalis* est exceptionnelle** et due soit à une modification de la PLP5 soit à une production de pénicillinase (pas encore observé en Europe). Par contre, **une résistance acquise croisée pour toutes les b-lactamines est fréquemment observée pour l'*E. faecium***. Une résistance de niveau intermédiaire est générée par une augmentation quantitative de la PLP5 alors qu'une résistance de haut niveau est générée par une modification structurelle de la PLP5.

La réalisation d'un **antibiogramme pour l'entérocoque en routine doit toujours inclure l'ampicilline**. Le résultat du test de sensibilité à l'ampicilline permettra de déterminer la sensibilité à l'ampicilline, l'amoxycilline et la pipéracilline avec ou sans inhibiteurs. Par ailleurs un *E. faecium* **résistant à l'ampicilline** peut être considéré **résistant à toutes les b-lactamines** y compris l'imipénème mais l'inverse n'est pas correct. Un *E. faecium* sensible à l'ampicilline ne peut pas être interprété comme sensible à l'imipénème qui est naturellement moins active sur cette souche.

Finalement un entérocoque sensible à l'ampicilline, ne peut pas être interprété comme sensible à la pénicilline. En cas d'infection sévère à entérocoque (e.g. endocardites), la détermination de la CMI de la pénicilline/ampicilline est préconisée. L'EUCAST ne donne pas de valeurs pour la CMI pénicilline et renvoie aux guidelines nationaux et internationaux de prise en charge de l'endocardite. Les recommandations de la BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) préconisent une CMI pour la pénicilline ≤ 4 mg/L alors que les recommandations de l'ESC (European Society of Cardiology) préconisent une CMI pour la pénicilline ≤ 8 mg/L.

Les entérocoques sont **naturellement résistants** à de **basses concentrations d'aminosides** suite à une faible perméabilité de la paroi à ces antibiotiques. Cette résistance **ne contre-indique pas** leur emploi **en traitement combiné avec une b-lactamine** qui facilitera leur entrée cellulaire. Un point particulier est à soulever pour l'*E. faecium* qui produit naturellement une enzyme modificateur de l'amikacine, la kanamycine, la tobramycine et la nétilmicine abolissant dès lors toute synergie de ces aminoglycosides avec les b-lactamines. Les entérocoques peuvent également présenter des **résistances acquises de haut niveau** aux aminoglycosides. Un **traitement combinant un aminoglycoside résistant avec une b-lactamine** pour les infections sévères **n'aura alors plus d'efficacité**. Cette enzyme ne touche pas la gentamicine, aminoglycoside privilégié dans le traitement par bithérapie des endocardites à entérocoques.

En Europe nous sommes confrontés à une émergence d'entérocoques **résistants aux glycopeptides (VRE)** ce qui pose un problème d'ordre thérapeutique mais également d'ordre épidémique. La résistance acquise conférée par le **gène *vanA*** se retrouve principalement chez l'*E. faecium* et entraîne une résistance à la **vancomycine** et à la **teicoplanine**. La résistance acquise conférée par le **gène *vanB*** se retrouve principalement chez l'*E. faecalis* et entraîne une résistance à la

vancomycine. Dans ce cadre, un traitement prolongé avec de l'amoxicilline seul ou en association avec la streptomycine (CMI à tester) est dès lors recommandé pour tout traitement d'une endocardite

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2012/2.

Tableau 1.2.8.:Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11681 (*Enterococcus faecium*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	159	159	-	-	-
Gentamicine	S	144	135	4 ¹	5	-
Vancomycine	S	159	158	-	1	-
Teicoplanine	S	127	125	-	1	1 ²

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « I »: « Résistance de bas niveau. ».

² Un labo, qui n'a effectué la diffusion sur disque a bien mentionné le diamètre (20 mm.) mais pas l'interprétation.

1.2.6. *Klebsiella pneumoniae* M/11719, M/11720 et M/11721

Ces 3 germes appartenait aux **CPE (« Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae »)**; M/11719 était porteur d'une métallo- β -lactamase VIM, M/11720 était porteur d'un KPC et M/11721 était porteur d'OXA-48.

Un grand nombre de laboratoire ont mentionné la présence ou une suspicion de la présence des carbapénémases.

La détection de la multirésistance de M/11719 et M/11720 n'a pas posé de problèmes aux laboratoires. La difficulté de l'échantillon M/11721 est clairement illustrée par le grand nombre de remarques données par les laboratoires (cfr. tableau 1.2.9.) surtout les tests de sensibilité du méropénème et dans une moindre mesure des fluoroquinolones n'étaient pas évidents.

Le commentaire concernant l'enquête a traité amplement **la définition, l'importance clinique, l'épidémiologie, les mécanismes de résistance et les méthodes recommandés pour la détection des CPE**: vous pouvez retrouver ce texte dans le **rapport global de l'enquête. Nous vous conseillons vivement de consulter ce texte** (https://www.wiv-isp.be/Clinbiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_2012.htm)

Les tableaux présentant la classification des carbapénémases acquises, les concentrations et diamètres critiques des carbapénèmes selon les recommandations de l'EUCAST et les méthodes de détection phénotypique sont repris dans ce rapport annuel comme tableaux 1.2.10, 11 et 12.

Le commentaire a également discuté les 3 souches envoyées dans l'enquête. Les trois souches de *Klebsiella pneumoniae* envoyées dans le cadre de l'EEQ 2012/3 étaient toutes les trois productrices de carbapénémases et répondaient donc à la définition de CPE (« Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae »).

La souche M/11719 produisait une métallo- β -lactamase (classe B de Ambler) de type VIM-1 (Verona Mipenemase). La souche M/11720 produisait une carbapénémase de type KPC (Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase, classe A de Ambler), tandis que la souche M/11721 était porteuse d'une carbapénémase de type OXA-48 (classe D de Ambler).

L'identification de l'espèce ne posait pas de problème pour ces souches, la quasi-totalité des participants ayant correctement identifié les trois souches comme appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae*.

Malgré la diversité des méthodes d'antibiogramme des tests complémentaires utilisés, la majorité des participants ont détecté ou suspecté la présence d'une carbapénémase (en précisant qu'ils enverraient une telle souche au laboratoire de référence pour confirmation de son identification comme une CPE). Comme demandé dans le contrôle de qualité, un certain nombre de laboratoires ont proposé de tester des antibiotiques complémentaires sur ces trois souches; les molécules les plus fréquemment suggérées ont été la colistine, la tigécycline et la gentamicine.

Les souches M/11719 et M/11720 présentaient une résistance de haut niveau aux carbapénèmes (CMI ≥ 32 mg/L) et étaient par ailleurs résistantes vis-à-vis de l'ensemble des antibiotiques testés. Un certain nombre de laboratoires ont réalisé des tests complémentaires (tests de synergie par méthodes des disques combinés en présence d'inhibiteurs spécifiques, test de Hodge modifié, CMI par E test à la témocilline,...). La souche M/11719 ne produisait pas de BLSE (elle présentait une sensibilité conservée à l'aztreonam, cet antibiotique n'étant pas hydrolysé par les métallo- β -lactamases) tandis que la souche M/11720 co-produisait une BLSE de type SHV-12. La détection de BLSE ou d'autres types de β -lactamase est difficile à mettre en évidence par les tests phénotypiques car la présence de ces β -lactamases (révélées par la synergie entre céphalosporines de troisième

génération et l'acide clavulanique) peut être masquée par la carbapénémase. Chez les CPE, la mise en évidence d'une BLSE associée peut être révélée phénotypiquement par l'utilisation de tests de synergie en présence d'inhibiteurs spécifiques de carbapénémases (p.ex : EDTA pour les métallob- β -lactamases, acide boronique pour les carbapénémases de classe A). Cependant, la détection d'une BLSE semble d'importance secondaire en présence d'une carbapénémase tant au niveau clinique qu'en matière d'hygiène hospitalière.

La souche M/11721 ne produisait qu'une seule enzyme de type OXA-48, celle-ci étant exprimée à bas niveau avec une CMI du méropénème de 0.25 mg/L et une zone d'inhibition de 22 mm (sensibilité limite). Sur la seule base des concentrations critiques pour la catégorisation clinique telle que définie par l'EUCAST, une telle souche aurait encore été déclarée sensible et il est donc important de prendre en considération les valeurs seuils de screening pour la détection des carbapénémases exprimées à bas niveau. C'est cette souche qui posait le plus de problème, plus de la moitié des laboratoires ayant rapporté la souche sensible ou intermédiaire (en résultat brut). Sur le plan de l'interprétation clinique, l'EUCAST recommande actuellement de rapporter effectivement la sensibilité aux carbapénèmes en fonction des valeurs de la CMI et de ne pas modifier les résultats sur base de la présence d'une carbapénémase. Cette recommandation reste cependant controversée car **il n'existe actuellement que très peu de données cliniques ayant montré l'efficacité thérapeutique des carbapénèmes en cas d'infection par des souches de type CPE dont la CMI reste inférieure aux concentrations critiques des seuils cliniques (et donc encore sensibles)**. En ce qui concerne le rapportage du résultat, il paraît prudent, certainement dans le cadre d'infections sévères (p.ex. : hémocultures positives) **d'ajouter un commentaire précisant que l'utilisation des carbapénèmes dans de telles situations ne peut se faire qu'après concertation entre le clinicien et le microbiologiste ou l'infectiologue.**

En cas d'infection à CPE il est important que **les laboratoires de microbiologie utilisent des méthodes quantitatives (mesures de CMI)**, permettant de mesurer avec précision et selon un protocole standard le niveau de sensibilité ou de résistance de ces souches, vis-à-vis des carbapénèmes et éventuellement d'autres classes d'antibiotiques que l'on envisage d'utiliser pour le traitement.

En cas d'utilisation thérapeutique de carbapénèmes, il paraît également fort important de contrôler la valeur de la CMI de la souche par une autre méthode (p.ex : E test ou microdilution) que celles utilisées pour l'antibiogramme de routine. En cas de discordance de résultats, c'est la méthode de référence qui doit être prise en considération (i.e: CMI par microdilution en bouillon). En Belgique, des plaques de microdilutions Sensititre sont disponibles dans le commerce (Sensititre® GNX2F panels, Trek Diagnostic Systems, Cleveland, USA).

Ici encore, un assez grand nombre de laboratoires ont soit suspecté ou reconnu la présence d'une carbapénémase et ont suggéré à juste titre qu'ils enverraient une telle souche au laboratoire de référence pour confirmation du mécanisme de résistance.

Sur toute souche suspecte reçue, le centre national de référence réalise d'abord des tests phénotypiques (confirmation de l'identification bactérienne par MALDI-TOF MS, antibiogramme élargi (16 antibiotiques) par diffusion des disques en gélose, tests d'hydrolyse des carbapénèmes par le carba NP test). En fonction des résultats préliminaires, des tests complémentaires (amplification génique par des PCR multiplexes) sont réalisés 2x par semaine les mardis et jeudis). Les résultats positifs pour CPE sont communiqués par courrier électronique, et des protocoles papiers définitifs sont édités une fois par semaine (tous les vendredis). Le turn

around time maximum de réponse du CNR des BLSE/Carbapénémase était de 10 jours et ne dépassait pas 7 jours dans plus de 90% des cas.

Afin d'accélérer le processus de réponse, le centre national de référence demande instamment aux laboratoires extérieures d'envoyer des cultures fraîches sur milieu gélosé plutôt qu'en tube profond (car dans ce cas, nécessité de procéder à un repiquage sur gélose qui diffère la réalisation des tests de 24 h).

Les tableaux suivants reprenant les résultats de l'enquête ont été publiés dans le rapport global 2012/3.

Tableau 1.2.7.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	163	-	-	163	-
Céfuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Pipéracilline-tazobactame	R	155	-	-	155	-
Méropénème	R	154	-	-	154 ³	-
Imipénème ⁴	R	5	-	-	5	-
Ertapénème ⁵	R	2	-	-	2	-
Lévofloxacine	R	92	-	-	91	1 ⁶
Ofloxacine ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacine	R	157	-	-	157	-
Amikacine	R	151	3	14	134	-
Gentamicine ⁸		3	3	-	-	-

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

² Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) pour la ceftazidime mais pas l'interprétation.

³ Un laboratoire a donné la réponse "R" mais a ajouté la remarque: "Carbapénémase +: la souche est envoyée au laboratoire de référence pour confirmation de la carbapénémase; le méropénème n'est normalement pas transmis au clinicien"

⁴ Cinq laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu de la meropénème.

⁵ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ertapénémé au lieu de la meropénème.

⁶ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥ 8 $\mu\text{g/mL}$) pour la lévofloxacine mais pas l'interprétation.

⁷ Un laboratoire a déterminé la sensibilité l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.

⁸ Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Tableau 1.2.8.:Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	163	-	-	163	-
Céfuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Pipéracilline-tazobactame	R	154	-	-	154	-
Méropénème	R	155	-	-	155 ³	-
Imipénème ⁴	R	4	-	-	4	-
Ertapénème ⁵	R	2	-	-	2	-
Lévofloxacine	R	93	-	-	92	1 ⁶
Ofloxacine ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacine	R	156	-	-	156	-
Amikacine	R	151	2	6	143	-
Gentamicine ⁸		4	4	-	-	-

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

² Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥64 µg/mL) pour la ceftazidime mais pas l'interprétation.

³ Un laboratoire a donné la réponse "R" mais a ajouté la remarque: « Carbapénémase +: la souche est envoyée au laboratoire de référence pour confirmation de la carbapénémase; le méropénème n'est normalement pas transmis au clinicien »

⁴ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu de la meropénème.

⁵ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ertapénémé au lieu de la meropénème.

⁶ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥8 µg/mL) pour la lévofloxacine mais pas l'interprétation.

⁷ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.

⁸ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Tableau 1.2.9.:Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	S/I	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	163	-	-	-	-	163	-
Céfuroxime	S	160	123 ²	1 ³	12	-	17	7 ⁴
Ceftazidime	S	160	143 ⁵	-	4	-	8	5 ⁶
Céfotaxime ⁷		1	-	-	-	-	-	1 ⁷
Méropénème	S	151	69 ⁸	-	32 ⁹	1	37 ¹⁰	12 ¹¹
Imipénème ¹²		4	3	-	1	-	-	-
Ertapénème ¹³		3	-	-	-	-	3	-
Lévofloxacine	R	74	1	-	20	-	53	-
Ofloxacine ¹⁴		1	-	-	1	-	-	-
Ciprofloxacine	R	154	-	-	23	-	131	-
Norfloxacine ¹⁵		2	-	-	-	-	2	-
Co-trimoxazole	R	160	-	-	-	-	160	-
Nitrofurantoïne	R	143	1	-	3	-	139	-
Gentamicine	S	150	146	-	2	-	2	-
Amikacine ¹⁶		4	4	-	-	-	-	-

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

² Deux laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S »:

- Suspicion de carbapénémase: si confirmé: céfuroxime et ceftazidime R

- OXA 48? Pas d'interprétation proposée (EUCAST ou CLSI 2012) pour les céphalosporines. A signaler au clinicien la présence possible (à confirmer) d'une carbapénémase et la CMI limite S du céfuroxime.

³ Un laboratoire a mentionné « S en cas d'administration IV et I cas d'administration PO »

⁴ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Phoenix (8 mg/l) mais pas l'interprétation.

Six autres laboratoires ont donné une remarque:

- deux laboratoires attendraient le résultat du centre de référence
- contacter le microbiologiste pour discussion (ne peut pas être exprimé en S, I, R)
- test de Hodge positif; témocilline R classe D? OXA-48?; cet AB n'est pas rapporté mais on contacte le médecin prescripteur
- test de Hodge & envoi pour exclusion de CPE (sensibilité au méropénème diminuée et témocilline R). Le résultat dépend de CPE
- CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénèmase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence. » Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires.

⁵ Cinq laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S »:

- deux laboratoires: « si la CPE est confirmée, il n'est pas conseillé d'utiliser la ceftazidime s'il y a également une présence de BLSE ou amp C »
- Suspicion de carbapénèmase: si confirmé: céfuroxime et ceftazidime R
- OXA 48? Pas d'interprétation proposée (EUCAST ou CLSI 2012) pour les céphalosporines. A signaler au clinicien la présence possible (à confirmer) d'une carbapénèmase et la CMI limite S du céfuroxime.
- Suspicion de carbapénèmase type OXA 48. Les résultats expertisés de ceftazidime et du méropénème dépendent de la confirmation de la présence d'une carbapénèmase de type OXA-48. Si absence :→ceftazidime et méropénème sensibles. Si présence :→ceftazidime et méropénème intermédiaire sensibles. Remarque : absence de guidelines CLSI pour l'interprétation des résultats des céphalosporines (et des carbapénèmes) en cas de présence d'une carbapénèmase de type OXA 48.

⁶ Cinq laboratoires ont donné une remarque:

- Carbapénèmase?: souche envoyée au laboratoire de référence pour détermination des carbapénèmes →suspicion CMI méropénème ≥ 1 ; le méropénème n'est normalement pas répondu au généraliste: dans ce cas-ci nous l'avons repris à cause de la carbapénèmase. La ceftazidime non plus (nous avons mentionné les CMI pour les statistiques)
- contacter le microbiologiste pour discussion (ne peut pas être exprimé en S, I, R)
- test de Hodge positif; témocilline R classe D? OXA-48?; cet AB n'est pas rapporté mais on contacte le médecin prescripteur
- test de Hodge & envoi pour exclusion de CPE (sensibilité au méropénème diminuée et témocilline R). Le résultat dépend de CPE
- CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénèmase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence. » Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires.

⁷ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la céfotaxime au lieu de la ceftazidime et attendrait le résultat du centre de référence.

⁸ Quatre laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S »:

- CPE classe D; CLSI 2009: méropénème 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$:→S; CLSI 2012: méropénème 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$:→R
- Vitek AES: suspicion de carbapénèmase: →diffusion sur disque: ertapénème: $\varnothing 19$; méropénème: $\varnothing 22$: →souche à envoyer au labo de référence
- CPE classe D; méropénème CMI = 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$: CLSI 2009 = S; CLSI 2012 = R; le software de notre vitek utilise encore le CLSI 2009
- Ne sera pas répondu: le résultat dépend du centre de référence. Conseil d'EUCAST: toutes les souches avec une CMI pour méropénème ≥ 1 mg/L et une zone $\varnothing \leq 23$ mm sont envoyées pour exclure une carbapénèmase

⁹ Un laboratoire a ajouté une remarque à sa réponse « I »: « La PCR pour OXA-48 était positive: nous ajoutons une remarque pour la méropénème au rapport: Cette souche produit une carbapénèmase ce qui a été confirmée par techniques moléculaires. On ne peut considérer un traitement avec le méropénème qu'après consultation de l'infectiologue ou du microbiologiste. Si le traitement avec le méropénème est nécessaire, il faut utiliser une dose élevée (6 g/jour). »

¹⁰ Cinq laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « R »:

- deux laboratoires: « Le Vitek 2 mesure la CMI de méropénème à 0,5 puis augmente celle-ci de 3 à 4 fois. Nous interprétons le méropénème en R (si la carbapénèmase est confirmée) et nous communiquons la CMI aux cliniciens. »
- résultat rapporté du méropénème = R en attente des résultats du labo de référence (carbapénèmase?)
- l'E-test montre des petites colonies qui ont poussé dans la zone au-dessus de 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ = R
- si confirmé carbapénèmase KPE +

¹¹ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2(4 mg/l) mais pas l'interprétation.

Onze autres laboratoires ont donné une remarque:

- deux laboratoires ont mentionné le diamètre obtenu avec les disques en papier (22 mm) ou Neosensitabs (23 mm) mais ont indiqué qu'ils enverraient l'échantillon pour détermination de la sensibilité au méropénème
- Carbapénémase?: souche envoyée au laboratoire de référence pour détermination des carbapénèmes →suspicion CMI méropénème ≥ 1 ; le méropénème n'est normalement pas répondu au généraliste: dans ce cas-ci nous l'avons repris à cause de la carbapénémase. La ceftazidime non plus (nous avons mentionné les CMI pour les statistiques)
- suspicion de CPE, type OXA
- Méropénème: le système expert averti de la possibilité d'une CPE. Toutes les entérobactéries avec une CMI pour méropénème ≥ 1 sont envoyées au centre de référence. Ceci est mentionné dans la réponse au clinicien : « possibilité de souche CPE, envoyée au centre de référence ». Selon les dernières directives de la CLSI une CMI pour le méropénème = 4 est R, selon l'EUCAST c'est I. Les directives CLSI du Vitek sont basées sur la CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new pour carbapénémase screen (2009): méropénème 23 (≤ 22), imipénème 21 (≤ 22), ertapénème 17 (≤ 22): conclusion le méropénème seul ne détecte pas une CPE éventuelle. Directives 2011 méropénème screen (≤ 23):→elle serait retrouvée.
- contacter le microbiologiste pour discussion (ne peut pas être exprimé en S, I, R)
- test de Hodge positif; témocilline R classe D? OXA-48?; cet AB n'est pas rapporté mais on contacte le médecin prescripteur
- test de Hodge & envoi pour exclusion de CPE (sensibilité au méropénème diminuée et témocilline R). Le résultat dépend de CPE
- CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénémase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence." Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R kan équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires. »
- dépistage breakpoint $\geq 0,5$; zone ≤ 23 mm: CPE à confirmer par PCR
- Suspicion de carbapénémase type OXA 48. Les résultats expertisés de ceftazidime et du méropénème dépendent de la confirmation de la présence d'une carbapénémase de type OXA-48. Si absence :→ceftazidime et méropénème sensibles. Si présence :→ceftazidime et méropénème intermédiaire sensibles. Remarque : absence de guidelines CLSI pour l'interprétation des résultats des céphalosporines (et des carbapénèmes) en cas de présence d'une carbapénémase de type OXA 48.

¹² Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu de la meropénème.

¹³ Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ertapénème et au meropénème.

¹⁴ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.

¹⁵ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la norfloxacine au lieu de la lévofloxacine et la ciprofloxacine et un labo au lieu de la ciprofloxacine.

¹⁶ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Table 1.2.10. Classification des carbapénémases acquises à médiation plasmidique et distribution dans les genres/espèces de bactéries à gram-négatif.

Classe moléculaire (Ambler)	Carbapénémases	Entérobactéries	Non-fermentants
A (non-métallo)	KPC IMI, NMC, SME	+++ +	+ -
B (métallo)	IMP, VIM NDM AIM, DIM, SIM, SPM, TMB	+++ +++ -	+++ ++ +
D (non-métallo)	OXA-48, -181 OXA-23, -40, -58, -143	+++ +/-	- +++

Table 1.2.11. Concentrations et diamètres critiques des carbapénèmes selon les recommandations de l'EUCAST (Version 3.0, 1/1/2013) et valeurs seuils de screening pour la détection d'Entérobactéries productrices de carbapénémase (CPE).

Carbapénèmes	CMI (mg/L)		Diffusion des disques en gélose (diamètre d'inhibition en mm)	
	Breakpoint S/I	Screening cut-off	Breakpoint S/I	Screening cut-off
Meropenem ¹	≤2	>0.125	≥22	<25 ²
Imipenem	≤2	>1	≥22	<23
Ertapenem ³	≤0.5	>0.125	≥25	<25

¹ Meilleur compromis entre sensibilité et spécificité.

²Dans l'expérience belge, un nombre substantiel d'isolats producteurs de carbapénémases OXA-48 ont une zone d'inhibition au méropénème supérieur au diamètre seuil de screening actuellement recommandé par l'EUCAST (Zone de 24-26 mm) ; En cas d'épidémie avérée à CPE producteur de carbapénémase OXA-48, il est recommandé d'utiliser un seuil de screening pour toute zone au méropénème <27 mm, bien que ceci puisse entraîner une diminution de la spécificité du test.

³Sensibilité élevée mais spécificité faible (en particulier chez *Enterobacter* spp) ; l'utilisation de l'ertapénème seul (sans le méropénème) n'est pas recommandée; en cas d'épidémie avérée, l'utilisation de l'ertapénème en screening peut par contre s'avérer très intéressante grâce à sa sensibilité élevée de détection de CPE (en particulier OXA-48 et KPC).

Il est à noter que les galeries d'antibiogramme des systèmes automatisés contiennent des gammes de concentrations de carbapénèmes (ertapénème et méropénème) qui sont trop élevées (concentration la plus basse généralement = à 1 mg/L) ce qui n'autorise malheureusement pas leur usage pour le screening des CPE.

Table 1.2.12. Méthodes de détection phénotypique par synergie avec différents inhibiteurs de carbapénémases

β-lactamase	Synergie en présence de disques de meropenem (10-µg) combinés avec différents inhibiteurs			Temocilline (MIC >128 mg/L)
	DPA/EDTA	Ac. Boronique (APBA)	CLOX	
MBL	≥5	-	-	+
KPC	-	≥4	-	V
OXA-48-like¹	-	-	-	+
AmpC + porin loss	-	≥4	≥5	V
ESBL + porin loss	-	-	-	-

MBL=metallo-β-lactamase, KPC=*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, DPA= acide dipicolinique, EDTA=ethylenediaminetetraacetic acid, APBA= Acide aminophenyl boronique, CLOX= cloxacilline.

¹ Il est recommandé de tester la témocilline dans les cas où aucune synergie n'est détectée en présence d'inhibiteurs spécifiques, afin de différencier les souches BLSE plus perte de porines et les OXA-48.

II. PARASITOLOGIE

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

2.1. Enquête 1

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang (P/9684 et P/11464) ont été envoyés. Cependant les laboratoires avec numéro d'agrément pair et impair ont reçu un échantillon différent sous le même numéro (P/11464). 172 laboratoires ont participé à l'enquête.

Les frottis étaient relativement anciens, ce qui peut expliquer pourquoi un certain nombre de laboratoires ont eu des difficultés à obtenir une coloration optimale.

L'échantillon P/9684 contenait des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*.

Plasmodium falciparum (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 170 (98.8%) laboratoires. Les gamétocytes ont été retrouvés par 168 (97.7%) d'entre eux.

L'échantillon P/ 11464 (laboratoires pairs) contenait des trophozoïtes de *Plasmodium ovale*.

Cet échantillon avait déjà été envoyé lors de l'EEQ 2007/3 sous le numéro P/7870. La réponse Plasmodium non-falciparum a également été considérée comme correcte.

Plasmodium ovale (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 18/101 (17.8%) laboratoires. 27 (26.7%) laboratoires ont répondu Plasmodium non-falciparum et 28 (27.7%) Plasmodium species.

20 (19.8%) laboratoires ont donné la réponse *Plasmodium falciparum*.

Tous les laboratoires ayant répondu *Plasmodium ovale*, ont retrouvé les trophozoïtes.

L'échantillon P/ 11464 (laboratoires impairs) contenait des trophozoïtes de *Plasmodium ovale*.

Cet échantillon avait déjà été envoyé lors de l'EEQ 2010/2 sous le numéro P/9405. La réponse Plasmodium non-falciparum a également été considérée comme correcte.

Plasmodium ovale (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 29/71 (40.8%) laboratoires. 24 (33.8%) laboratoires ont répondu Plasmodium non-falciparum et 13 (18.3%) Plasmodium species.

3 (4.2%) laboratoires ont donné la réponse *Plasmodium falciparum*.

26 (89.7%) laboratoires ayant répondu *Plasmodium ovale*, ont retrouvé les trophozoïtes.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné que les « **erreurs majeures** » sont i) de **ne pas trouver un *P. falciparum* ou de le répondre erronément** et ii) de **répondre un *Plasmodium species* sans s'être exprimé sur la présence ou absence d'un *P. falciparum***. La raison pour laquelle cette dernière réponse est considérée comme faute grave est la différence du traitement d'une infection par *P. falciparum*.

Un grand nombre de laboratoires enverraient l'échantillon **en routine au centre de référence de l'IMT** pour (la confirmation de) l'identification. Le centre de référence encourage les laboratoires à le faire. En plus d'**une goutte épaisse** et d'**un frottis de bonne qualité**, fait de sang frais et de préférence non-coloré, le centre de référence demande également **1 ml de sang EDTA** afin de pouvoir effectuer des tests d'antigène et une PCR. Les résultats de l'examen microscopique des échantillons qui arrivent au laboratoire avant 16h15, sont transmis le jour même au laboratoire qui a envoyé les échantillons.

Malgré la remarque selon laquelle l'échantillon serait envoyé en routine au laboratoire de référence pour l'identification jusqu'au niveau de l'espèce, la réponse 'Plasmodium species' n'est pas considérée comme correcte. La raison en est que la confirmation des échantillons qui n'arrivent pas à temps au laboratoire de référence, pourrait encourir un délai avec des conséquences cliniques importantes. Nous encourageons les laboratoires à compléter le diagnostic microscopique du paludisme par une méthode de détection d'antigène pour augmenter la possibilité d'une différenciation correcte entre *P. falciparum* et les autres espèces dans l'attente d'une identification définitive ou d'une confirmation de l'identification par le laboratoire de référence.

2.2. Enquête 2

Deux suspensions de selles formolées, P/11653 et P/11751, ont été envoyés.

157 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/11653 contenait des kystes de *Giardia lamblia* et d'*Entamoeba histolytica* (et dans une moindre mesure des kystes de *Blastocystis hominis*)

Giardia lamblia (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 156 (99.4%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 153 (98.1%) d'entre eux.

Entamoeba histolytica/dispar, *histolytica* ou *dispar* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 80 (51.0%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 79 (98.8%) d'entre eux.

23 laboratoires ont répondu une autre espèce d'*Entamoeba* qu'*E. histolytica/dispar* et sept laboratoires ont mentionné "*Entamoeba species*".

Blastocystis hominis (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 37 (23.6%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 31 (83.8%) d'entre eux.

Cet échantillon a déjà été envoyé dans les enquêtes 2006/1 (sous le numéro P/6231) et 2007/1 (sous le numéro P/7254). A l'occasion de l'enquête 2006/1 une PCR a été effectuée qui a confirmé l'identification *E. histolytica*.

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus en 2006, 2007 et 2012 pour ce même échantillon.

Tableau 2.1 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2006/1, 2007/1 et 2012/2.

Parasite	P/6231 (2006/1)	P/7254 (2007/1)	P/11653 (2012/2)
<i>G. lamblia</i>	97.9%	98.9%	99.4%
<i>E. histolytica/dispar</i>	42.9%	58.9%	51.0%
<i>B. hominis</i>	26.5%	30.6%	23.6%

Le commentaire concernant l'enquête souligné que si *Giardia lamblia* est présent en grand nombre, l'identification ne pose d'habitude aucun problème. Pour la détection de concentrations plus faibles la détection de l'antigène par EIA ou par tests immunochromatographiques peut être utile. Tous ces systèmes ne peuvent cependant pas être utilisés sur des selles fixées.

L'échantillon contenait des kystes de l'espèce pathogène *Entamoeba histolytica*. La distinction avec l'*E. dispar* non-pathogène a été effectuée par PCR lors de la première enquête en 2006. Un ELISA spécifique pour *E. histolytica* est une alternative possible à

la PCR pour différencier les kystes des 2 espèces. Le tableau 2.2. présente un aperçu de la façon de répondre à l'occasion des 5 dernières enquêtes où des kystes d'*E. histolytica* ou *E. dispar* ont été recherchés. Lors de l'évaluation de la manière correcte de rapportage on n'a pas prêté attention au fait que certains laboratoires utilisent une méthode qui permet de faire la distinction entre les 2 espèces. Il est clair que la manière correcte de répondre a été intégrée dans une grande partie des laboratoires belges.

Tableau 2.2. Comparaison entre les différentes enquêtes en ce qui concerne la manière correcte de répondre la présence des kystes d'*E. histolytica/dispar*.

Enquête	2002/03	2006/01	2007/01	2009/01	2012/02
<i>E. histolytica/dispar</i>	10	23	34	101	68
<i>E. histolytica</i>	162	54	68	41	11
<i>E. dispar</i>	1	4	4	4	1
Total	173	81	106	146	80
Manière correcte de répondre	6%	28%	32%	69%	85%

L'échantillon P/11751 était négatif et ne contenait pas de parasites.

150 (95.5%) laboratoires ont répondu « Absence de parasites ». Un (0.6%) laboratoire a inversé les 2 échantillons. 6 (3.8%) laboratoires ont rapporté la présence d'un parasite.

2.3. Enquête 3

Deux suspensions de selles formolées, P/11892 et P/11967, ont été envoyées.

156 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/11892 contenait des œufs de *Taenia* species.

140 (89.7%) laboratoires ont mentionné la présence de *Taenia* species (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites), 136 (97.1%) d'entre eux ont mentionné la présence de kystes.

Le commentaire concernant l'enquête a discuté de plus près le cycle de vie et la **différence en pathogénicité entre *T. saginata* et *T. solium*.**

***T. saginata* ne représente pas de grand risque pour l'homme. Le danger** lors d'une infection par ***T. solium* se produit quand l'homme, comme le cochon, intervient comme hôte intermédiaire par ingestion des œufs et qu'il développe une (neuro) cysticercose.** La larve sort de l'œuf, fait son chemin à travers la muqueuse intestinale et se répand par les vaisseaux sanguins aux différents organes ou les envahit directement. Après quelques mois l'homme développe des cysticerques dans le tissu sous-cutané et les muscles ou le système nerveux central. Tant qu'ils sont intacts ces cysticerques ne causent que peu d'inflammation dans le tissu avoisinant mais quand les cysticerques meurent et qu'ils libèrent des antigènes dans leur environnement, cela peut causer une forte réaction par détérioration des tissus. Les cysticerques dans le tissu cérébral causent typiquement de l'épilepsie. La cysticercose est retrouvée fréquemment dans les pays en voie de développement où les porcs sont élevés pour l'alimentation, entre autres en Amérique latine, dans la plus grande partie de l'Asie, en Afrique subsaharienne et certaines parties de l'Océanie. En Europe occidentale l'infection a virtuellement disparu et elle n'est retrouvée que chez les immigrants et comme maladie

d'importation. Le diagnostic est posé par l'examen clinique, l'imagerie médicale et la sérologie (détection de l'Ag dans le sérum ou le liquide céphalorachidien).

Le diagnostic de *Taenia species* dans les selles est posé d'habitude sur base de la présence des proglottis qui permet la différenciation entre les 2 espèces. Parfois, comme c'était le cas pour cet enfant adoptif en provenance de l'Ethiopie, les œufs sont libérés dans les selles à un moment où les proglottis ne sont pas encore sortis du corps. Les œufs de *T. solium* et *T. saginata* ne peuvent pas être différenciés à l'examen microscopique. Comme plusieurs participants l'ont correctement remarqué, **il faut donc répondre *Taenia species* si on ne retrouve que les œufs.**

L'échantillon P/11967 contenait des oocystes d'*Isospora belli*.

Isospora belli (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 155 (99.4%) laboratoires. 133 (85.8%) d'entre eux ont mentionné la présence des oocystes.

Cet échantillon a déjà été envoyé dans les enquêtes 2008/2 (sous le numéro P/8315) et 2009/2 (sous le numéro P/9273).

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus en 2008, 2009 et 2012 pour ce même échantillon.

Tableau 2.2 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2008/2, 2009/2 et 2012/3.

Parasite	P/8315 (2008/2)	P/9273 (2009/2)	P/11967 (2012/3)
<i>I. belli</i>	95.3%	93.5%	99.4%

Le commentaire concernant l'enquête a discuté la taxonomie, la pathologie, le cycle de vie et le diagnostic d'*I. belli*.

Le diagnostic est posé par la détection dans les selles d'oocystes en forme de bouteille ou fusiformes qui ont une paroi très mince, qui ont 25-33 µm de long et 12-16 µm de large et qui contiennent 1-2 sporoblastes avec un contenu granuleux. Si les oocystes sont présents en grande quantité, leur détection ne pose pas de problèmes. Pour retrouver des oocystes en petite quantité avec une sensibilité suffisante la technique de concentration de Ridley peut être utile, même si elle n'est pas idéale. On peut aussi utiliser une coloration acido-alcolo-résistante modifiée ou la propriété d'autofluorescence des oocystes. **On ne peut pas exclure l'infection sur base d'examen d'un seul échantillon de selles.**

2.4. Utilisation du Toolkit

Le pourcentage de réponses envoyé par voie informatique (Toolkit) était respectivement de 76.7%, 62.4% et 63.2% 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 2012, les paramètres sérologiques pour la syphilis, la toxoplasmose, la rubéole, l'hépatite A, *Mycoplasma pneumoniae* et le VIH ont été évalués. Il y avait également trois échantillons pour la détection de l'antigène du Rotavirus. Le nombre de participants dépendait du paramètre.

3.1. La syphilis

2 échantillons lyophilisés, IS/7730 et S/8685 ont été envoyés pour effectuer la détermination des anticorps anti-tréponémiques.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

Echantillons IS/7730 et S/8685

« 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/8685) vient pour un check-up et n'a pas de plainte. Le deuxième patient (échantillon IS/7730) 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:

IS/7730: Interprétation: Absence d'anticorps.

S/8685: Interprétation: Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active.

A l'occasion de cette enquête il existait pour la 1^e fois la possibilité de répondre par Toolkit: 87.2% des laboratoires ont répondu de cette manière.

156 laboratoires ont participé à cette enquête.

Sur l'échantillon IS/7730 les 156 laboratoires ont effectué 306 tests, à savoir 183 tests tréponémiques et 123 tests non-tréponémiques.

30 laboratoires ont effectué 1 test, 105 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests et 3 laboratoires ont effectué 4 tests.

Sur l'échantillon S/8685 ils ont effectué 354 tests, à savoir 213 tests tréponémiques et 141 tests non-tréponémiques.

12 laboratoires ont effectué 1 test, 104 laboratoires ont effectué 2 tests, 28 laboratoires ont effectué 3 tests, 10 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

Respectivement 90% (IS/7730) et 75% (S/8685) des laboratoires effectuant 1 test, ont utilisé un test tréponémique. Respectivement 95% (IS/7730) et 96% (S/8685) des laboratoires effectuant plus d'un test ont utilisé la combinaison de tests tréponémiques et non-tréponémiques.

Les trousse les plus utilisées sont Serodia TPPA (Fujirebio) (38.5% et 44.2%), Architect Syphilis TP (Abbott) (22.4% pour les 2 échantillons), Liaison Treponema Screen (DiaSorin) (19.9% et 19.2%), Murex Syfacard-R (DiaSorin) (15.3% et 17.9%), RPR - nosticon II (bioMérieux) (15.3% en 17.9%) et RPR Carbon (Spinreact) (14.7% et 17.3%). (% exprimé en fonction du nombre de laboratoires participants).

Pour l'échantillon S IS/7730, tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif aussi bien pour les tests non-tréponémiques que pour les tests tréponémiques

Tous les laboratoires ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps ».

Pour les tests non-tréponémiques pour l'échantillon S/8685, 97.9% des laboratoires ont obtenu un résultat positif, 0.7% un résultat négatif et 1.4% un résultat borderline. Pour les tests tréponémiques pour les anticorps « totaux » et les IgG, tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif. Pour les IgM 4 laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 2 un résultat borderline et un laboratoire un résultat positif.

La plupart des laboratoires (94.2%) ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ». Un laboratoire a préféré « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active ». 5.1% des laboratoires ont mentionné que des tests supplémentaires et/ou un échantillon de suivi sont nécessaires pour faire la distinction entre infection active et non-active.

Dans le commentaire une remarque a été faite concernant l'utilisation des tests pour la sérologie de la syphilis dans le cadre d'un dépistage. Un nombre limité de laboratoires utilisent comme premier et/ou seul test, un test non-tréponémique. Ces tests deviennent en effet assez vite positifs après la contraction de l'infection (sensitivité élevée relative), donnent dans différentes conditions physiologiques (grossesse, hépatites, infections virales aiguës, maladies auto-immunitaires et maladies du tissu conjonctif,...) des réactions faussement positives (spécificité limitée) mais seront négatifs dans la majorité des cas de syphilis tardive (tertiaire) ou latente. De plus, la sensibilité est moins élevée pour une syphilis primaire précoce que celle des nouveaux tests de dépistage tréponémique. **Dans le cadre d'un dépistage ou d'une mise au point générales chez un patient avec de vagues plaintes, il est donc plus fiable d'effectuer un test tréponémique.**

Les nouveaux tests de dépistage, qui détectent les anticorps IgM et IgG antitreponémiques de manière sensible et spécifique, utilisent des antigènes de *T. pallidum* wild-type ou d'antigènes recombinants. Malgré leur haute performance, ils ont un nombre de limitations caractéristiques pour les tests tréponémiques: ces tests ne permettent pas de faire la différence entre les infections récentes ou traitées et les infections non-traitées. L'utilité d'un test semi-quantitatif non-tréponémique après avoir obtenu un résultat positif pour un test de dépistage, est (1) de bien estimer le statut exact de la maladie et l'historique du traitement, et (2) de soutenir les résultats du test de dépistage. Malgré le fait que les tests non-tréponémiques ont montré depuis des dizaines d'années une performance fiable, les limitations mentionnées antérieurement sont significatives et suffisantes pour ne pas utiliser ces tests comme uniques tests de dépistage.

Avec l'implémentation croissante dans les laboratoires cliniques des EIA ou CLIA tréponémiques-spécifiques comme tests de dépistage de première ligne pour la syphilis, les professionnels de la santé seront confrontés inévitablement avec des patients qui ont un résultat positif pour le dépistage tréponémique-spécifique, mais un résultat négatif pour le test non-tréponémique. Une telle discordance peut survenir fréquemment et peut être une source de confusion pour les professionnels de la santé et les patients. Cette combinaison peut correspondre à un dépistage faux-positif, mais peut évidemment également être trouvée chez des patients avec une syphilis passée ou récemment traitée et chez des patients avec une maladie très précoce ou tardive et/ou latente.

Le commentaire a également remarqué qu'un certain nombre de laboratoires effectuent des dilutions très importantes. L'utilité clinique de ces titres élevés est sujet à discussion, mais semble plutôt limitée. Il est possible que ces dilutions aient été effectuées parce qu'il s'agissait d'une EEQ.

Le commentaire a discuté de plus près la détermination des **anticorps IgM**. La signification de la détection des anticorps IgM anti-tréponémiques spécifiques dans le diagnostic de la syphilis repose sur les observations suivantes:

1) Les anticorps IgM ne sont pas capables de franchir une barrière placentaire intacte. Le diagnostic des IgM est donc d'une très grande importance dans la détection d'une syphilis congénitale chez les nouveau-nés.

2) Les anticorps anti-tréponémiques IgM sont les premiers qui peuvent être détectés après une infection et après traitement ils disparaissent plus vite que d'autres anticorps d'importance diagnostique. Les anticorps IgM peuvent réapparaître lors d'une réinfection. En théorie la détection de ces anticorps IgM peut être utilisée lors de la suspicion d'une réinfection, mais dans la pratique les anticorps IgM ne semblent pas disparaître complètement après traitement/guérison, et cette indication n'est donc pas valable.

Eventuellement ce test peut être effectué **en cas d'une sérorésistance élevée** (le test VDRL reste continuellement positif avec un titre > 1/8 après traitement d'une syphilis précoce), dans le but de contrôler s'il existe encore une maladie active qui nécessite un traitement. **A part ceci, la seule autre indication pour la détermination des IgM est la suspicion d'une syphilis congénitale.**

Pour conclure les **indications pour effectuer une ponction lombaire** (CDC-2010 STD Treatment Guidelines) ont été mentionnées:

- § Symptômes neurologiques ou oculaires/auditifs
- § Echec du traitement
- § Syphilis tardive latente et titre non-tréponémique sérique $\geq 1/32$,
- § Autre évidence de syphilis active (aortite, gommages, iritis)
- § Pas de possibilité de traiter à la pénicilline
- § Test HIV positif et titre non-tréponémique $\geq 1/32$, indépendant du stade de la maladie, et certainement obligatoire si comptage CD4 < 350/ μ L
- § Syphilis congénitale

3.2. La Toxoplasmose

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Toxoplasme, S6630 et IS/10550.

S/6630: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »
IS/10550: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »

Les résultats attendus étaient :

S/6630: IgG positif
IgM négatif
Interprétation: Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs)

IS/10550: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Absence d'anticorps spécifiques
Les laboratoires avec un numéro d'agrément pair et impair ont reçu un échantillon différent mais avec les mêmes caractéristiques: on ne s'attendait pas à une approche ou un résultat différents entre les 2 groupes

A l'occasion de cette enquête il existait pour la 1^e fois la possibilité de répondre par Toolkit: 86% des laboratoires ont répondu de cette manière.

157 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 345 tests sur l'échantillon S/6630 et 324 tests sur l'échantillon IS/10550.

Pour l'échantillon S/6630, 132 laboratoires ont effectué 2 tests, 20 laboratoires ont effectué 3 tests, 4 laboratoires ont effectué 4 tests et un laboratoire 5 tests.

Pour l'échantillon IS/10550, 149 laboratoires ont effectué 2 tests, 6 laboratoires ont effectué 3 tests et 2 laboratoires ont effectué 4 tests.

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

Tableau 3.2.1. Nombre de participants répartis par paramètre pour le Toxoplasme (enquête 2012/1)

Nombre de tests	Types de tests	S/6630	IS/10550
2 tests	IgG + IgM	132	149
3 tests	IgG + IgM + IgA	1	1
	IgG + IgM + Ac totaux	1	1
	IgG + IgG + IgM	1	1
	IgG + IgM + IgM	1	3
	IgG + IgM + avidité	16	-
4 tests	IgG + IgG + IgM + IgM	1	2
	IgA + IgG + IgM + avidité	1	-
	IgG + IgM + IgM + avidité	2	-
5 tests	IgG + IgG + IgM + IgM + avidité	1	-
Total		157	157

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect Toxo IgG (Abbott) (25.6% et 26.3%), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (15.0%, les 2 échantillons): VIDAS Toxo IgG II (bioMérieux) (9.4%, les 2 échantillons), et Cobas Toxo IgG (Roche) (9.4% les 2 échantillons)
- IgM: Architect Toxo IgM (Abbott) (24.7% et 25.3%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (14.8%, les 2 échantillons), VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (11.1%, les 2 échantillons), et Cobas Toxo IgM (Roche) (9.3%, les 2 échantillons)

- IgG avidité (échantillon S/6630): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (55%)

Pour l'échantillon S/6630, 99.4% des laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif (inversion des échantillons).

Le laboratoire ayant dosé les anticorps totaux a obtenu un résultat positif.

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

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

90% des laboratoires ont obtenu une avidité élevée. Deux laboratoires ont également obtenu une valeur qui peut être considérée comme élevée mais l'ont interprétée fautiveusement comme « faible ».

150 (95.5%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs) » pour l'échantillon S/6630. Quatre (2.5%) laboratoires ont mentionné la nécessité d'effectuer des tests complémentaires et/ou de prélever un échantillon de suivi. Deux laboratoires ont choisi « Sérologie suggestive d'une infection récente » et un laboratoire « Absence d'anticorps spécifiques ». Ces 3 dernières interprétations sont erronées.

98.1% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG pour l'échantillon IS/10550. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline et 2 laboratoires un résultat positif (dont un à cause d'une inversion des échantillons).

Le laboratoire ayant dosé les anticorps totaux a obtenu un résultat négatif.

Le laboratoire ayant dosé les IgA, les a trouvées négatives.

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

151 (92.6%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Absence d'anticorps spécifiques » pour l'échantillon IS/10550 ; deux laboratoires ont répondu une variante de cette réponse. Un laboratoire a choisi « La sérologie ne permet pas d'exclure ni de confirmer une infection; à confirmer par un échantillon de suivi ». Un laboratoire (qui avait obtenu le résultat borderline pour les IgG) a mentionné « Probablement une réaction aspécifique. A compléter éventuellement par la détermination des IgA anti-Toxoplasma et un échantillon de suivi après 2 à 3 semaines ». Les 2 laboratoires ayant obtenu un résultat positif pour les IgG ont choisi « Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs) ». Ces 2 dernières interprétations sont erronées.

Le commentaire concernant l'EEQ a mentionné, que **le profil sérologique de l'échantillon S/ 6630 ne demande généralement pas de suivi ultérieur**, mais qu'un certain nombre de labos ont mentionné qu'ils aimeraient quand-même recevoir un échantillon de suivi. Néanmoins qu'il existe des rares cas d'infections récentes dans lesquels on ne détecte pas d'IgM, la demande d'un échantillon de suivi chez les patients avec un tel profil sérologique pour exclure une augmentation du titre des IgG, est une forme extrême de prudence qui n'est pas nécessaire.

Il est à noter qu'il existe une grande variation entre les titres des IgG des différents producteurs et même entre les utilisateurs de la même trousse. Cette constatation nous force à mentionner **que nous ne pouvons comparer les titres d'échantillons consécutifs d'un même patient que s'ils sont testés dans un même « run »**.

Pour l'échantillon IS/10550 quelques autres interprétations qui ont été fournies (p.ex. « Absence d'anticorps spécifiques. En cas de suspicion d'une infection aiguë, un prélèvement de contrôle est recommandé dans 2 semaines. ») ne peuvent pas être considérées comme fautives.

La réponse suivante ne peut pas être considérée comme complètement correcte:
« Probablement une réaction aspécifique. A compléter éventuellement par la

détermination des IgA anti-Toxoplasma et un échantillon de suivi après 2 à 3 semaines ». Cette réponse a été donnée par le labo qui a retrouvé des IgG borderline positives. Une détermination des IgA n'ajoutera rien dans le cas présent étant donné que les IgA apparaissent généralement après les IgM et que les IgM étaient négatives. Il est également un peu précoce de mentionner la présence d'une réaction aspécifique: on pourrait conseiller d'effectuer des déterminations supplémentaires des IgG avec d'autres techniques, éventuellement combinées avec un échantillon de suivi.

3.3 L'HAV

Deux échantillons ont été envoyés pour la détection des anticorps anti-HAV: S/5627 et IS/6625.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

S/5627: Patient avec des tests hépatiques anormaux et souffrant de jaunisse.

IS/6625: Un vieil homme se présente à la consultation de la médecine du voyage avant de partir pour les tropiques. Le médecin demande la détermination des IgG anti-HAV.

Les résultats et interprétations attendues étaient :

S/5627:

IgG: positifs
IgM: négatifs
Interprétation: Immunité (code 2)

IS/6625:

IgG: négatifs
IgM: négatifs
Interprétation: Pas d'immunité (code 1)

155 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse ; sur l'échantillon S/5627, les 155 laboratoires ont effectué 296 tests ; sur l'échantillon IS/6625, 153 laboratoires ont effectué 287 tests (deux des laboratoires qui ne disposent que de trousse pour déterminer les IgM, n'ont pas effectué de tests sur cet échantillon, vu la question clinique).

Sur l'échantillon S/5627, 15 laboratoires ont effectué un test, 139 laboratoires 2 tests et 1 laboratoire 3 tests.

Sur l'échantillon IS/6625, 20 laboratoires ont effectué un test, 132 laboratoires 2 tests et 1 laboratoire 3 tests.

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'HAV (2012/2)

Nombre de tests	Types de tests	S/5627	IS/6625
1 test	Ac totaux	1	5
	IgG	-	3
	IgM	14	12
2 tests	Ac totaux + IgM	102	98
	IgG + IgM	37	34
3 tests	Ac totaux + 2 IgM	1	1
Total		155	153

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: Cobas anti-HAV (Roche) (21.2% les 2 échantillons), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (13.5% les 2 échantillons), Modular anti-HAV (Roche) (11.5% les 2 échantillons) et Liaison anti-HAV (Diasorin) (9.6% les 2 échantillons)
- IgM: Architect HAV IgM (Abbott) (25.2% et 24.7%), Cobas anti-HAV IgM (Roche) (15.5% et 15.1%) et VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (12.9% et 12.3%)

Pour l'échantillon S/5627, tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux, les ont trouvés positifs.

Les IgG ont été considérées comme positives par 36 (97.3%) laboratoires. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif (il s'agit probablement d'un mauvais choix lors de l'introduction des résultats sur le site; ce laboratoire a mentionné un index de 11.2).

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

88.4% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ». Un laboratoire a répondu « Pas d'immunité » et 2 laboratoires « Profil sérologique suggestif d'une infection récente/actuelle causée par le virus de l'hépatite A ». Un laboratoire a fourni sa propre interprétation. Onze des laboratoires n'ayant déterminés que les IgM, ont mentionné qu'il n'y a pas d'infection récente/aigüe au virus de l'hépatite A; les trois autres ont préféré de ne pas s'exprimer.

Pour l'échantillon S/6625, tous les laboratoires ayant déterminé les IgG, les ont trouvés négatives.

Les anticorps totaux ont été considérées comme négatifs par 103 (99.0%) laboratoires. Un laboratoire a obtenu un résultat positif.

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

90.2% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Pas d'immunité ». Un laboratoire a répondu « Immunité », un laboratoire « Pas d'immunité et pas d'infection récente » et un laboratoire n'a pas donné d'interprétation. Six des laboratoires n'ayant déterminés que les IgM, ont mentionné qu'il n'y a pas d'infection récente/aiguë au virus de l'hépatite A; les six autres laboratoires ont répondu qu'il leur était impossible de donner une opinion concernant le statut immunitaire.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné qu'il n'est **pas correct d'interpréter le profil sérologique « IgM négatifs, IgG positifs » comme « Profil sérologique suggestif d'une infection récente/actuelle causée par le virus de l'hépatite A »**. Une telle interprétation peut mener à des conclusions erronées si le médecin prescripteur ne remarque pas l'interprétation fautive.

Une confirmation des résultats obtenus pour l'échantillon S/5627 par des tests complémentaires ou par un nouveau prélèvement n'est pas nécessaire. Même en cas d'un résultat négatif pour les IgM et les IgG anti-hépatite A chez un patient symptomatique, une sérologie de suivi n'est pas conseillée étant donné que les IgM anti-hépatite A apparaissent d'habitude avant le début des symptômes.

En ce qui concerne l'échantillon S/6625, **l'interprétation « Pas d'infection récente/aiguë par l'HAV », fournie par 5 laboratoires qui n'ont déterminé que les IgM anti-hépatite A, ne répond pas à la question clinique. Dans ce contexte, la conclusion « Pas d'interprétation possible concernant l'immunité » est plus correcte.** Une confirmation par un nouveau prélèvement n'est pas nécessaire, même après vaccination (elle peut être utile après une vaccination pour l'hépatite B). Les vaccins pour l'hépatite A sont très immunogènes et donnent à peu près 100% de séroconversion. Uniquement pour des personnes avec une immunité diminuée il est conseillé de prouver par test sérologique la production des anticorps après la vaccination pour l'hépatite A.

3.4 La rubéole

Deux échantillons ont été envoyés : IS/8597 et IS/9596.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/8697: Une jeune femme d'origine étrangère, qui n'a pas été vaccinée dans sa jeunesse, se présente chez son médecin avec un rash et de la fièvre.

IS/9596: Une jeune femme se présente chez son généraliste pour un examen avant grossesse. Elle ne se rappelle plus si elle a été vaccinée contre la rubéole. Le médecin prend un échantillon pour contrôler les anticorps.

Les résultats attendus étaient :

IS/8697: IgG: positifs
 IgM: négatifs
 Interprétation: Immunité (code 02)

IS/9596: IgG: positifs
 IgM: négatifs
 Interprétation: Immunité (code 02)

149 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse : tous ces laboratoires ont effectué des tests pour l'échantillon IS/8697; 148 laboratoires ont effectué des tests pour l'échantillon IS/9596.

Sur l'échantillon IS/8697, 12 laboratoires ont effectué un test, 133 laboratoires 2 tests, 3 laboratoires 3 tests et 1 laboratoire 4 tests.

Sur l'échantillon IS/9596, 14 laboratoires ont effectué un test, 130 laboratoires 2 tests, 3 laboratoires 3 tests et 1 laboratoire 4 tests.

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

Tableau 3.4.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Types de tests	IS/8697	IS/9695
1 test	Ac totaux	1	1
	IgG	11	13
2 tests	IgG + IgM	133	130
3 tests	IgG + 2 IgM	3	3
4 tests	2 IgG + 2 IgM	1	1
Total		149	148

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

-IgG: Architect Rubella IgG (Abbott) (24.8% et 24.3%), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (16.1% et 16.2%), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (12.1% et 12.2%) et Cobas Rubella IgG (Abbott) (10.7% et 10.8%)

-IgM: Architect Rubella IgM (Abbott) (25.5% et 25.4%), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (17.0% et 17.4%) et VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (14.2% et 13.0%)

Pour l'échantillon IS/8697 tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG. Le laboratoire ayant déterminé les Ac. totaux a également obtenu un résultat positif.

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

133 (89.3%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité » ou une variante de cette interprétation. Quelques laboratoires ont préféré une autre option. Le laboratoire qui n'a déterminé que les anticorps totaux et quatre des laboratoires n'ayant déterminé que les IgG, ont choisi « Possibilité d'une infection récente »; un laboratoire n'ayant déterminé que les IgG a laissé le choix entre « Immunité » et « Possibilité d'une infection récente »; les autres labos qui ont uniquement déterminé les IgG, ont préféré ne pas s'exprimer. Un laboratoire a préféré de ne pas donner d'interprétation.

Pour l'échantillon IS/9596 tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG. Le laboratoire ayant déterminé les Ac. totaux a également obtenu un résultat positif.

142 (95.9%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité » ou une variante de cette interprétation. Quelques laboratoires ont préféré une autre option. Un laboratoire n'ayant déterminé que les IgG a laissé le choix entre « Immunité » et « Possibilité d'une infection récente »; trois labos qui ont uniquement déterminé les IgG, ont préféré ne pas s'exprimer. Le laboratoire qui n'a déterminé que les anticorps totaux et les autres laboratoires n'ayant déterminé que les IgG, ont choisi « Immunité ». Un laboratoire a préféré de ne pas donner d'interprétation.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que si la présence d'IgM n'est pas nécessairement liée à une infection récente (IgM persistantes, vaccination, activation polyclonale,...), par contre **l'absence d'IgM exclut raisonnablement le diagnostic.**

En ce qui concerne l'échantillon IS/9596 le commentaire a souligné que l'interprétation « immunité » est correcte, même pour les laboratoires n'ayant déterminé que les IgG ou les Ig totales puisqu'il n'y a aucun symptôme évocateur de rubéole ni de notion de contact.

Le commentaire a également répété que ces résultats montrent bien que les résultats quantitatifs ne peuvent pas être comparés d'un laboratoire à l'autre, malgré l'utilisation d'unités internationales.

3.5. L'antigène du Rotavirus

Il y avait 3 échantillons pour la recherche de l'antigène du Rotavirus, Ag/11734, Ag/11735 et Ag/11736. Les résultats des échantillons Ag/11734 (souche G1P[4]) et Ag/11736 (souche G2P[8]) étaient positifs et le résultat de l'échantillon Ag/11735 était négatif.

146 laboratoires ont renvoyé leurs formulaires de réponse.

Pour les échantillons Ag/11734 et Ag/11736, 141 laboratoires ont effectué un test et 5 laboratoires 2 tests (au total donc 151 tests). Pour l'échantillon Ag/11735, 140 laboratoires ont effectué un test et 5 laboratoires 2 tests (au total donc 150 tests) ; pour cet échantillon, un laboratoire a répondu que l'échantillon était « illisible » (échantillon trop épais, d'où le témoin ne réagit pas).

Les trousse les plus utilisées sont: Rota-strip (Coris Bioconcept) (39.1%, 38.7% et 39.1%), Combi-strip (Coris Bioconcept) (21.9%, 22.0% et 21.9%) et VIKIA Rota-Adenokit (11.3%, 11.3% et 11.3%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

L'échantillon Ag/11734: 144 (98.6%) laboratoires ont obtenu un résultat positif pour toutes les trousse utilisées, un laboratoire un résultat négatif et un laboratoire a obtenu des résultats différents selon les trousse utilisées.

L'échantillon Ag/11735: 118 (81.4%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour toutes les trousse utilisées, 16 (11.0%) laboratoires ont obtenu un résultat positif pour toutes les trousse utilisées, 10 (6.9%) laboratoires ont obtenu un résultat borderline pour toutes les trousse utilisées et un laboratoire a obtenu des résultats différents selon les trousse utilisées.

L'échantillon Ag/11736: 121 (82.9%) laboratoires ont obtenu un résultat positif pour toutes les trousse utilisées, 13 (8.9%) laboratoires ont obtenu un résultat borderline pour toutes les trousse utilisées, 10 (6.8%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour toutes les trousse utilisées et deux laboratoires ont obtenu des résultats différents selon les trousse utilisées.

Les firmes productrices de trousse avec plusieurs résultats aberrants ont été contactées pour examiner les échantillons.

La firme Coris n'a pas pu reproduire les résultats faux positifs ou négatifs lors de leur examen (effectué avec plusieurs lots). Ils conseillent de bien mélanger de tels échantillons liquides avant emploi et de bien prélever 20 µL d'échantillon: si on prélève moins de volume d'échantillon, on risque d'avoir des résultats faussement négatifs. Pour expliquer les cas de faux-positifs, une lecture des tiges à des temps + longs (>10-minutes) peut aussi provoquer une accumulation non spécifique du conjugué au niveau de la ligne test et faire apparaître du bruit de fond qui peut induire en erreur lors de la lecture.

La firme bioMérieux nous a fourni la conclusion suivante :

« Quel que soit les lots de Vikia Rota Adeno testés (lots de validation et kits PV, kits PV ABON), nous retrouvons pour le contrôle Qualité Belges national Ag/11735 un résultat positif en ROTA.

Vis à vis du contrôle Qualité Belge national Ag/11735, il n'y a pas eu de dérive d'interprétation des résultats en ROTA avec le kit Vikia Rota Adeno depuis les premiers lots fabriqués.

Sur le kit concurrent Diarlex (test latex) lot 140455, le contrôle Qualité Belge national Ag/11735 a été trouvé négatif en Rotavirus et Adénovirus.

Sur le kit concurrent Diarlex (test bandelette) MB lot 1459996, le contrôle Qualité Belge national Ag/11735 a donné un résultat ininterprétable.

Testé sur le kit PV Vidas Rotavirus, le contrôle Qualité Belge national Ag/11735 est trouvé négatif.

Les résultats de l'échantillon retour Ag/11735 obtenus au Laboratoire Réclamations à Marcy ont été transmis à bioMérieux Shanghai.

Ce dossier est lié à l'investigation référente 554107 qui sera élargie à tous les lots.

Pour la responsable R&D de BioMérieux Shanghai, les résultats faux positifs sont liés aux échantillons et au design des kits Vikia Rota Adeno (ABON ou BioMérieux Shanghai).

Suite à la réponse de la responsable R&D de BioMérieux Shanghai, une analyse des réclamations VIKIA Rota-Adeno enregistrées pour problème de spécificité sur les lots produits chez BioMérieux Shanghai a été réalisée et le résultat de la spécificité est de 99.98 %. Il reste conforme aux spécifications des performances indiquées dans la notice technique (cette spécificité tient compte du nombre de réclamations enregistrées et du nombre de tests potentiellement réalisés = 11 réclamations enregistrées sur 8 lots vendus, soit environ 80 000 tests)

A la suite de ce constat, il a été décidé :

- de ne pas ouvrir de CAPA
- de clore l'investigation référente 554107
- un suivi mensuel du nombre de réclamations sera fait
- un bilan du nombre de réclamations sera fait fin décembre 2012.

Pas de remise en cause des performances du produit. »

3.6. La sérologie de *Mycoplasma pneumoniae*

Deux échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la *M. pneumoniae*.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/7731: Un jeune homme se présente chez son médecin avec de la fièvre, une mal de gorge et une toux sèche prolongée.

IS/11713: Une jeune femme se présente chez son généraliste avec des symptômes de malaise général, une légère fièvre, un mal de tête, un mal de gorge et une toux sèche prolongée.

Les résultats et interprétations attendues étaient :

S/7731:

Ac. totaux : négatifs

IgG: négatifs

IgM: négatifs

IgA: négatifs

Interprétation: Absence d'anticorps

IS/11713:

Ac. totaux : positifs

IgG: positifs

IgM: positifs

IgA: négatifs

Interprétation: Présence d'anticorps, suggestive d'une infection active.

La réponse « prélèvement d'un échantillon de suivi pour démontrer une augmentation du titre » est également correcte pour les laboratoires qui n'ont déterminé que les Ac. totaux ou les IgG.

148 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 287 tests pour l'échantillon IS/7731 et 282 tests pour l'échantillon IS/11713.

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

Tableau 3.6.1 Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Types de tests	S/7731	IS/11713
1 test	Ac totaux	15	12
	IgM	10	10
2 tests	IgG + IgM	89	88
	Ac totaux + IgM	25	28
	IgA + IgM	2	2
	2 x Ac totaux	1	1
3 tests	IgA + IgG + IgM	3	4
	Ac totaux + IgA + IgM	1	1
	Ac totaux + IgG + IgM	1	1
4 tests	2 x IgG + 2 x IgM	1	1
Total		148	148

Les laboratoires ont donc effectué 44 déterminations des anticorps totaux, 95 déterminations des IgG, 133 déterminations des IgM et 6 déterminations des IgA pour l'échantillon S/7731. Ils ont effectué 44 déterminations des anticorps totaux, 95 déterminations des IgG, 136 déterminations des IgM et 7 déterminations des IgA pour l'échantillon IS/11713.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ac. totaux: Serodia-Myco II (Fujirebio) (95.5%, les 2 échantillons)
- IgG: SeroMP IgG (Savyon Diagnostics) (29.5%, les 2 échantillons), Liaison Mycoplasma pneumoniae IgG (Diasorin) (20.0%, les 2 échantillons) et Chorus Mycoplasma pneumoniae IgG (Diesse) (10.5%, les 2 échantillons)
- IgM: IgM: SeroMP IgM (Savyon Diagnostics) (21.1% et 20.6%), Immunocard Mycoplasma IgM (Meridian) (18.8% et 19.9%), Liaison Mycoplasma pneumoniae IgM (Diasorin) (15.0% et 14.7%) et Chorus Mycoplasma pneumoniae IgM (Dlesse) (9.0% et 8.8%)
- IgA: Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa (Medac) (66.7% et 71.4%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

L'échantillon S/7731

42 (97.7%) des laboratoires ayant déterminé les Ac. totaux les ont trouvées négatifs; un labo a obtenu des résultats différents pour les différentes trousse utilisées.

92 (97.9%) des laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvées négatives; deux labos ont obtenu un résultat borderline.

127 (96.9%) des laboratoires ayant déterminé les IgM les ont trouvées négatives; quatre labos ont obtenu un résultat positif.

Toutes les déterminations des IgA étaient négatives.

92.6% des laboratoires ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps » ; deux laboratoires ont mentionné « Absence d'anticorps IgM » et 2 labos ont mentionné « l'échantillon n'est pas suggestif pour une infection active » ; un labo a indiqué que la détermination des IgM seules ne permettait pas de donner une interprétation et un labo a mentionné « indéterminé ». Trois labos ont proposé l'interprétation « Présence d'anticorps, suggestive d'une infection récente » et un labo « présence d'IgG résiduelles ». Un labo n'a pas fourni d'interprétation ;

L'échantillon IS/11713

42 (97.7%) des laboratoires ayant déterminé les Ac. totaux les ont trouvées positifs; un labo a obtenu un résultat négatif.

77 (81.9%) des laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvées positives; neuf (9.6%) labos ont obtenu un résultat borderline, 7 (7.9%) un résultat négatif et un labo a obtenu des résultats différents pour les différentes trousse utilisées.

97 (71.3%) des laboratoires ayant déterminé les IgM les ont trouvées positives; 17 (12.5%) labos ont obtenu un résultat borderline, 20 (14.7%) un résultat négatif et un labo a obtenu des résultats différents pour les différentes trousse utilisées.

Six (85.7%) des déterminations des IgA étaient négatives et une était borderline.

75% des laboratoires ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps, suggestive d'une infection récente » ou une variante; 9.5% ont mentionné « Présence d'anticorps, suggestive d'une infection non-récente » ou une variante; 2.7% des laboratoires n'ont pas fait la différence entre infection récente ou ancienne; 2.7% ont mentionné qu'un 2^e échantillon était nécessaire; 2.7% ont mentionné « Absence d'anticorps ». Les 9 autres laboratoires ont donné d'autres interprétations.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que **les résultats sérologiques négatifs obtenus sur un prélèvement unique doivent être interprétés avec une certaine précaution étant donné que les infections à *M. pneumoniae* chez les adultes souvent n'entraînent pas d'IgM (52%) et d'IgG (50%) détectables sur un échantillon aigu prélevé la première semaine**. Les IgM ont un pic autour la 3^e semaine et les IgG autour de la 5^e semaine avec pour conséquence que les sérums de convalescents ont une réactivité améliorée aussi bien pour les IgM (88%) que pour les

IgG (82%) et qu'ils doivent être prélevés 2-3 semaines après la détermination initiale. Cette stratégie d'échantillonnage est surtout importante chez les adultes de plus de 40 ans qui peuvent ne pas montrer de réponse IgM, probablement à cause d'une réinfection. **Nous pouvons conseiller de mentionner le commentaire standard suivant: « en cas de résultats douteux ou négatifs pour les IgG et IgM, il est indiqué de prélever un échantillon de contrôle après 2-3 semaines chez les adultes >40 ans ».**

Etant donné les différences de performance connues pour les méthodes sérologiques et les particularités de l'évolution sérologique d'infections par *M. pneumoniae*, la stratégie de préférence pour les laboratoires qui ont obtenu des résultats négatifs ou douteux est d'effectuer un nouveau prélèvement. Une PCR sur un échantillon respiratoire peut éventuellement être conseillée comme examen complémentaire mais son résultat doit être interprété avec les résultats sérologiques étant donné les données controversées concernant la sensibilité de la PCR par rapport à la sérologie. Aussi bien des résultats faussement négatifs que des résultats faussement positifs ont été rapportés dans la littérature scientifique pour la PCR. Ainsi, la performance de la PCR dépend du type d'échantillon, elle peut détecter le portage asymptomatique jusqu'à 7 mois après l'infection ou se montrer faussement négative suite à des charges bactériennes faibles après antibiothérapie. Cette combinaison de sérologie et de PCR est l'approche la plus fiable pour la recherche d'infections par *M. pneumoniae* et elle est reprise en tant que telle dans les directives internationales.

3.7. Le VIH

2 échantillons « prêts-à-emploi » (S/5309 et IS/8900) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon S/5309 était réactif pour les anticorps anti-VIH.

L'échantillon IS/8900 était négatif pour les anticorps anti-VIH.

165 laboratoires belges et luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Les laboratoires ont effectué 185 tests de dépistage sur l'échantillon S/5309: 145 laboratoires ont effectué 1 test et 20 laboratoires 2 tests. En outre, 2 laboratoires ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux). 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); 4 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) (1 labo).

Les laboratoires ont effectué 177 tests de dépistage sur l'échantillon IS/8900: 153 laboratoires ont effectué 1 test et 12 laboratoires 2 tests. En outre 2 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) (26.5% et 27.7%), HIV Combi PT (Roche) (13.5% et 15.8%), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (10.3% et 8.5%) et VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2 (Ortho Diagnostics) (7.6% et 7.9%).

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon S/5309: 164 (99.4%) laboratoires ont obtenu un résultat positif avec les tests de dépistage. 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 ».

Les déterminations de l'antigène p24 avec les autres trousse étaient toutes négatives.

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

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les tests de dépistage pour l'échantillon IS/8900.

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

Le commentaire a discuté de plus près le diagnostic néonatal de l'infection. La diversité des réponses était semblable à celle de 2010, quand les mêmes questions ont été posées aux laboratoires.

Le commentaire était donc dans les grandes lignes le même que celui donné en 2010.

Chez **les petits enfants de mère infectée par le VIH la présence d'anticorps maternels est systématique** et peut persister jusqu'au-delà de 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/epidemie/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 l'ADN proviral 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 déjà souvent 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 (recommandé) et 6 mois (optionnel). 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.

Réponse aux questions posées :

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 dû à la présence d'anticorps maternels. La seule conclusion possible est que l'enfant est à risque d'infection par le VIH (une mère séropositive).

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.

Finalement, précisons que dans notre pays, où le traitement des femmes enceintes permet généralement de diminuer leur charge virale sous le seuil de détection, la transmission du VIH de la mère à l'enfant est devenue extrêmement rare.

FIN
