

**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

2013

ISP-2013/Micro/Séro/Para/96

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 |
| Coordinateur d'enquête: Dr. VERNELEN K. | TEL: 02/642.55.29 e-mail: kris.vernelen@wiv-isp.be | |
| Remplaçant coordinateur d'enq.: Dr. CHINA B. | TEL: 02/642.53.85 e-mail: bernard.china@wiv-isp.be | |

Experts:

| | | |
|-------------------------|---|-------------------|
| Pharm. BOEL An | TEL: 053/72.47.85 e-mail: an.boel@olvz-aalst.be | FAX: 053/72.45.88 |
| Dr. CLAEYS Geert | TEL: 09/332.36.45 e-mail: geert.claeys@ugent.be | FAX: 09/332.49.85 |
| Dr. DE BEENHOUWER Hans | TEL: 053/72.42.72 e-mail: hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be | FAX: 053/72.45.88 |
| Dr. DE GHELDRE Yves | TEL: 02/340.41.34 e-mail: yves.degheldre@chirec.be | FAX: 02/340.41.79 |
| Dr. DEDISTE Anne | TEL: 02/535.45.42 e-mail: anne_dediste@stpierre-bru.be | FAX: / |
| Dr. DELFORGE Marie-Luce | TEL: 02/555.34.53 e-mail: mdelforg@ulb.ac.be | FAX: 02/555.64.59 |
| Dr. LAGROU Katrien | TEL: 016/34.70.98 e-mail: katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be | FAX: 016/34.79.31 |
| Dr. MAGERMAN Koen | TEL: 011/30.97.40 e-mail: koen.magerman@jessazh.be | FAX: 011/30.97.50 |
| Dr. NAESSENS Anne | TEL: 02/477.50.02 e-mail: anne.naessens@uzbrussel.be | FAX: 02/477.50.15 |
| Dr. PADALKO Elizaveta | TEL: 09/332.21.08 e-mail: elizaveta.padalko@uzgent.be | FAX: 09/332.49.85 |
| Dr. REYNDERS Marijke | TEL: 050/45.39.27 e-mail: marijke.reynders@azsintjan.be | FAX: 050/45.26.19 |
| Dr. VAN ESBROECK Marjan | TEL: 03/247.64.37 e-mail: mvesbroeck@itg.be | FAX: 03/247.64.40 |
| Dr. VERROKEN Alexia | TEL: 02/764.67.32 e-mail: alexia.verroken@uclouvain.be | FAX: 02/764.69.33 |
| Dr. WOESTYN Sophie | TEL: 056/85.58.85 e-mail: sophie.woestyn@skynet.be | FAX: 056/85.58.86 |

Réunion du comité d'experts : 28/08/2014

Autorisation de diffusion de rapport: par Kris Vernelen (Coordinateur d'enquête) le 17/09/2014



Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

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

Table des matières

| | |
|--|----|
| MICROBIOLOGIE | 4 |
| Rapport de l'identification des cultures..... | 4 |
| Répartition des résultats par échantillon..... | 4 |
| Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables | 5 |
| Evaluation des tests de sensibilité | 6 |
| Escherichia coli M/4829..... | 6 |
| Staphylococcus aureus M/11687..... | 7 |
| Hafnia alvei M/7180..... | 9 |
| Streptococcus viridans M/12077..... | 11 |
| Aeromonas hydrophila M/4807..... | 13 |
| Salmonella Duisburg M/4807 | 15 |
| PARASITOLOGIE | 16 |
| Enquête 1 | 16 |
| Enquête 2 | 16 |
| Enquête 3..... | 17 |
| Utilisation du Toolkit..... | 18 |
| SEROLOGIE INFECTIEUSE..... | 19 |
| L'hépatite B..... | 19 |
| L'hépatite C | 21 |
| Interprétation de l'hépatite B et C..... | 22 |
| L'Ag du RSV | 24 |
| La borréliose..... | 25 |
| Echantillon IS/12199: laboratoires pairs..... | 26 |
| Echantillon IS/12199: laboratoires impairs | 26 |
| Le CMV..... | 28 |
| L'EBV | 34 |
| S/4173..... | 35 |
| S/11220..... | 35 |
| Le VIH | 37 |

Trois enquêtes ont été organisées en 2013 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 164 laboratoires ont participé à au moins une enquête. Trois laboratoires (1.8%) ont participé à 2 enquêtes et 161 (98.2%) ont participé aux 3 enquêtes. Deux ont cessé leur activité. Le nombre de laboratoires participants s'élevait à 164, 163 et 161 pour chacune des enquêtes. Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 108 laboratoires hospitaliers, 42 laboratoires privés, 4 laboratoires de polycliniques et 10 autres laboratoires.

Rapport de l'identification des cultures

Répartition des résultats par échantillon

Les participants ont reçu 12 échantillons (onze échantillons lyophilisés et un échantillon de selles simulées).

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

Mycobacterium smegmatis originaire d'un abcès de moignon a été envoyé dans la 2^e enquête à des fins didactiques.

Streptococcus viridans (originaire d'une hémoculture; également envoyé dans la 2^e enquête) appartenait au groupe mitis/oralis (toutes les réponses viridans, mitis et oralis ont donc été considérées comme correctes).

Pour la *Salmonella Duisburg* (selles; enquête 2013/3 une identification jusqu'au niveau du genre était suffisante).

Tableau 1 Répartition des résultats par échantillon. L'origine de chaque germe est mentionnée entre parenthèses.

| Germe | % d'identifications acceptables |
|---|---------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> (urine) | 100 |
| <i>Candida tropicalis</i> (hémoculture) | 96.3 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (urine) | 100 |
| Commensales de la peau (ulcère) | 46.0 |
| <i>Hafnia alvei</i> (hémoculture) | 97.5 |
| <i>Streptococcus viridans</i> (hémoculture) | 97.5 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PID) | 98.2 |
| <i>Salmonella Duisburg</i> (selles) | 93.7 |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> (hémoculture) | 87.1 |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i> (hémoculture) | 65.8 |
| <i>Kingella kingae</i> (liquide articulaire) | 85.7 |

Le faible pourcentage pour l'échantillon d'ulcère qui ne contenait que des commensaux, peut s'expliquer par le fait qu'une majorité des laboratoires ont néanmoins répondu la présence du *S. epidermidis* dans cet échantillon. **Nous devons cependant remarquer que lors de la réunion du comité d'expert a été décidé que le rapportage de l'identification ne doit pas être considéré comme fautif si le laboratoire ne transmet pas de résultats d'antibiogramme**

Le faible pourcentage pour le *S. dysgalactiae* peut s'expliquer par le fait que cette souche agglutinait avec le groupe A de Lancefield et qu'un grand nombre de laboratoires ont donc fourni la réponse *S. pyogenes* ou se sont limités à la réponse « streptocoque de groupe A ».

En plus nous avons envoyé deux frottis pour coloration alcolo-acido-résistante (M/11963 (négatif) et M/12129 (positif)).

96.2% des laboratoires ont donné la réponse correcte pour l'échantillon M/11963 négatif et 87.6% pour l'échantillon M/12129 positif

Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables

Chaque laboratoire a dû réaliser 11 identifications. 67 (40.9%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 97 (59.1%) laboratoires ont mentionné des identifications inacceptables. Le tableau ci-dessous reproduit la répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.

Tableau 2 Nombre d'identifications inacceptables (sans les « non-réponses »).

| Nombre d'identifications inacceptables | Nombre de laboratoires (N = 164) |
|---|---|
| 0 | 67 (40.85%) |
| 1 | 67 (40.85%) |
| 2 | 26 (15.85%) |
| 3 | 4 (2.43%) |

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

| Nombre d'identifications inacceptables | Nombre de laboratoires (N = 164) |
|---|---|
| 0 | 66 (40.2%) |
| 1 | 67 (40.9%) |
| 2 | 26 (15.9%) |
| 3 | 4 (2.4%) |
| 4 | 1 (0.6%) |

Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 6 germes, *Escherichia coli* M/4829, *Staphylococcus aureus* M/11687, *Hafnia alvei* M/7180, *Streptococcus viridans* M/12077, *Aeromonas hydrophila* M/4788 et *Salmonella* Duisburg M/4807 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

Escherichia coli M/4829

Ce germe qui était complètement sensible n'a posé aucun problème aux laboratoires.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2013/1.

Tableau 1 Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4829 (*Escherichia coli*)

| Antibiotique | Résultat attendu | Total | S | I | R | * |
|---------------------------------|-------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------------|
| Ampicilline | S | 159 | 159 | - | - | - |
| Amoxicilline ¹ | S | 2 | 2 | - | - | - |
| Amoxicilline-acide clavulanique | S | 163 | 163 | - | - | - |
| Céfuroxime | S | 158 | 158 | - | - | - |
| Ceftazidime | S | 156 | 155 | - | - | 1 ² |
| Céfotaxime ³ | S | 1 | 1 | - | - | - |
| Pipéracilline-tazobactame | S | 143 | 145 | - | - | 1 ⁴ |
| Gentamicine | S | 151 | 150 | - | - | 1 ⁵ |
| Amikacine ⁶ | S | 3 | 3 | - | - | - |
| Nitrofurantoïne | S | 161 | 161 | - | - | - |
| Quinolone | | | | | | |
| Ciprofloxacine | S | 125 | 125 | - | - | - |
| Lévofloxacine | S | 22 | 22 | - | - | - |
| Moxifloxacine | S | 1 | 1 | - | - | - |
| Norfloxacine | S | 21 | 21 | - | - | - |
| Ofloxacine | S | 3 | 3 | - | - | - |
| Quinolone ⁷ | S | 8 | 8 | - | - | - |

¹ Deux laboratoires ont testé la sensibilité pour l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

² Un laboratoire a bien répondu la valeur de la CMI (≤ 1 mg/L) et le résultat brut (S) mais pas le résultat final pour la ceftazidime.

³ Un laboratoire a testé la sensibilité pour la céfotaxime au lieu de la ceftazidime.

⁴ Un laboratoire a bien répondu la valeur de la CMI (≤ 4 mg/L) et le résultat brut (S) mais pas le résultat final pour la pipéracilline-tazobactame.

⁵ Un laboratoire a bien répondu la valeur de la CMI (≤ 1 mg/L) et le résultat brut (S) mais pas le résultat final pour la gentamicine.

⁶ Trois laboratoires ont testé la sensibilité pour l'amikacine au lieu de la gentamicine.

⁷ Huit laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Staphylococcus aureus M/11687

Cette souche avait comme particularité d'être porteuse du gène *mecA*, mais que toutes les méthodes ne réussissaient pas à bien détecter la résistance à l'oxacilline et à la céfoxitine (comme le montre le tableau 1.2.2.).

Soixante pourcent des laboratoires ont explicitement mentionné la présence d'un MRSA

Le commentaire concernant l'enquête contenait une description de **la résistance à l'oxacilline: elle est liée à l'acquisition d'une « Penicillin Binding Protein », PBP2a**, de faible affinité aux bêta-lactames. La synthèse de la PBP2a est codée par le gène *mec* dont trois allotypes (*mecA*, *mecB* et *mecC*) ont été décrits. Pour une plus ample description de cette résistance, nous référons au rapport global 2013/1.

Selon les tests réalisés au laboratoire de référence, la souche M/11687 était résistante hétérogène à l'oxacilline (CMI = 2-4 mg/l). Cette résistance a été confirmée par la présence du gène *mecA* détecté par PCR.

Seuls 130 (79.8%) laboratoires ont correctement détecté et rapporté le bas niveau de résistance à l'oxacilline. Vingt-trois laboratoires ont répondu la souche sensible (erreur très majeure), quatre laboratoires ont trouvé des résultats discordants entre les différentes méthodes testées mais deux d'entre eux ont interprété correctement la souche « MRSA ».

La vaste majorité (>99%) des laboratoires a répondu correctement la résistance aux quinolones et la sensibilité à la gentamicine. **La résistance aux quinolones est très fréquente (> 90%) chez les souches de MRSA** en particulier celles d'origine nosocomiale. Au contraire, les *S. aureus* sensibles à la méthicilline (**MSSA**) **sont plus rarement résistants** (\pm 5%) aux quinolones. Les souches de **MRSA résistantes à la gentamicine** sont quant à elles devenues **exceptionnelles** (<1%) en Belgique. La résistance à la gentamicine chez *S. aureus* entraîne une co-résistance à l'ensemble des aminoglycosides.

Quelques laboratoires (n = 2) ont rapporté la souche résistante à la vancomycine (erreur majeure). **La résistance aux glycopeptides** et en particulier à la vancomycine est **exceptionnelle** (<1%) et **doit être confirmée par un laboratoire de référence.**

La détection des souches résistantes de bas niveau ou hétérogènes est souvent difficile. Les différentes sociétés de microbiologie européennes et américaines recommandent **l'utilisation de la céfoxitine** pour son excellente sensibilité et spécificité pour la détermination de la sensibilité à l'oxacilline. Cependant, devant un profil de résistance atypique ou devant des résultats de tests phénotypiques contradictoires, il est recommandé de tester la présence de la PBP2a (par agglutination ou par test immunochromatographique) ou du gène *mec* par PCR.

Les souches dont le mécanisme de résistance est conféré par le gène *mecC* sont habituellement de bas niveau de résistance à la céfoxitine et à l'oxacilline. Les PCR classiques ciblant le gène *mecA* sont négatives mais la présence de la PBP2a peut malgré tout être détectée après induction avec un disque de céfoxitine. A l'exception des bêta-lactames, les souches *mecC* ne présentent pas de co-résistance aux autres classes d'antibiotiques au contraire des MRSA –*mecA*. Les souches portant le gène *mecC* sont rarement isolées en Belgique (<1%).

La confirmation et le typage peuvent être réalisés au laboratoire de référence des Staphylocoques – MRSA qui réalise les surveillances microbiologiques de ces infections en Belgique.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2013/1.

Tableau 2 Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11687 (*Staphylococcus aureus*).

| Antibiotique | Résultat attendu | Total | S | I | R | * |
|--------------------------|-------------------------|--------------|------------------|----------|----------|----------------|
| Pénicilline | R | 157 | 7 | 1 | 143 | - |
| Ampicilline ¹ | R | 1 | - | - | 1 | - |
| Oxacilline | R | 144 | 14 | - | 130 | - |
| Céfoxitine | R | 139 | 14 | - | 125 | - |
| Gentamicine | S | 151 | 147 | - | 3 | 1 ² |
| Amikacine ³ | S | 3 | 3 | - | - | - |
| Vancomycine | S | 157 | 154 ⁴ | - | 1 | 2 ⁵ |
| Nitrofurantoïne | S | 129 | 125 | 2 | 1 | 1 ⁶ |
| Quinolone | | | | | | |
| Ciprofloxacine | R | 54 | - | - | 54 | - |
| Lévofloxacine | R | 92 | - | - | 92 | - |
| Moxifloxacine | R | 21 | - | 2 | 19 | - |
| Norfloxacine | R | 5 | - | - | 5 | - |
| Ofloxacine | R | 8 | - | - | 8 | - |
| Quinolone ⁷ | R | 4 | - | - | 4 | - |

¹ Un laboratoire a testé la sensibilité pour l'ampicilline au lieu de la pénicilline.

² Un laboratoire a bien répondu la valeur de la CMI (≤ 1 mg/L) et le résultat brut (S) mais pas le résultat final pour la gentamicine.

³ Trois laboratoires ont testé la sensibilité pour l'amikacine au lieu de la gentamicine.

⁴ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « S » pour la vancomycine: « La vancomycine est rapportée avec un commentaire que seule la résistance à haut niveau est détectée, si souhaité nous effectuons une détermination de la CMI. »

⁵ Un laboratoire a donné la remarque: « Pour la vancomycine 30 μ g, une zone ≥ 7 mm doit être confirmée par une détermination de la CMI (que nous n'effectuons pas). » Un autre laboratoire a donné comme réponse finale : « CMI1 ».

⁶ Un laboratoire a bien répondu le diamètre (15 mm) mais a mentionné qu'en routine la nitrofurantoïne n'est rapporté pour le *S. aureus* étant donné le manque de breakpoints de l'EUCAST 2013.

⁷ Quatre laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Hafnia alvei M/7180

La souche d'*Hafnia alvei* envoyée à travers l'enquête, présente le profil de sensibilité typique de la céphalosporinase de bas niveau inductible. Pour une description des différents profils de résistance chez *Hafnia alvei* nous référons au rapport global de cette enquête.

La grande majorité des laboratoires ont déterminé correctement la résistance (par disques et par techniques automatisées) à l'ampicilline, à l'amoxicilline-clavulanate et une sensibilité aux céphalosporines du troisième groupe.

L'absence de normes EUCAST pour le céfuroxime pour les souches d'*Hafnia alvei*, nous conduit à ne pas diffuser de résultat de sensibilité pour cet antibiotique.

Une sensibilité intermédiaire ou une résistance à la pipéracilline-tazobactam ont été erronément répondues par respectivement 25/155 et 14/155 laboratoires. 35 de ces 39 résultats erronés ont été observés suite à la réalisation de l'antibiogramme sur Vitek. La firme bioMérieux a examiné la souche. Vous trouverez ci-dessous la conclusion de leur examen:

« Investigation Answer:

We duplicated the non-reproducible results obtained by different Belgium laboratories. In-house we obtained TZP MIC (16-32-64mg/L) with the 3 different VITEK 2 cards.

The results obtained with AST-N236 card (TZP MIC= 16 mg/L) and AST-N265 card TZP MIC= 32 mg/L) were correlated to the reference MIC (TZP MIC= 16 mg/L, BMD) within one doubling dilution for AST-N265.

We observed a difference of 2 doubling dilutions with the AST-N237 card in comparison with the reference MIC.

In function of the standards used (EUCAST or CLSI), we can effectively have discrepancies:

*With AST-N236 card: I /EUCAST which leads to a minor error or S/CLSI but no category error

* with AST-N237 and AST-N265 cards : R/ EUCAST and I/CLSI which leads to a minor error

We also observed the strain reacts differently according to the medium used (liquid/solid), and thus lead to a discrepancy between reference MICs (BMD/AD).

The reference method used by the Belgium authorities to determine the TZP MIC was not known.

Data and organism will be forwarded to R&D. »

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2013/2.

Tableau 3. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/7180 (*Hafnia alvei*).

| Antibiotique | Résultat attendu | Total | S | S/I | I | R | * |
|---------------------------------|------------------|-------|-----|----------------|----|-----------------|----------------|
| Ampicilline | R | 158 | 3 | - | 3 | 152 | - |
| Amoxicilline ¹ | R | 2 | - | - | - | 2 | - |
| Amoxicilline-acide clavulanique | R | 162 | 1 | - | - | 161 | - |
| Céfuroxime | | 154 | 125 | 1 ² | 3 | 20 ³ | 5 ⁴ |
| Céfotaxime | S | 133 | 125 | - | 4 | 2 | 2 ⁵ |
| Ceftriaxone | S | 52 | 50 | - | - | 1 | 1 ⁶ |
| Ceftazidime ⁷ | | 6 | 4 | - | 1 | 1 | - |
| Céfépime ⁸ | | 1 | 1 | - | - | - | - |
| Pipéracilline-tazobactame | S | 155 | 116 | - | 25 | 14 | - |
| Méropénème | S | 154 | 153 | - | - | - | 1 ⁹ |
| Imipénème ¹⁰ | S | 1 | 1 | - | - | - | - |
| Amikacine | S | 141 | 141 | - | - | - | - |
| Gentamicine ¹¹ | S | 5 | 5 | - | - | - | - |

- ¹ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.
- ² Un laboratoire a mentionné « S si IV, I si peroral ».
- ³ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R: »
- Cliniquement inutilisable: ne pas conseiller
 - Pas de breakpoints d'EUCAST pour la céfuroxime et *Hafnia alvei*: nous répondons d'office « R ».
- ⁴ Cinq laboratoires ont bien mentionné le diamètre ou la valeur CMI mais ont laissé ouverte l'interprétation. Trois de ces laboratoires ont mentionné explicitement qu'il n'existe pas de breakpoints pour *Hafnia alvei*.
- ⁵ Deux laboratoires ont bien mentionné le diamètre ou la valeur CMI mais ont laissé ouverte l'interprétation. Ils ont ajouté les remarques suivantes:
- résultat masqué: pas d'interprétation
 - pas de breakpoints pour *Hafnia alvei*.
- ⁶ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre mais a laissé ouverte l'interprétation
- ⁷ Six laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftazidime au lieu d'une ou plusieurs des céphalosporines proposées.
- ⁸ Un laboratoire a la sensibilité à la céfépime au lieu de la ceftriaxone.
- ⁹ Un laboratoire a bien mentionné la valeur CMI mais a laissé ouverte l'interprétation
- ¹⁰ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu du méropénème
- ¹¹ Cinq laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Streptococcus viridans M/12077

Ce germe était caractérisé par la présence d'une résistance aux pénicillines, aux céphalosporines et aux macrolides. Il ne semblait cependant pas toujours tellement évident pour les laboratoires de pouvoir détecter ces résistances.

Le commentaire concernant l'enquête a donné un résumé clair de l'évolution dans la taxonomie et l'identification des streptocoques.

Il a également mentionné que **la résistance aux β -lactamines chez le *Streptococcus viridans*** est due à **un changement des « Penicillin Binding Proteins » (PBP's)**. En fonction du type de changement des PBP's, ceci peut induire une résistance aux différents sortes de β -lactamines. Les caractéristiques de résistance peuvent être échangées entre les *Streptococcus viridans* et les pneumocoques.

La détermination de la sensibilité à la pénicilline est nécessaire pour guider le traitement. L'EUCAST a déterminé des breakpoints cliniques pour *Streptococcus viridans* mais en ce qui concerne une endocardite par *Streptococcus viridans*, il réfère explicitement aux directives nationales pour le traitement. En Belgique, il n'existe pas de directives nationales officielles. Dans le Sanford Guide to Antimicrobial Therapy Belgian/Luxembourg Edition on réfère aux directives américaines, européennes et britanniques. La classification SIR n'est pas suffisante **pour la détermination de la sensibilité: la détermination de la valeur de CMI est nécessaire**. Suite à l'étalonnage du diamètre de la zone pour la diffusion par disque pour la pénicilline, qui a été effectué par l'EUCAST, il s'est avéré que la technique de diffusion par disque ne peut être utilisée que pour différencier les souches de *Streptococcus viridans* avec de valeurs de CMI ≤ 0.25 mg/L des souches résistantes avec une valeur de CMI > 2 mg/L

L'EUCAST dispose également de breakpoints cliniques pour la résistance à haut niveau à la gentamicine. Si la valeur de CMI est plus grande que 128 mg/L, il n'y a pas de synergie avec les pénicillines ou la vancomycine.

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2013/2.

Tableau 4 Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12077 (*Streptococcus viridans*)

| Antibiotique | Résultat attendu | Total | S | I | R | * |
|------------------------------|------------------|-------|-----|----|-----|-----------------|
| Pénicilline | R | 155 | 1 | 21 | 130 | 3 ¹ |
| Ampicilline | R | 105 | 2 | 8 | 90 | 5 ² |
| Amoxicilline ¹ | R | 7 | 1 | 1 | 5 | - |
| Céfotaxime | R | 114 | 10 | 36 | 65 | 3 ⁴ |
| Ceftriaxone | R | 94 | 6 | 19 | 67 | 2 ⁵ |
| Erythromycine | R | 129 | 27 | 34 | 63 | 5 ⁶ |
| Clarithromycine ⁷ | | 2 | 1 | - | - | 1 ⁶ |
| Clindamycine | S | 148 | 145 | - | 2 | 1 ⁹ |
| Vancomycine | S | 150 | 150 | - | - | - |
| Linézolide | S | 85 | 82 | - | - | 3 ¹⁰ |

¹ Trois laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la valeur CMI (qu'ils n'effectuent pas eux-mêmes) est nécessaire.

² Quatre laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la valeur CMI (qu'ils n'effectuent pas eux-mêmes) est nécessaire. Un laboratoire a mentionné qu'il n'existe pas de critères CLSI.

³ Sept laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

⁴ Trois laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la valeur CMI (qu'ils n'effectuent pas eux-mêmes) est nécessaire.

⁵ Deux laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la valeur CMI (qu'ils n'effectuent pas eux-mêmes) est nécessaire.

- ⁶ Trois laboratoires ont bien mentionné le diamètre ou la valeur CMI mais ont laissé ouverte l'interprétation. Deux laboratoires ont mentionné que l'EUCAST mentionne « insufficient evidence » pour cet antibiotique et ce germe.
- ⁷ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la clarithromycine i au lieu de l'érythromycine.
- ⁸ Un laboratoire a mentionné « I » pour les disques en papier ; pour le Phoenix il a mentionné la valeur CMI mais a laissé ouverte l'interprétation.
- ⁹ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre mais a laissé ouverte l'interprétation.
- ¹⁰ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre mais a laissé ouverte l'interprétation. Deux laboratoires ont mentionné que l'EUCAST ne possède pas de critères.

Aeromonas hydrophila M/4807

Trois laboratoires ont mentionné ne pas effectuer d'antibiogramme en routine et 4 autres laboratoires ont mentionné le diamètre ou la valeur de CMI sans interprétation qualitative pour cause d'absence de critères EUCAST et/ou CLSI. Quatre autres laboratoires ont mentionné utiliser les directives EUCAST pour les entérobactéries et 2 laboratoires utiliser les directives CLSI pour les entérobactéries. Deux laboratoires ont mentionné l'utilisation des breakpoints PK/PD et deux autres l'utilisation de ces breakpoints PK/PD et pour les antibiotiques où ces breakpoints n'existent pas ils utilisent les directives pour entérobactéries de l'EUCAST. Un laboratoire a mentionné utiliser les directives de la SFM. Finalement 2 laboratoires ont mentionné qu'ils transmettent un antibiogramme provisoire et qu'ils envoient la souche pour confirmation.

Pour la plupart des antibiotiques, il ne s'est posé aucun problème si ce n'est pour l'amoxicilline-acide clavulanique, pour laquelle le résultat « R » était attendu, il s'est avéré que +/- 1/3 des laboratoires ont considérés cette souche comme sensible

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2013/3.

Tableau 5 : Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4788 (*Aeromonas hydrophila*).

| Antibiotique | Résultat attendu | Total | S | I | R/S | R | * |
|---------------------------------|------------------|-------|------------------|----|----------------|----|-----------------|
| Amoxicilline-acide clavulanique | R | 150 | 51 | 22 | 1 ¹ | 72 | 4 ² |
| Céfotaxime | S | 126 | 122 ³ | 1 | - | - | 3 ⁴ |
| Ceftriaxone | S | 56 | 55 | - | - | - | 1 ⁵ |
| Ceftazidime ⁶ | S | 2 | 2 | - | - | - | - |
| Triméthoprime-sulfaméthoxazole | S | 153 | 147 ⁷ | 2 | - | - | 4 ⁸ |
| Amikacine | S | 129 | 124 | 1 | - | - | 4 ⁹ |
| Gentamicine ¹⁰ | S | 4 | 4 | - | - | - | - |
| Lévofloxacine | S | 82 | 80 | - | - | - | 2 ¹¹ |
| Ciprofloxacine | S | 148 | 144 | - | - | - | 4 ¹² |
| Norfloxacine ¹³ | S | 1 | 1 | - | - | - | - |
| Ofloxacine ¹⁴ | S | 1 | 1 | - | - | - | - |

¹ Un laboratoire a donné la réponse suivante: « Discordance entre Vitek, diffusion sur disque et E-test: → Induction de β-lactamases intrinsèques. Lors du traitement une combinaison avec un aminoglycoside (amikacine) ou fluoroquinolone est indiquée afin d'éviter l'induction de β-lactamases 1) J of microbiology, immunology and infection 2012, 45, 398-403, Chen et al 2) Up to date Aeromonas infections »

² Trois des laboratoires qui n'ont pas donné d'interprétation appartiennent aux laboratoires mentionnés ci-dessus qui ne donnent pas d'interprétation pour aucun antibiotique mais uniquement le diamètre ou la valeur de CMI. Un quatrième laboratoire donne uniquement pour l'amoxicilline-acide clavulanique la remarque: « Ne serait pas répondu. Néanmoins si on répondrait, ce serait, "probablement résistant". »

³ Un laboratoire a pourvu sa réponse de la remarque suivante: « Disques Neosensitabs: 2 x croissance jusqu'au bord du disque, 1 x 18 mm (S) pour AMC. L'E-test donne 8 µg/mL: S. Présence probable d'un ampC β-lactamase ou céphalosporinase inducibles (démonstré par les disques imipenem-pipéracilline/tazobactame avec un zone aplati au côté piptazo); →réponse pour les céphalosporines de 3e génération: une résistance peut se développer sous thérapie avec échec de traitement pour conséquence. »

⁴ Il s'agit de trois des laboratoires qui appartiennent aux laboratoires mentionnés ci-dessus qui ne donnent pas d'interprétation pour aucun antibiotique.

⁵ Il s'agit d'un des laboratoires qui appartient aux laboratoires mentionnés ci-dessus qui ne donnent pas d'interprétation pour aucun antibiotique.

⁶ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftazidime: un labo au lieu de la ceftriaxone; un labo au lieu de la céfotaxime et de la ceftriaxone.

⁷ Un laboratoire a accompagné sa réponse de la remarque suivante: « Pas encore défini!!! Valeur de CMI basse. »

⁸ Il s'agit des quatre laboratoires mentionnés ci-dessus qui ne donnent pas d'interprétation pour aucun antibiotique.

- ⁹ Trois des laboratoires qui n'ont pas donné d'interprétation appartiennent aux laboratoires mentionnés ci-dessus qui ne donnent pas d'interprétation pour aucun antibiotique mais uniquement le diamètre ou la valeur de CMI. Un quatrième laboratoire donne uniquement pour l'amikacine la remarque: « Le résultat n'est pas rapporté. »
- ¹⁰ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.
- ¹¹ Il s'agit de deux des laboratoires qui appartiennent aux laboratoires mentionnés ci-dessus qui ne donnent pas d'interprétation pour aucun antibiotique.
- ¹² Il s'agit des quatre laboratoires mentionnés ci-dessus qui ne donnent pas d'interprétation pour aucun antibiotique.
- ¹³ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la norfloxacin au lieu de la lévofloxacin.
- ¹⁴ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacin au lieu de la lévofloxacin et de la ciprofloxacine.

Salmonella Duisburg M/4807

Cette souche était complètement sensible; à quelques exceptions près, elle n'a posé aucun problème.

Le tableau suivant reprenant les résultats de l'enquête a été publiés dans le rapport global 2012/3.

Tableau 6 :Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4807 (*Salmonella* Duisburg).

| Antibiotique | Résultat attendu | Total | S | I | R | * |
|---------------------------------|------------------|-------|------------------|---|-----------------|----------------|
| Ampicilline | S | 157 | 146 | 1 | 10 | - |
| Amoxicilline ¹ | S | 1 | 1 | - | - | - |
| Amoxicilline-acide clavulanique | S | 149 | 146 ² | 1 | - | 2 ³ |
| Céfotaxime | S | 124 | 125 ² | 1 | - | 1 ⁴ |
| Ceftriaxone ⁵ | S | 10 | 10 | - | - | - |
| Ceftazidime ⁶ | S | 1 | 1 | - | - | - |
| Triméthoprime-sulfaméthoxazole | S | 159 | 159 | - | - | - |
| Quinolone | | | | | | |
| Ciprofloxacine | S | 128 | 111 ⁷ | - | 17 ⁸ | - |
| Lévofloxacine | S | 21 | 19 | - | 2 | - |
| Norfloxacine | S | 7 | 7 | - | - | - |
| Ofloxacine | S | 1 | 1 | - | - | - |
| Acide nalidixique | S | 5 | 2 | - | 2 | 1 ⁹ |
| Quinolone ¹⁰ | S | 12 | 10 ¹¹ | - | 2 | - |

¹¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

¹² Un laboratoire a pourvu ses résultats « S » pour l'amoxicilline-acide clavulanique et pour la céfotaxime de la remarque qu'en routine ces résultats ne seraient pas transférés au clinicien.

¹³ Deux laboratoires ont bien répondu le diamètre ou la valeur de CMI pour l'amoxicilline-acide clavulanique mais n'ont pas donné de résultat final ; ils ont donné la remarque que cet antibiotique ne serait pas répondu en routine pour ce germe.

¹⁴ Un laboratoire a bien répondu le diamètre pour la céfotaxime mais n'a pas donné de résultat final ; il a donné la remarque que cet antibiotique ne serait pas répondu en routine pour ce germe.

¹⁵ Dix laboratoires déterminé la sensibilité à la ceftriaxone au lieu de la céfotaxime.

¹⁶ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la ceftazidime au lieu de la céfotaxime.

¹⁷ Trois laboratoires ont pourvu leur réponse « S » d'une remarque:

- Également sur base du résultat « S » pour l'acide nalidixique

- Le Vitek ne teste pas une CMI < à 0.25 donc suivant les normes CLSI 2013, on ne sait pas si la souche est S ou I

- si souche < hémoculture; CMI à E-test pour cipro

¹⁸ Trois laboratoires ont pourvu leur réponse « R » d'une remarque:

- Deux laboratoires ont mentionné une résistance partielle pour les quinolones

- Un laboratoire a mentionné: « Cipro R car septicémie??? Cfr EUCAST 2013 »

¹⁹ Un laboratoire a mentionné que l'acide nalidixique n'est pas répondu, mais utilisé pour détecter la résistance aux FQ pour des isolats extra intestinaux.

²⁰ Douze laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

²¹ Un laboratoire a mentionné « Pas de traitement à priori sur une souche digestive. Etant donné l'absence de septicémie, les quinolones sont rendues S. »

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

Enquête 1

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang (P/5702 et P/7360) ont été envoyés. 172 laboratoires ont participé à l'enquête.

L'échantillon P/5702 contenait des microfilaires de *Wuchereria bancrofti*.

Wuchereria bancrofti (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 125 (73.1%) laboratoires. 119 (95.2%) d'entre eux ont répondu microfilaires comme stade d'évolution.

38 (22.1%) laboratoires ont répondu la présence d'autres microfilaires.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné entre autre le cycle de vie, la distribution géographique, la périodicité nocturne (et les différences de cette périodicité, dues à l'existence de variantes et aux processus physiologiques) et le diagnostic. Le diagnostic de laboratoire des infections par *W. bancrofti* repose sur la mise en évidence des microfilaires dans le sang périphérique. Les larves mesurent 240-300 µm de longueur et 7.5-10 µm de largeur et elles ont une gaine qui se colore difficilement par le Giemsa ou reste incolore. Les noyaux peuvent être distingués séparément et les premiers et derniers noyaux sont ovales. La queue est pointue et souvent incurvée (pas dans cette EEQ à cause de la fixation de l'échantillon) et l'extrémité de la queue ne contient pas de noyaux. Il existe un petit espace vide au niveau de la tête. La différence avec les autres microfilaires qui ont une gaine est due: à la présence de noyaux (sous-)terminaux chez *B. malayi* et *B. timori*, à la coloration de la gaine de *B. timori* par le Giemsa et aux noyaux très proches les uns des autres et la présence de noyaux jusqu'à la fin de la queue chez *Loa loa*.

Pour conclure, le commentaire a mentionné que la filariose lymphatique est reprise sur la liste des maladies à éradiquer.

L'échantillon P/7360 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.

Ce résultat a été confirmé par PCR.

Etant donné que la coloration a posé des problèmes pour un grand nombre de laboratoires, nous avons supprimé l'évaluation des résultats de cet échantillon. Il s'agissait d'un ancien échantillon, qui était déjà fixé: ces facteurs ont probablement contribué aux problèmes.

Quelques laboratoires ont néanmoins renvoyé leurs résultats (avec pour réponses *Plasmodium falciparum* ou *Plasmodium species*).

Enquête 2

Deux suspensions de selles formolées, P/12197 et P/12198, ont été envoyées.

156 laboratoires ont participé à cette enquête. Cependant, pour l'échantillon P/12198 il n'y a que 154 laboratoires qui ont renvoyé une réponse.

L'échantillon P/12197 contenait des kystes d'*Entamoeba dispar*.

La présence d'*Entamoeba dispar* (qui ne peut pas en être distingué d'*Entamoeba histolytica* sur seule base de la morphologie) a été confirmée par PCR. Les réponses *Entamoeba histolytica/dispar* sont considérées comme correctes.

Entamoeba histolytica/dispar, *histolytica* ou *dispar* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 124 (79.5%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 118 (95.2%) d'entre eux.

30 laboratoires ont répondu une autre espèce d'*Entamoeba* qu'*E. histolytica/dispar* et 11 laboratoires ont mentionné "*Entamoeba species*".

Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'enquête 2009/1 (sous le numéro P/8444).

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus en 2009 et 2013 pour ce même échantillon.

Tableau 2.1 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2009/1 et 2013/2.

| Réponse | P/8444 (2009/1) | P/12197 (2013/2) |
|---------------------------------------|-----------------|------------------|
| <i>Entamoeba histolytica / dispar</i> | 59.4% | 58.3% |
| <i>Entamoeba dispar</i> | 2.4% | 1.9% |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | 24.1% | 19.2% |

L'échantillon P/12198 contenait des œufs d'*Enterobius vermicularis*.

Enterobius vermicularis (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 127 (82.5%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 122 (96.1%) d'entre eux.

Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'enquête 2009/2 (sous le numéro P/8557).

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus en 2009 et 2013 pour ce même échantillon.

Tableau 2.2 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2009/2 et 2013/2.

| Parasite | P/8557 (2009/2) | P/12198 (2013/2) |
|--------------------------------|-----------------|------------------|
| <i>Enterobius vermicularis</i> | 88.9% | 82.5% |

Enquête 3

A l'occasion de la 3^e enquête les photos de 3 parasites (rares) ont été placées sur le site web (3 photos par « échantillon »): P/12532, P/12533 en P/12534.

154 laboratoires ont participé à cette enquête.

Les photos P/12532 montraient des œufs de *Fasciola species*.

108 (70.1%) laboratoires ont mentionné *Fasciola hepatica* et 42 (27.3%) *Fasciola species*, Pour *Fasciola species*, tous les laboratoires ont mentionné « œuf » comme stade d'évolution ; pour *Fasciola hepatica* 103 (95.4%) ont mentionné « œuf » et (4.6%) « œuf non-fécondé ».

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que d'un point de vue du laboratoire la meilleure réponse possible était « œufs de Fasciolidae ».

Les photos P/12533 montraient des oocystes de *Sarcocystis species*.

73 (47.4%) laboratoires ont mentionné *Sarcocystis species* et 67 (43.5%) *Sarcocystis hominis*. Le stade d'évolution « oocyste » a été mentionné par respectivement 22 (30.1%) et

23 (34.3%) d'entre eux. Respectivement 43 (58.9%) et 33 (49.3%) laboratoires ont mentionné « sporocyste » comme stade d'évolution.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que chez l'homme peuvent exister aussi bien *Sarcocystis sui hominis* que *Sarcocystis bovi hominis* (qui est parfois appelé simplement *S. hominis*). Il est presque impossible de faire une distinction microscopique entre ces deux espèces. Quand on retrouve ce parasite chez l'homme il est plus correct de répondre « *Sarcocystis* sp. ».

Les photos P/12534 montraient des œufs *Trichostrongylus* species.

121 (78.6%) laboratoires ont mentionné *Trichostrongylus* species, 117 (96.7%) d'entre eux ont mentionné les œufs et 3 (2.5%) ont mentionné « œuf fécondé ».

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné qu'en comparaison avec les œufs de *Trichostrongylus* sp. (superfamille Trichostrongyloidea) les œufs d'*Ancylostoma* et de *Necator* (superfamille Ancylostomatoidea) sont plus petits (55-75 µm) et ont des extrémités plus arrondies.

Utilisation du Toolkit

Le nombre de réponses envoyées par voie informatique (Toolkit) est respectivement 74.9%, 58.7% et 65.6% 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,...

En 2013, les paramètres sérologiques pour l'hépatite B, l'hépatite C, le CMV, le *Borrelia burgdorferi* l'EBV et le VIH ont été évalués. Il y avait également deux échantillons pour la détection de l'antigène du RSV. Le nombre de participants dépendait du paramètre.

L'hépatite B

Deux échantillons, S/5625 et IS/6631 ont été envoyés.

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

Les 2 échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :
« Dépistage lors de la grossesse »

Les résultats attendus pour l'hépatite B étaient:

S/5625:

Ag HBs positif
Ac HBs négatif
Ac HBc positif
Ag HBe négatif
Ac HBe positif

IS/6631:

Ag HBs négatif
Ac HBs négatif
Ac HBc négatif
(Ag HBe négatif)
(Ac HBe négatif)

165 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont réalisé la sérologie de l'hépatite B. 118 (71.5%) d'entre eux ont répondu par voie électronique ((toolkit).

Pour l'échantillon S/5625, les 165 laboratoires ont effectué 723 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs: 174 tests
- Ag HBs confirmation: 17 tests
- Ac anti-HBs: 160 tests
- Ac anti-HBc totaux: 159 tests
- IgM anti-HBc: 4 tests
- Ag HBe: 106 tests
- Ac anti-HBe: 103 tests

Trois laboratoires ont effectué 1 test, 4 laboratoires 2 tests, 44 laboratoires 3 tests, 10 laboratoires 4 tests, 87 laboratoires 5 tests, 14 laboratoires 6 tests et 3 laboratoires 7 tests.

Pour l'échantillon IS/6631, les 165 laboratoires ont effectué 666 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs: 171 tests
- Ac anti-HBs: 160 tests
- Ac anti-HBc totaux: 159 tests
- IgM anti-HBc: 2 tests
- Ag HBe: 88 tests
- Ac anti-HBe: 86 tests

Quatre laboratoires ont effectué 1 test, 3 laboratoires 2 tests, 67 laboratoires 3 tests, 5 laboratoires 4 tests, 82 laboratoires 5 tests, 3 laboratoires 6 tests et 1 laboratoire 7 tests.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ag HBs: Architect HBsAg (Abbott) (24.7% et 25.7%), Cobas HBsAg II (Roche) (14.4% et 14.0%), VIDAS HBsAg Ultra (bioMérieux) (10.3% et 8.8%), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (7.5% et 7.6%) et Modular HBsAg II (Roche) 7.5% et 7.6%)
- Ac anti-HBs: Architect anti-HBs (Abbott) (26.9%, les 2 échantillons), Cobas anti-HBs (Roche) (17.5%, les 2 échantillons), Modular anti-HBs (Roche) (9.4%, les 2 échantillons) et ADVIA Centaur anti-HBs 2 (Siemens) (7.5% et 6.9%)
- Ac anti-HBc totaux: Architect anti-HBc (Abbott) (27.7%, les 2 échantillons), Cobas anti-HBc (Roche) (15.7%, les 2 échantillons), Modular anti-HBc (Roche) (9.4%, les 2 échantillons), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (8.2% et 8.8%) et ADVIA Centaur anti-HBc Total (Siemens) (7.5%, les 2 échantillons)
- Ag HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (38.7% et 35.2%), Architect HBeAg (Abbott) (22.6% et 22.7%), Cobas HBeAg (Roche) (9.4% et 10.2%) et LIAISON HBe (DiaSorin) (9.4% et 9.1%)
- Ac anti-HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (35.9% et 32.6%), Architect anti-HBe (Abbott) (22.3% et 22.1%), Cobas anti-HBe (Roche) (9.7% et 10.5%) et LIAISON anti-HBe (DiaSorin) (9.7% et 10.5%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

S/5625: tous les participants ont trouvé l'Ag HBs positif (y compris le test de confirmation, s'ils l'ont effectué), 88.1% des participants ont trouvé les Ac anti-HBs négatifs, 99.4% les Ac anti-HBc positifs, tous ont trouvé les IgM HBc négatifs, 99.1% l'Ag HBe négatif et 99.0% les Ac anti-HBe positifs.

IS/6631: 99.4% des participants ont trouvé l'Ag HBs, les Ac anti-HBs Ac anti-HBc totaux négatifs; tous les participants ont trouvé les IgM HBc, l'Ag HBe et les Ac anti-HBe négatifs.

L'hépatite C

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

Les résultats attendus étaient :

| | |
|----------|--------------------|
| S/5625: | Anticorps négatifs |
| IS/6631: | Anticorps positifs |

161 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont déterminé les anticorps anti-HCV. 117 (72.7%) d'entre eux ont répondu par voie électronique ((toolkit).

Pour l'échantillon S/5625, 155 laboratoires ont effectué 1 test et 6 laboratoires 2 tests (au total ils ont donc effectué 167 tests) ; pour l'échantillon IS/6631, 145 laboratoires ont effectué 1 test et 16 laboratoires 2 tests au total ils ont donc effectué 177 tests.

Les trousse les plus utilisées sont: Architect HCV (Abbott) (27.5% et 26.6%), Cobas e anti-HCV II (Roche) (10.2% et 9.6%), ADVIA Centaur HCV (Siemens) (10.2% et 9.6%), Cobas e anti-HCV (Roche) (9.6% et 9.0%), Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV (Ortho Diagnostics) (9.0% et 8.5%) et Access HCV Ab Plus sur Unicel Dxl 800 (Biorad) (8.4% et 7.9%)

160 (99.4%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/5625 et un résultat positif pour l'échantillon IS/6631. Un laboratoire a probablement inversé les 2 échantillons.

Interprétation de l'hépatite B et C

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

Les interprétations attendues étaient les suivantes :

S/5625 : « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C »

IS/6631 : « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux »

156 (96.9%) laboratoires ont donné pour l'échantillon S/5625 l'interprétation « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C ». Deux laboratoires ont choisi « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux. » Les trois autres laboratoires ont référé à une infection chronique par et/ou un portage chronique de l'hépatite B sans évidence pour l'hépatite C.

159 (98.8%) laboratoires ont donné pour l'échantillon IS/6631 l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux » ou un variant de cette interprétation. Un laboratoire a choisi « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; il n'existe également aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C » et un autre laboratoire « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux ».

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné pour l'HBV que les résultats des Ag HBs et HBe était excellent. Cependant le nombre de tests sérologiques de confirmation pour l'Ag HBs très limités est à noter. Pour les déterminations des Ac anti-HBs, on remarque par contre un peu plus de variation dans les réponses avec au total 19 résultats non-négatifs dont 14 borderline. On remarquait un chevauchement dans les résultats quantitatifs des laboratoires qui ont répondu négatif et borderline. A ce sujet, il est important de noter **l'intérêt d'un suivi dans le temps à l'aide d'un contrôle de « run » indépendant (des firmes)**, étant donné qu'il n'est pas rare de remarquer une certaine variation au moment de changer d'un lot de réactifs à un autre ou même d'une trousse à une autre pour un même lot. Un autre élément à noter dans cette EEQ, est l'utilisation limitée des analyses des IgM anti-HBc (n=4 pour S/5625). En soi les IgM anti-HBc sont de bons marqueurs: une positivité indique une infection récente par HBV (< 6 mois). En cas de dépistage AgHBs positif, des résultats positifs des anti-HBc totaux avec IgM anti-HBc positifs, suggérer une infection.

Le dépistage primaire prénatal de l'HBV doit toujours être effectué par une détermination de l'Ag HBs, idéalement avec la possibilité d'effectuer un test de confirmation. Le dépistage des femmes enceintes pour l'AgHBs doit être effectué pour chaque grossesse. Si on trouve un AgHBs positif, il est conseillé d'effectuer une sérologie complète et la patiente devrait toujours être référée à un hépatologue pour une détermination exacte du statu HBV et un proche suivi de l'infection pré et postnatale, si c'est indiqué.

Complémentaire à la connaissance du statut de l'Ag HBe de la patiente, de plus en plus d'arguments scientifiques apparaissent pour conseiller **d'effectuer d'office une qPCR HBV avec une sensibilité analytique élevée chez une femme enceinte.** Ceci non pas comme test de confirmation, mais **afin de définir exactement son statut HBV et les risques et de, prendre les mesures thérapeutiques nécessaires** pour le fœtus et l'accouchement.

Seul le spécialiste médical qui connaît suffisamment le dossier complet de la patiente en question, **est capable de juger de l'intérêt et de la nécessité d'effectuer une qPCR HBV** dans chaque cas individuel et de l'appliquer. Il est quand-même à remarquer que dans cette EEQ 60% des laboratoires qui ont suggéré d'effectuer des tests complémentaires, conseillent immédiatement la PCR comme test de confirmation de première ligne. De cette façon, la place des tests sérologiques de confirmation semble être remise injustement en question.

Le commentaire a également décrit amplement la définition et les stades d'une infection chronique par HBV: nous référons au rapport global de l'enquête.

Le traitement des infections par HBV chez les femmes enceintes et l'importance du génotypage de l'HBV ont également été décrits.

Pour l'HCV le commentaire a également mentionné que les résultats étaient excellents. Le commentaire a cependant repris qu'en ce qui concerne l'interprétation correcte du statut d'HCV et l'estimation des risques infectieux, il est à noter qu'**une PCR est absolument nécessaire afin d'objectiver la réplication virale active chez une femme enceinte, et d'appréhender avec cette connaissance l'accouchement et le suivi du nouveau-né.**

En ce qui concerne l'HCV pendant la grossesse, **la présence de transmission verticale d'HCV est faible (1-6%).** Les facteurs qui ont une association cohérente pour un risque élevé de transmission périnatale d'HCV incluent la présence d'ARN d'HCV maternel au moment de l'accouchement (certaines mais pas toutes les études confirment qu'une concentration élevée d'ARN d'HCV dans le sérum/plasma est associée à un risque élevé de transmission) et une coïnfection avec le VIH chez la mère. La transmission serait plus fréquente chez un fœtus/nouveau-né féminin que chez des garçons. De plus, une histoire d'utilisation de drogue en IV par la mère est un facteur prédisposant pour la transmission périnatale d'HCV, indépendamment d'une coïnfection par le VIH. En outre une hépatite maternelle post-transfusionnelle (qui est heureusement très rare depuis les années '90) est hautement associée à une transmission verticale. **Le traitement antiviral de l'HCV pendant la grossesse est actuellement exclu** vu les caractéristiques tératogènes (et embryocide dans les études de cobayes) de la ribavirine. Les nouveaux inhibiteurs de protéase ne sont pas non plus approuvés pour une utilisation pendant la grossesse.

L'Ag du RSV

Il y avait 2 échantillons pour la recherche de l'antigène du RSV, Ag/12121 et Ag/12122. Les résultats des 2 échantillons étaient positifs.

133 laboratoires ont participé à cette enquête.

Pour les 2 échantillons, 126 laboratoires ont effectué un test et 7 laboratoires 2 tests (au total donc 140 tests).

48.1% des laboratoires ont renvoyé leurs résultats via la base de données électronique (Toolkit).

Les réactifs les plus utilisés sont BinaxNOW RSV (Alere Health) (40.0%), RSV K-Set (Coris Bioconcept) (20.0%), Tru RSV (Meridian) (13.6%) et Directigen EZ RSV test kit (Becton Dickinson) (8.6%),

Pour l'échantillon Ag/12121, 130 (97.7%) laboratoires ont obtenu un résultat positif, 2 un résultat borderline et un laboratoire a obtenu des résultats différents (positif et négatif) avec les 2 trousse qu'il a utilisé. L'échantillon Ag/12122 a été considéré comme positif par tous les participants.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné que les tests basés sur la détection de l'antigène du RSV ne sont utiles que pour les enfants symptomatiques en dessous de 5 ans. Le FDA n'a approuvé ces tests que pour ce groupe-cible et ceci est repris explicitement dans l'insert de la trousse.

Chez les enfants plus âgés et chez les adultes, l'évolution d'une infection par RSV est souvent beaucoup moins grave.

Le commentaire a également constaté qu'il ne s'est pas produit de problème majeur dans l'enquête.

La borréliose

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Borrelia, IS/8946 et IS/12199.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

Echantillon IS/8946

Prélèvement effectué chez un garde forestier de 60 ans qui se plaint de douleurs articulaires depuis quelques semaines.

Echantillon IS/12199

Prise de sang d'un chez un garçon de 15 ans, présentant un nodule violacé au niveau de l'oreille droite et habitant dans une région boisée.

Des échantillons différents ont été envoyés aux laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair.

Les résultats attendus étaient :

IS/8946: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Absence d'anticorps

IS/12199:
Laboratoires pairs
IgG positif
IgM négatif
Interprétation: Présence d'anticorps
Laboratoires impairs
IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Absence d'anticorps

129 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 250 tests sur l'échantillon IS/8946; sur l'échantillon IS/12199 les 76 laboratoires pairs ont effectué 171 tests et les 53 laboratoires impairs 108 tests.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 70.5%.

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau S1.

Tableau S1 Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour la détermination des anticorps anti-Borrelia de l'enquête 2013/1.

| Nombre de tests | Type de trousse | Type de technique | IS/8946 | IS/12199 (pair) | IS/12199 (impair) |
|-----------------|------------------------|---------------------------------------|------------|-----------------|-------------------|
| 1 test | Ac. tot. | générale | 3 | 1 | - |
| | | anti-C6 | 8 | 4 | 3 |
| 2 tests | IgG et IgM | nonblot - nonblot | 111 | 53 | 47 |
| 3 tests | Ac. tot. et IgG et IgM | générale – nonblot – nonblot | - | 1 | - |
| | | générale – blot – blot | - | 1 | - |
| | | antiC6 – blot – blot | - | 1 | - |
| | 2 x IgG et IgM | nonblot – blot- nonblot | 1 | 9 | 1 |
| 4 tests | 2 x IgG et 2 x IgM | nonblot – nonblot - nonblot - nonblot | 2 | 1 | 1 |
| | | nonblot – blot – nonblot – blot | 4 | 5 | 1 |
| | | | | | |
| Total | | | 129 | 76 | 53 |

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps totaux (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA (Immunelectrics (72.7%) en VIDAS Lyme IgG+IgM (bioMérieux) (27.3%)
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (42.4% et 38.1) et VIDAS Lyme IgG (bioMérieux) (32.8% et 29.5%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (39.5% et 33.1%) et VIDAS Lyme (IgM) (bioMérieux) (38.0% et 31.8%)

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux, pour les IgG et pour les IgM pour l'échantillon IS/8946, indépendamment de la technique utilisée.

128 (99.2%) laboratoires ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia » ; un laboratoire a choisi l'interprétation « Répéter les tests dans 4-6 semaines ».

Echantillon IS/12199: laboratoires pairs

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif, indépendamment de la technique utilisée. Pour les IgG, avec les tests non-blot 62 (89.8%) laboratoires ont obtenu un résultat positif, trois un résultat borderline et quatre un résultat négatif. Pour les IgG avec les tests blot 17 laboratoires ont obtenu un résultat positif et 3 un résultat borderline.

Pour les IgM, avec les tests non-blot 67 (97.1%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 2 un résultat borderline; avec les tests blot tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

57 (75.0%) laboratoires ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. »; 8 (10.5%) laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. ». Trois laboratoires ont référé à la présence des anticorps IgG et 4 ont choisi l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia ». Quatre laboratoires ont proposé leur propre interprétation (qui ciblait plutôt la clinique).

Echantillon IS/12199: laboratoires impairs

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux, pour les IgG et pour les IgM, indépendamment de la technique utilisée et ils ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia ».

Pour l'échantillon IS/8946 quelques laboratoires ont proposé de répéter les tests après 2-4 ou 4-6 semaines. Etant donné qu'il s'agit d'un patient avec des douleurs articulaires, on peut supposer que les anticorps auraient déjà dû être présents et une répétition de l'examen est inutile.

Le commentaire a également discuté plus amplement la problématique qui a été soulevée par l'échantillon IS/12199 envoyé aux laboratoires pairs. La présence des IgG en absence des IgM indique une infection dans le passé. Les anticorps peuvent rester présents pendant de nombreuses années et ne protègent pas contre une nouvelle infection. Dans ce cas précis on pourrait renoncer à un immunoblot étant donné qu'il n'y a pas de lien entre la présence des anticorps IgG et le tableau clinique.

En général le diagnostic en deux étapes est encore toujours valide. Même si les EIA de 3^e génération, qui utilisent des antigènes recombinants spécifiques ou des peptides synthétiques spécifiques (C6), ont une spécificité nettement plus grande que les tests de 2^e génération, elle reste plus basse que celle des immunoblots et le diagnostic en deux étapes reste de vigueur **même si on utilise les tests de 3^e génération.**

Malgré un profil sérologique qui correspond plutôt à une infection dans le passé, le tableau clinique était suggestif d'un lymphocytome borrélien, comme mentionné par plusieurs laboratoires. Dans 2-3% des cas, la maladie de Lyme s'exprime comme un lymphocytome, éventuellement en présence de ou précédé par un érythème migrant. Un lymphocytome est retrouvé plus fréquemment chez les enfants et dans ce cas de préférence au lobe de l'oreille

ou à l'hélix. Chez les adultes on le retrouve à l'aréole ou au scrotum. Même si les patients sont d'habitude séropositifs quand ils se présentent chez leur médecin, il est possible que les anticorps ne soient pas encore détectables au moment où le tableau clinique se présente. Aussi bien des laboratoires pairs (l'échantillon avec présence des anticorps IgG) que des laboratoires impairs (l'échantillon sans anticorps anti-*Borrelia*) ont donné la remarque que, **vu que le tableau clinique ressemblait à un lymphocytome borrélien, la sérologie devait être répétée. Si la clinique et l'anamnèse ne donnent pas assez de clarté concernant le diagnostic, ceci est en effet indiqué.**

Le CMV

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

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/12200: Les parents d'un enfant de 8 ans consultent le médecin généraliste parce que l'enfant présente : un syndrome grippal accompagné de myalgies, la fièvre et un malaise généralisé. L'échantillon soumis au Q.C. a été prélevé 3 semaines après le début des manifestations cliniques.

IS/12201: Deux semaines après, la mère de l'enfant mentionné ci-dessus, consulte son généraliste avec les mêmes symptômes. Elle est enceinte de 2 mois.

Les résultats attendus étaient :

IS/12200: IgG positif
 IgM positif

IS/12201: IgG positif
 IgM positif

Ces échantillons ont déjà été envoyés dans l'enquête 2008/1 sous les numéros respectifs S/7800 et S/7801.

159 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 417 tests pour l'échantillon IS/12200 et 424 tests pour l'échantillon IS/12201.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 71.1%.

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau S2.

Tableau S2 Nombre de participants répartis par paramètre pour CMV (2013/2)

| N tests | Paramètre | Nombre de labs | |
|--------------|-----------------------------|----------------|------------|
| | | IS/12200 | IS/12201 |
| 1 test | IgG | 3 | 3 |
| 2 tests | Ac totaux + IgG | 1 | 1 |
| | IgG + IgM | 78 | 73 |
| 3 tests | IgG + IgM + Avidité IgG | 54 | 58 |
| | IgG + 2 IgM | 6 | 6 |
| 4 tests | IgG + 2 IgM + Avidité IgG | 8 | 8 |
| | 2 IgG + IgM + Avidité IgG | 1 | 1 |
| 5 tests | 2 IgG + 2 IgM + Avidité IgG | 8 | 8 |
| | IgG + 2 IgM + 2 Avidité IgG | - | 1 |
| Total | | 159 | 159 |

Les trousseaux les plus utilisés pour les différents paramètres sont:

- IgG (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): Architect CMV IgG (27.4%), Liaison CMV IgG (Diasorin) (16.7%), VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (16.7%) et Cobas CMV IgG (Roche) (14.3%)
- IgM: Architect CMV IgM (23.7% et 23.6%), VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (22.0% et 23.0%), Liaison CMV IgM (Diasorin) (15.8% et 15.2%) et Cobas CMV IgM (Roche) (13.6% et 13.5%)
- Avidité: VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (64.8% et 64.9%) et Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (19.7% et 19.5%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

Le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux, a obtenu un résultat positif pour l'échantillon IS/12200.

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

124 (80%) laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgM; 13 ont obtenu un résultat borderline, 10 un résultat négatif et 8 laboratoires ont obtenu des résultats différents (positif/borderline) pour les différents trousseaux qu'ils ont utilisés

37 laboratoires ont obtenu un résultat intermédiaire pour l'avidité, 26 laboratoires un résultat faible et 7 laboratoires un résultat élevé; 1 labo n'a donné que le résultat quantitatif de l'avidité.

83 (52.2%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV » ou une variante. 52 (32.7%) laboratoires ont mentionné « Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire » (cette confirmation peut être effectuée par tests complémentaires, par un nouveau prélèvement, par une combinaison des deux ou encore par d'autres moyens). 21 (13.2%) laboratoires ont choisi « Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV ». Trois laboratoires ont préféré ne pas proposer d'interprétation étant donné qu'ils n'ont déterminé que les IgG.

Le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux, a obtenu un résultat positif pour l'échantillon IS/12200.

156 (89.1%) laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG pour cet échantillon. Deux laboratoires ont obtenu un résultat borderline. Un laboratoire a obtenu des résultats différents (positif/borderline) pour les différents trousseaux qu'il a utilisés.

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

65 laboratoires ont obtenu une avidité faible; 5 laboratoires une avidité élevée, quatre laboratoires une avidité intermédiaire et 1 laboratoire a obtenu des résultats différents (faible/élevée) pour les différents trousseaux qu'il a utilisés ; 1 labo n'a donné que le résultat quantitatif de l'avidité.

93 (58.5%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV » ou un variant. 62 (39.0%) laboratoires ont mentionné « Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire » (cette confirmation peut être effectuée par tests complémentaires, par un nouveau prélèvement, par une combinaison des deux ou encore par d'autres moyens). Un laboratoire a répondu « Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV mais une réinfection ne peut pas être exclue ». Trois laboratoires ont préféré de ne pas proposer d'interprétation étant donné qu'ils n'ont déterminé que les IgG.

Les firmes dont un grand nombre d'utilisateurs ont obtenu un résultat négatif et/ou borderline pour les IgM de l'échantillon IS/12200 ont été contactées avec la demande d'examiner ces échantillons.

Le centre de référence (CPLS à Marseille) de la firme Analis (Acces, Unicel) nous a communiqué qu'ils ont pu confirmer les résultats (borderline) des participants belges. Cette constatation sera suivie pour estimer sa fréquence.

La firme bioMérieux nous a communiqué l'information suivante :

« **Analyse des résultats en Vidas CMVM:**

IS/12200 : Sur les 39 résultats exploitables en Vidas CMVM, les résultats varient de **0.84** (équivoque) à **1.24** (positif).

La zone équivoque en Vidas CMVM est $>$ ou $= 0.7$ à < 0.9 .

La variabilité observée en inter-lot chez nos utilisateurs est inférieure à celle attendue lors des contrôles des lots en interne.

Pour exemple, un sérum utilisé dans la sérothèque du laboratoire de contrôle et ayant une cible à 1.12 aura pour normes 0.78 - 1.46.

Les résultats obtenus par les laboratoires belges sur ce Contrôle de Qualité sont dans les performances attendus de notre coffret.

Il est acceptable d'avoir des résultats équivoques sur un sérum positif faible. Dans cette étude, 7 résultats équivoques sur 39 dosages, soit moins de 20% des dosages. Ce ratio est cohérent avec l'ensemble des dosages réalisés sur les autres techniques.

Des investigations portant sur quelques dosages en interne n'apporteront pas d'informations supplémentaires sur la cible (faiblement positif) ni sur la variabilité de ce Contrôle.»

La firme Siemens nous a communiqué l'information suivante :

« Pour commencer la firme a contrôlé la précision de la trousse en analysant la variabilité de chaque lot de trousse à l'aide du calibreur étant donné que la valeur de celui-ci kit est située dans les régions basses du cut off et qu'il est utilisé pour les critères d'acceptation pour la mise en disponibilité du lot pour les clients (Tableau S3).

Tableau S3 test de précision pour les lots de trousse CMV IgM

| L2KCM Adjustor Precision Run on Bead Pre Pack | | | | | | | | | | |
|---|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| L2KCM Kit Lot | 222 | 223 | 224 | 225 | 226 | 227 | 228 | 229 | 230 | 231 |
| Ratio | 0.88 | 0.85 | 0.87 | 0.85 | 0.92 | 0.83 | 0.88 | 0.89 | 0.88 | 0.84 |
| %CV | 2.90 | 2.97 | 4.41 | 2.33 | 6.35 | 5.67 | 4.70 | 3.66 | 4.37 | 4.25 |
| Acceptance Criteria SPE-L-187 | Less than or equal to 15% | | | | | | | | | |

Les lots 227 et 228, qui étaient impliqués dans les résultats aberrants de l'enquête, sont mentionnés et montrent une précision validée pour utilisation étant donné qu'ils répondent aux critères.

En plus ces lots ont été utilisés pour la vérification de l'efficacité (Value efficiency; ve) en analysant des échantillons avec des valeurs plus élevées et plus basses que le cut-off ; les résultats sont présentés dans les figures 1 et 2.

Figure 1: VE de différents lots pour les valeurs plus basses

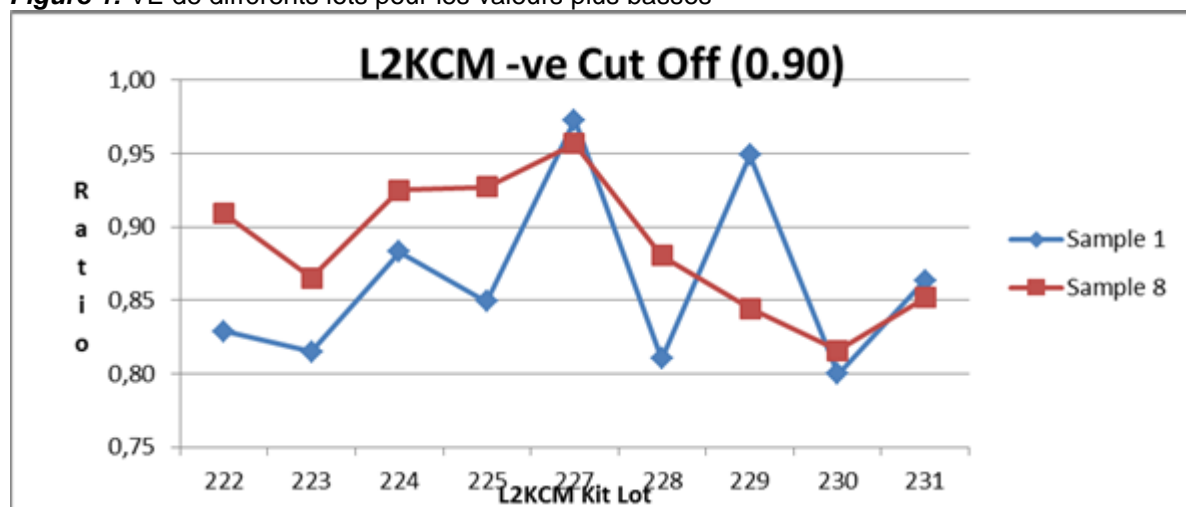
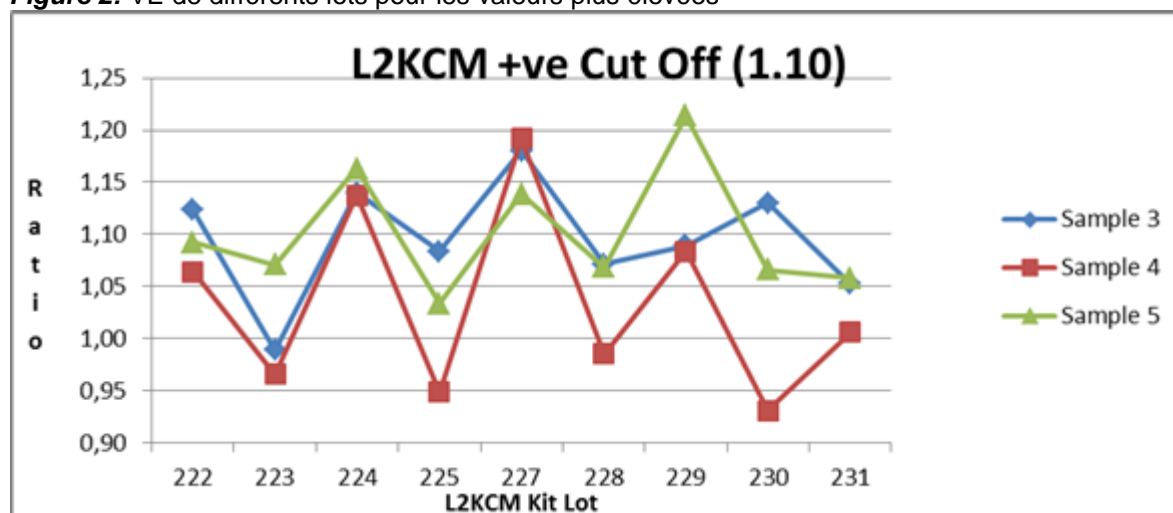


Figure 2: VE de différents lots pour les valeurs plus élevées



Comme on peut le constater, la plupart des lots rapportent correctement les valeurs attendues: nous pouvons donc dire que notre essai est bien capable de faire la distinction entre réactif et non-réactif. La variabilité dans les échantillons de patients se reflète également dans la performance de la trousse mais en relation de la pertinence clinique: p.ex. le lot 228 rapporte pour l'échantillon 1 une valeur entre 0,85 et 0,90 et pour l'échantillon 8 une valeur entre 0,8 et 0,85. Les deux échantillons ont des valeurs différentes mais tombent toujours sous le critère de négativité (non-réactif) comme mentionné dans l'insert.

Etant donné que les examens mentionnés ci-dessus représentent la validation interne, nous avons ensuite examiné la performance de notre essai pour des contrôles indépendants auxquels la plupart de nos essais sont soumis, comme pour les contrôles de l'ISP, à savoir les contrôles d'UK Neqas Microbiology, 'Diagnostic Serology Hepatitis' dans lequel les CMV IgM sont repris comme paramètre. Dans tous les rapports de l'année passée (Oct 2012 – Avr 2013), nous pouvons constater que la trousse de Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV IgM donne de bons résultats.

En plus nous avons examiné les rapports du CAP (College of American Pathologists) pour les performances de la trousse Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV étant donné que ces contrôles utilisent des échantillons « poolés » avec une matrice artificielle. Dans les deux rapports (VR3-A en VR3-B) les prestations de la trousse Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV sont très bons: pour l'échantillon VR3-B (enquête avec IgM et IgG positives) le score de l'IMMULITE 2000/XPi est de 100% pour tous les composants et il faut remarquer que pour les CMV IgM il existe une variabilité entre les différentes trousse. Pour l'échantillon VR3-A (enquête avec absence d'IgM et d'IgG) le score de l'IMMULITE 2000/XPi est presque de 100% pour tous les composants à l'exception des IgG pour lesquels au total 7 participants, parmi lesquels 1 utilisateur d'IMMULITE ont mentionné des résultats discordants.

Vu cette information, nous pouvons conclure que la trousse Siemens IMMULITE 2000/XPi CMV IgM fonctionne correctement et selon les directives prédéfinies. Etant donné que plusieurs analyses de l'échantillon S/12200 effectuées par Siemens Global donnent toujours un résultat négatif proche du cut-off (entre 0,8 et 0,9) nous ne pouvons conclure que l'intégrité de l'échantillon a mené à ce résultat. Nous constatons cette observation pour la dernière enquête pour laquelle presque tous les utilisateurs ont obtenu un résultat négatif, tandis qu'en 2008 ils avaient encore obtenu un résultat faible positif. »

La firme bioMérieux a également effectué une investigation concernant les résultats obtenus pour l'avidité sur les 2 échantillons (IS/12200 et IS/12201). Vous trouvez leurs conclusions ci-dessous :

« Analyse des résultats en Vidas CMV avidité :

Les résultats analysés sont ceux-ci :

IS/12200 : n = 46; 20 faibles; 25 intermédiaires et 1 ininterprétable.

Sur N = 45, médiane = 33.4% avec min 23.0% et max 56.0%

Je transforme les % en rapports comme le calcul est demandé dans la notice soit des résultats compris entre **0.23** et **0.56**

1^{ère} hypothèse : Utilisation du coffret Vidas CMVU --> pas possible car tous les résultats seront intermédiaires (0.20 - 0.80)

2^{ème} hypothèse : Utilisation du coffret Vidas CMVA --> cohérent avec une zone intermédiaire entre 0.40 et 0.65

IS/12201 : n = 50; 46 faibles; 3 intermédiaires et 1 ininterprétable.

Sur N = 49, médiane = 16.0% avec min 10.0% et max 27.0%

Je transforme les % en rapports comme le calcul est demandé dans la notice soit des résultats compris entre **0.10** et **0.27**

1^{ère} hypothèse : Utilisation du coffret Vidas CMVU --> cohérent avec une zone intermédiaire entre 0.20 et 0.80

2^{ème} hypothèse : Utilisation du coffret Vidas CMVA --> pas possible car tous les résultats seront faibles

Le plus probable est un mélange des résultats entre les deux coffrets qui ont des interprétations différentes. Est-il possible de le confirmer par l'analyse des données détaillées ?

Des investigations portant sur quelques dosages en interne n'apporteront pas d'informations supplémentaires :

IS/1200 avec une valeur cible à 0.33 dont l'interprétation sera différente selon le coffret utilisé.

IS/1201 avec une valeur cible à 0.16 dont l'interprétation sera faible dans la majorité des cas mais peut être trouvé intermédiaire avec Vidas CMVU car proche de la borne inférieure de zone intermédiaire ».

L'examen de la firme Abbott sur l'échantillon a confirmé les résultats obtenus par les participants (valeurs élevées pour l'Architect et valeurs basses pour les autres méthodes).

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que pour l'échantillon IS/12200 la grande majorité des participants, 93,5% (145 des 155), ont rapporté un résultat positif et/ou positif/borderline pour les IgM CMV: étant donné qu'il s'agissait d'un échantillon avec un résultat pour les IgM CMV qui était proche de la valeur cut-off pour positivité, nous pouvons considérer que tous ces résultats sont acceptables. Une durée de maladie de 3 semaines peut déjà faire supposer une baisse des IgM CMV. 45% (71 des 159) des laboratoires ont effectué une détermination de l'avidité des IgG CMV sur cet échantillon. Seuls 20% (14 des 71) des laboratoires qui ont effectué cette détermination de l'avidité des IgG CMV, ont mentionné ne pas effectuer ce test en routine sur cet échantillon. **Une détermination de l'avidité des IgG CMV ne se justifie cependant pas dans ce contexte clinique et doit être utilisée dans des situations cliniques dans lesquelles le timing réel de l'infection a des conséquences pour la thérapie** (p.ex. 1^{er} trimestre de la grossesse, comme était le cas pour l'échantillon S/12201). Dans la situation clinique de l'échantillon IS/12200 l'avidité des IgG CMV peut être considérée comme inutile (voir plus haut) et la recherche directe du CMV (culture urinaire, PCR) n'apportera pas d'avantage diagnostique supplémentaire étant donné qu'il existe une excrétion virale aussi bien dans les infections primaires que secondaires dans différents liquides organiques.

Pour l'échantillon IS/12201, 7% des laboratoires ont rapporté incorrectement une avidité élevée. Un résultat analytique élevé pour l'avidité a mené à une interprétation incorrecte de réinfection ou réactivation. Ceci illustre clairement non seulement les différences connues

entre les différents tests d'avidité qui sont disponibles sur le marché, mais également **le risque de déterminer la durée d'une infection maternelle par CMV uniquement sur base du résultat de l'avidité** : il faut recommander l'interprétation d'un profil sérologique global ainsi que l'utilisation des tests IgM spécifiques du CMV. Contrairement au cas précédent, **on peut conseiller dans ce cas-ci, dans le contexte du début de grossesse, d'effectuer la détermination de l'avidité pour faire la distinction entre une infection primaire et secondaire par CMV** qui ont des risques très différents en ce qui concerne la transmission du CMV de la mère au fœtus. Les méthodes pour la recherche du virus lui-même ou les composants viraux (culture urinaire, détection de l'Ag, PCR) ne sont pas à conseiller étant donné qu'il n'y a pas de possibilité de faire la distinction entre les infections primaires et secondaires et qu'ils n'ont pas de valeur prédictive pour le risque d'infection fœtale.

L'EBV

2 échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de l'EBV.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/4173: Une étudiante de 19 ans se plaint de frissons, d'une faible fièvre, d'un mal de tête, d'un manque d'appétit, et d'une forte fatigue. Elle se présente chez son généraliste où une prise de sang est effectuée.

IS/11220: Une semaine plus tard, son petit ami se présente chez son généraliste avec des plaintes semblables. Le médecin effectue également chez lui une prise de sang.

Les résultats attendus étaient :

S/4173: Ac. hétérophiles : négatif
 IgG (totaux, VCA, EBNA): positif
 IgM (totaux, VCA): négatif
 Interprétation : Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV

IS/11220: Ac. hétérophiles : négatif
 IgG (totaux, VCA, EBNA): positif
 IgM (totaux, VCA): négatif
 Interprétation : Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV

147 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué sur les 2 échantillons 464 tests (94 Ac. hétérophiles, 9 IgG totales, 10 IgM totales, 95 VCA IgG, 25 VCA-EA IgG, 133 VCA IgM, 88 EBNA IgG, 8 EA IgG et 2 EA IgM).

Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau S4

Tableau S4 Nombre de participants répartis par paramètre pour l'EBV (2013/3)

| Nombre de tests | Paramètre | S/4173 | IS/11220 |
|-----------------|---|------------|------------|
| 1 test | Ac. Hétérophiles | 4 | 4 |
| 2 tests | VCA IgG + VCA IgM | 17 | 17 |
| | VCA-EA IgG + VCA IgM | 4 | 4 |
| | EBNA IgG + VCA IgM | 2 | 2 |
| 3 tests | Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM | 23 | 23 |
| | Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM | 5 | 5 |
| | Ac. Hétérophiles + IgG Totales + IgM Totales | 5 | 5 |
| | Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + VCA IgM | 11 | 11 |
| | Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + IgM Totales | 1 | 1 |
| | Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + EA IgM | 1 | 1 |
| | VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG | 17 | 17 |
| | VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG | 10 | 10 |
| | IgG Totales + IgM Totales + EBNA IgG | 1 | 1 |
| 4 tests | Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG | 29 | 29 |
| | Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG | 6 | 6 |
| | Ac. Hétérophiles + IgG Totales + IgM Totales + EBNA IgG | 2 | 2 |
| | VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG | 2 | 2 |
| 5 tests | Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG | 5 | 5 |
| | Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + IgG Totales + IgM Totales | 1 | 1 |
| 6 tests | Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG + EA IgM | 1 | 1 |
| Total | | 147 | 147 |

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ac hétérophiles: Clearview IM (Alere Health) (68.1% les 2 échantillons)
- IgG totaux: Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens) (100%, les 2 échantillons)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100%, les 2 échantillons)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (DiaSorin) (54.7% les 2 échantillons) et Immulite EBV VCA IgG (Siemens) (13.7% et 12.6%)
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (DiaSorin) ((40.9% et 39.8%) et VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (26.1% et 25%)
- EA IgG: Liaison EA IgG (DiaSorin) (62.5% les 2 échantillons)
- IgM totaux: Enzygnost anti-EBV IgM II (Siemens) (100%, les 2 échantillons)
- VCA IgM: Liaison EBV IgM (DiaSorin) (42.9% les 2 échantillons), VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (21.8% les 2 échantillons) et Immulite EBV VCA IgM Elisa (Siemens) (11.3% les 2 échantillons)

S/4173

93 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat positif pour les Ac. hétérophiles.

Tous les résultats pour les IgG totales, IgG VCA-EA et IgG EBNA étaient positifs. Pour les IgG VCA 93 laboratoires ont obtenu un résultat positif, un laboratoire un résultat borderline et un laboratoire un résultat négatif. Les résultats des IgG EA étaient tous négatifs.

Tous les résultats pour les IgM, indépendamment de la nature de ces IgM, étaient négatifs.

96.6% des laboratoires ont donné l'interprétation correcte : « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ». Trois laboratoires (qui n'ont déterminé que les Ac. hétérophiles) ont référé à la nécessité d'effectuer une sérologie complémentaire d'EBV afin de pouvoir donner une interprétation correcte. Un laboratoire a donné l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; une confirmation est nécessaire par: tests supplémentaires (PT, formule leucocytaire) + un nouveau prélèvement »; et 1 laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac. hétérophiles) a mentionné « sérologie négative pour EBV »

S/11220

93 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire (le même que pour S/4173) un résultat positif pour les Ac. hétérophiles.

Tous les résultats pour les IgG totales, IgG VCA-EA et IgG EBNA étaient positifs. Pour les IgG VCA 94 laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif. Les résultats des IgG EA étaient tous négatifs.

Pour les IgM totales, 9 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat positif. Pour les IgM VCA 132 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat positif. Pour les IgM EA tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

96.6% des laboratoires ont donné l'interprétation correcte : « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ». Trois laboratoires (qui n'ont déterminé que les Ac. hétérophiles) ont référé à la nécessité d'effectuer une sérologie complémentaire d'EBV afin de pouvoir donner une interprétation correcte. Un laboratoire a donné l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; une confirmation est nécessaire par: tests supplémentaires (PT, formule leucocytaire) + un nouveau prélèvement »; et 1 laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac. hétérophiles) a mentionné « sérologie négative pour EBV »

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que l'interprétation attendue pour les 2 échantillons : « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV » a été répondu par la grande majorité des laboratoires. On peut cependant faire quelques remarques.

Un laboratoire qui n'a déterminé que les anticorps hétérophiles, a donné comme interprétation « Sérologie négative pour EBV ». Une telle interprétation sur seule base de la détermination des anticorps hétérophiles n'est évidemment pas correcte. **La présence des anticorps hétérophiles**, s'ils sont demandés dans le contexte clinique adéquat, a une « **relativement** » **bonne spécificité pour une infection aiguë par EBV**. **La sensibilité** par contre **est relativement basse chez les enfants**, mais même chez les adolescents et les adultes (surtout chez les vieilles personnes) la sensibilité n'est pas de 100%. Des anticorps hétérophiles faux positifs peuvent être retrouvés chez des patients avec une leucémie, un lymphome, une infection par le virus de la rubéole,...En plus les **anticorps hétérophiles** ne donnent **aucune information concernant une infection ancienne**.

Un laboratoire a donné l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV » en dépit des résultats analytiques corrects (EBNA IgG et VCA IgG positifs et VCA IgM et anticorps hétérophiles négatifs). Une infection primaire par EBV est caractérisée par la présence précoce d'IgM anti-VCA. Quand les IgG anti-VCA apparaissent, les IgM anti-VCA diminuent jusqu'à ce qu'ils aient complètement disparu. Les IgG anti-VCA restent présents à vie chez les personnes immunocompétentes. Les IgG EBNA-1 apparaissent d'habitude 6 à 12 semaines après le début des symptômes et restent également présents à vie. La présence des EBNA-1 exclut définitivement une infection primaire récente. Mais toutes les personnes ne produisent pas d'IgG EBNA-1 et en plus les IgG EBNA-1 peuvent disparaître de nouveau.

Une **infection ancienne par EBV** est donc **caractérisée par l'absence d'IgM anti-VCA et par la présence des IgG anti-VCA et anti-EBNA**.

Le VIH

Deux échantillons « prêts-à-l'emploi » (IS/12462 en IS/12495) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

L'échantillon IS/12462 était le surnageant d'une culture virale qui avait été dilué dans un plasma humain négatif, il n'y avait pas de présence d'anticorps. Cet échantillon était donc réactif avec les tests de 4^e génération mais ne pouvait pas être détecté par les tests de 3^e génération.

L'échantillon IS/12495 était négatif.

164 laboratoires belges et luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Les laboratoires ont effectué 188 tests de dépistage sur l'échantillon S/12642 et 178 tests de dépistage sur l'échantillon IS/12495.

Le tableau S5 montre la distribution par génération de trousse.

Tableau S5 Distribution par génération des trouses utilisées pour la détection du VIH.

| N tests | Génération | IS/12462 (N labos) | IS/12495 (N labos) |
|----------------|---|---------------------------|---------------------------|
| 1 test | | | |
| | 3 ^e gén. | 17 | 17 |
| | 4 ^e gén. | 124 | 134 |
| 2 tests | | | |
| | 3 ^e + 4 ^e gén. | 4 | 3 |
| | 4 ^e + 4 ^e gén. | 18 | 9 |
| 3 tests | | | |
| | 3 ^e + 4 ^e + 4 ^e gén. | 1 | 1 |
| | | | |
| Total | | 164 | 164 |

Pour l'échantillon IS/12642 les laboratoires ont donc utilisé 166 trouses de 4^e génération et 22 trouses de 3^e génération et pour l'échantillon IS/12495 157 trouses de 4^e génération et 21 trouses de 3^e génération.

Les réactifs les plus utilisés sont Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (27.4%, les 2 échantillons), HIV Combi PT (Roche) (23.9%, les 2 échantillons), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (12.2% et 9.1%) et VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2 (Ortho Diagnostics) (7.9%, les 2 échantillons).

Le tableau suivant reprend les résultats obtenus par les 164 laboratoires pour l'échantillon IS/12642.

Tableau 6 Résultats obtenus pour l'échantillon IS/12462 (VIH).

| Résultat | N labos |
|------------------------------|----------------|
| Réactif | 140 |
| Réactif/négatif ¹ | 5 |
| Borderline | 1 |
| Négatif | 18 |
| | |
| Total | 164 |

¹ Quatre laboratoires ont obtenu un résultat réactif pour leur trousse de 4^e génération et un résultat négatif pour leur trousse de 3^e génération; et un laboratoire a obtenu des résultats réactifs pour leurs deux trouses de 4^e génération kits et un résultat négatif pour leur trousse de 3^e génération.

Par trousse, cela fait 164 résultats réactifs, un résultat borderline et 23 résultats négatifs. Tous les résultats réactifs et le résultat borderline ont été obtenus avec les trousse de 4^e génération.

22 résultats négatifs ont été obtenus avec les 22 trousse de 3^e génération (13 VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2, 6 ADVIA Centaur EHIV, 1 Determine HIV-1/2, 1 Genscreen HIV 1/2 Version 2 et 1 PRISM HIV 0 Plus). Un laboratoire a rapporté un résultat négatif pour une trousse de 4^e génération mais ce labo a interverti les 2 échantillons (il a répondu « réactif » pour l'échantillon IS/12495).

Pour l'échantillon IS/12495, 162 laboratoires ont obtenu un résultat négatif avec les tests de dépistage (les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats négatifs avec ces techniques), un laboratoire a obtenu un résultat borderline et un laboratoire a rapporté un résultat réactif (il s'agit du labo qui a probablement interverti les deux échantillons).

Le commentaire concernant l'enquête a souligné l'importance des tests de 4^{ème} génération. Actuellement les laboratoires de référence SIDA reçoivent de plus en plus souvent des échantillons pris en **phase de début d'infection**. Ces échantillons ont été **correctement détectés par des trousse de 4^{ème} génération**, mais la confirmation pour la recherche des anticorps est négative et ceux-ci se positivent généralement dans un second échantillon. Ces cas ne peuvent être détectés que par un test recherchant en même temps les anticorps et l'antigène p24 (antigène abondant du VIH-1). Ceci nous pousse à **recommander fortement l'utilisation de ces tests**. C'est très important pour qu'une personne et son médecin puissent être rassurés par un test négatif. L'utilisation d'un test de 4^{ème} génération n'est pas une garantie absolue, car la sensibilité de détection de l'antigène peut varier d'un test à l'autre, mais dans tous les cas ils sont actuellement plus sensibles que les tests de 3^{ème} génération.

De plus les laboratoires de référence SIDA rappellent qu'une personne ne peut être déclarée positive pour le VIH que si ceci a été démontré sur deux échantillons de la même personne, prélevés de façon indépendante, c'est-à-dire pas au même moment.

FIN
