

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

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

**RAPPORT ANNUEL GLOBAL DEFINITIF
MICRO/SERO/PARA
2017**

Sciensano/Micro/Séro/Para/110-FR

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

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS

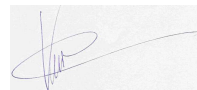
Sciensano					
CARLIER Danielle	Secrétariat	TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Dr. VERNELEN Kris	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.29	e-mail:	kris.vernelen@sciensano.be
Dr. CHINA Bernard	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.53.85	e-mail:	bernard.china@sciensano.be
Experts	Institution				
Dr. BERTH Mario	AML Antwerpen				
Pharm. BOEL An	OLVZ Aalst				
Dr. BOELENS Jerina	UZ Gent				
Dr. BOERAS Anca	Clinique St Joseph Liège				
Dr. CLAEYS Geert	UZ Gent				
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ Aalst				
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC Bruxelles				
DELFORGE Marie-Luce	ULB Erasme Bruxelles				
Dr. MAGERMAN Koen	Jessa Ziekenhuis Hasselt				
Dr. PADALCO Elizaveta	UZ Gent				
Dr. REYNDERS Marijke	AZ Sint Jan Brugge				
Dr. SAEGEMAN Veroniek	UZ Leuven				
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST Lucas Gent				
Dr. VAN ESBROECK Marjan	Instituut Tropische Geneeskunde Antwerpen				
Dr. VERROKEN Alexia	Cliniques Saint-Luc Bruxelles				
Pharm. VIJGEN Sara	Jessa Ziekenhuis Hasselt				
Dr. WOESTYN Sophie	Laboratoire J. Woestyn Mouscron				

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts le : 25/01/2018.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts du . pas d'application.

Un résumé de ce rapport a été présenté lors de la réunion de la Commission de biologie clinique du : 20/06/2018.

Autorisation de diffusion de rapport: Par Kris Vernelen, coordinateur d'enquête, le 21/06/2018.



Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/ fr/rapports_annee.htm

Tables des matières

I. Microbiologie	4
Malditof	16
II. Parasitologie	18
III. Sérologie infectieuse	22

I. Microbiologie

Trois enquêtes ont été organisées en 2017 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 146 laboratoires ont participé à au moins une enquête. 5 laboratoires (3.42%) ont participé à 1 enquête, 1 laboratoire (0.68%) a participé à 2 enquêtes et 140 (95.89%) ont participé aux 3 enquêtes. Le nombre de laboratoires participants s'élevait à 142, 141 et 144 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 103 laboratoires hospitaliers, 30 laboratoires privés, 2 laboratoires de polycliniques et 11 autres laboratoires.

Rapport de l'identification des cultures

Répartition des résultats par échantillon.

Les participants ont reçu 12 échantillons : 9 échantillons lyophilisés et 3 échantillons simulés (écouvillon de gorge, écouvillon fragment de rate, urine).

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

Facklamia hominis (ponction articulaire; enquête 2017/2) et *Capnocytophaga canimorsus* (fragment de rate; enquête 2017/3) ont été envoyées à des fins didactiques. Au total les laboratoires devraient donc introduire 10 résultats évaluable.

Tableau 1.1. Répartition des résultats par échantillon. L'origine de chaque germe est mentionnée entre parenthèses.

Enquête	Germes	% d'identifications acceptables
2017/1	Absence de pathogènes (écouvillon de gorge)	52.4
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (pied diabétique)	97.3
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	97.9
	<i>Neisseria meningitidis</i> (lavage broncho-alvéolaire)	91.7
2017/2	<i>Escherichia coli</i> (hémoculture)	97.9
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (aspiration bronchique)	99.3
	<i>Propionibacterium acnes</i> (biopsie)	91.6
2017/3	<i>Candida glabrata</i> + <i>Escherichia coli</i> (hémoculture)	78.6
2017/1	<i>Escherichia coli</i> (urine)	99.3
	<i>Enterococcus faecium</i> ; (hémoculture)	95.9
	Absence de pathogènes (écouvillon de gorge)	52.4
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (pied diabétique)	97.3

Le faible pourcentage pour l'échantillon M/9987 (absence de pathogènes; écouvillon de gorge; enquête 2017/1) s'explique par le fait que cet échantillon contenait un *Streptococcus anginosus/constellatus* qui est considéré comme non-pathogène pour ce type de prélèvement.

Le faible pourcentage pour l'échantillon M/15124 (*Candida glabrata* + *Escherichia coli*; hémoculture; enquête 2017/3) s'explique par la donnée que cet échantillon contenait un mélange de ces 2 germes mais que les informations cliniques ne mentionnaient que la présence de bacilles à Gram négatif; ceci a été fait délibérément afin d'étudier si les laboratoires identifieraient et répondraient bien les 2 germes.

Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications acceptables

Chaque laboratoire a dû réaliser 10 identifications. 52 (35.62%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 94 (64.38%) laboratoires ont mentionné des identifications inacceptables. Le tableau ci-dessous montre la répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.

Tableau 1.2. Nombre d'identifications inacceptables (sans les « non-réponses »)

Nombre d'identifications acceptables	Nombre de laboratoire (N=146)
0	52 (35.62%)
1	67 (45.89%)
2	25 (17.12%)
3	1 (0.68%)
4	1 (0.68%)

Le faible pourcentage de laboratoires avec 0 erreurs trouve son origine d'un part dans l'échantillon avec l'absence de pathogènes et d'un autre part dans l'échantillon avec le mélange *Candida glabrata* + *Escherichia coli*.

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

Nombre d'identifications acceptables	Nombre de laboratoire (N=146)
0	51 (34.93%)
1	65 (44.52%)
2	27 (18.49%)
3	2 (1.37%)
4	1 (0.68%)

Evaluation des tests de sensibilité des antibiotiques

Les sensibilités de 6 germes, *Staphylococcus lugdunensis* M/14218, *Pseudomonas aeruginosa* M/14592, *Escherichia coli* M/13987, *Klebsiella pneumoniae* M/14750, *Escherichia coli* M/15164 et *Enterococcus faecium* M/15235 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

Staphylococcus lugdunensis M/14218

Ce germe est porteur du gène *mecA*. Un certain nombre de laboratoires ont répondu cette présence.

Dans le commentaire a été mentionné qu'aussi bien l'EUCAST que le CLSI soulignent que **la détection de la résistance à la méthicilline chez les staphylocoques est cliniquement très importante** et ils donnent donc d'amples directives et commentaires pour la recherche de cette résistance.

Dans les dernières mises à jour les deux comités utilisent des règles assez similaires qui deviennent néanmoins de plus en plus complexes et qui diffèrent dans les détails.

Ces mises à jour ont été amplement reprises dans le rapport de l'enquête 2017/1.

Il est à noter que **les breakpoints sont très étroits pour les 2 comités**:

Ceci signifie pour le *S. lugdunensis* qu'en microdilution une cefoxitine de ≤ 4 $\mu\text{g/mL}$ peut être transmise comme sensible, >4 $\mu\text{g/mL}$ est résistant.

Ça devient difficile en diffusion sur disque où les breakpoints pour la céfoxitine (30 μg) sont aussi bien chez l'EUCAST que chez le CLSI: $<22\text{mm} = \text{R}$, $\geq 22\text{mm} = \text{S}$.

Ceci est **une règle qui est « inutilisable » dans la pratique de tous les jours**. Si une lecture à 1 mm prêt signifie un changement de catégorie (avec la possibilité d'une « erreur très majeure » pour conséquence ") il sera impossible de valider n'importe quel contrôle interprofessionnel.

Pour éviter ceci chaque laboratoire qui utilise la diffusion sur disque doit chercher une solution pragmatique. **Une suggestion, qui est déjà utilisée dans plusieurs laboratoires, est de « créer » quand-même une « catégorie intermédiaire »**. Dans cette solution l'interprétation $<22\text{mm} = \text{résistant}$ peut rester, mais on crée une catégorie « intermédiaire »: si le résultat de la lecture est entre 22 et 25mm on effectue un test de confirmation: détermination de la CMI pour l'oxacilline, détection du gène *MecA /MecC*, recherche de PBP2a (test d'antigène). Une lecture de $\geq 26\text{mm}$ peut être considérée comme S. la logique vient de: EUCAST wild type distribution of staphylococci for cefoxitine ;

<https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=dif&NumberIndex=50&Antib=185&Specium=-1>

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2017/1.

Tableau 1.4. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Oxacilline	R	125	4	-	121	4
Céfoxitine	R	120	9	-	111	69
Erythromycine	R	140	-	-	140	7
Gentamicine	S	133	132	-	1	21
Amikacine ¹	S	4	4	-	-	-
Kanamycine ²	S	1	1	-	-	1
Tobramycine ²	S	1	1	-	-	1
Clindamycine	R	139	-	-	139	1
Triméthoprimé-sulfaméthoxazole	S	137	137	-	-	8
Vancomycine	S	129	129	-	-	10
Teicoplanine ³	S	2	2	-	-	-

¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine et à l'amikacine; 3 laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine au lieu de la gentamicine.

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine, à la kanamycine et à la tobramycine.

³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la vancomycine et à la teicoplanine.

Pseudomonas aeruginosa M/14592

Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'EEQ 2009/3 sous le numéro M/9720. L'échantillon a été ré- envoyé afin de contrôler dans quelle mesure la croissance de l'utilisation des directives de l'EUCAST influence les interprétations des laboratoires. A l'occasion de l'enquête 2009/3, 2.5% des laboratoires ont mentionné utiliser les directives de l'EUCAST; à l'occasion de l'EEQ 2017/1 ce pourcentage était de 62%.

Vous trouverez ci-dessous la distribution des 3 « catégories de résistance » « (S, I, R) par directive, pour les 2 antibiotiques (la pipéracilline-tazobactame et la ceftazidime) pour lesquels ces catégories ont été ré pondus:

La pipéracilline-tazobactame:

CLSI (N = 46): 47.8% S, 43.5% I et 8.7% R
EUCAST (N = 80): 55.0% S, 2.5% I et 42.5% R

La ceftazidime:

CLSI (N = 48): 62.5% S et 37.5% I
EUCAST (N = 88): 81

Le commentaire a été discuté avec une attention particulière la comparaison entre les EEQ 2009/3 et 2017/1 avec entre autres le tableau ci-dessous.

Tableau 1.5. Comparaison des résultats M/9720 (2009/3) et M/14592 (2017/3) (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	%S (N S/N SIR) 2009/3	%S (N S/N SIR) 2017/1
Pipéracilline-tazobactame	S	92 (145/157)	53 (69/131)
ceftazidime	S	99 (170/171)	75 (106/141)
méropénem	S	100 (157/157)	99 (136/137)
amikacine	S	100 (170/170)	99 (126/127)
gentamicine	S	99 (155/156)	100 (126/126)
tobramycine	S	100 (116/116)	100 (71/71)
ciprofloxacine	S	100 (139/139)	100 (117/117)
lévofloxacine	S	100 (15/15)	70 (14/20)

La pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime et la lévofloxacine sont interprétées comme moins sensible à l'occasion de l'enquête actuelle 2017/1. Ceci peut être expliqué par une combinaison de facteurs:

- Le fait que les valeurs de CMI se trouvent près des breakpoints pour ces antibiotiques
- Le changement de beaucoup de laboratoires des critères de la CLSI vers ceux de l'EUCAST avec des valeurs plus « sévères » (plus vite de résistance) pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime et la lévofloxacine pour l'EUCAST.

Une discussion plus ample est reprise dans le rapport 2017/1.

Quelques participants ont constaté un satellitisme dans la zone autour du méropénem pour la diffusion sur disque.

Ce phénomène d'hétérorésistance est connu pour plusieurs espèces, dont *P. aeruginosa*.

Ce phénomène a également été discuté plus amplement dans le rapport 2017/1, dans lequel également un algorithme a été repris.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2017/1.

Tableau 1.6. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat attendu</i>	<i>Total</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>Pas en routine</i>
Pipéracilline-tazobactame	S	131	69	23	39	8
Ceftazidime	S	141	106	31	4	3
Céfotaxime ¹		1	-	-	1	1
Céfuroxime ¹		1	-	-	1	1
Céfépime ^{1,2}		7	6	1	-	2
Méropénem	S	137	136	-	1	25
Amikacine	S	127	126	-	1	7
Gentamicine	S	126	126	-	-	24
Tobramycine	S	71	71	-	-	20
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	117	117	-	-	2
Lévofloxacine	S	20	14	5	1	1
Norfloxacine		2	2	-	-	-
Ofloxacine		1	-	1	-	-

¹ Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime, la sensibilité à la céfotaxime, la céfuroxime et la céfépime.

² Un plus du laboratoire mentionné ci-dessus, 6 autres laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime, la sensibilité à la céfépime.

Escherichia coli M/13987

Ce germe était résistant vis-à-vis de plusieurs antibiotiques mais n'avait pas de profil spécifique de résistance.

Presque tous les laboratoires ont trouvé la résistance pour les différents antibiotiques.

Quelques laboratoires ont modifié les données brutes de quelques bêta-lactamines sur base d'une règle d'expertise.

Aussi bien l'EUCAST que le CLSI disent qu'il ne faut plus effectuer des modifications SIR pour les entérobactéries qui sont porteuses de BLSE (même s'il peut être utile de détecter des BLSE pour des raisons de « infection-control »).

La raison en est que les breakpoints ont été diminués et qu'ils sont donc plus sévères et plus fiables.

Il faut cependant remarquer que la souche M/13987 n'est pas productrice de BLSE.

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2017/2.

Tableau 1.7. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/13987 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Amoxicilline-acide clavulanique	R	140	-	-	140	1
Céfotaxime	R	113	1	1	111	12
Ceftazidime	R	138	-	1	137	18
Ceftriaxone ¹	R	10	-	-	10	1
Céfépime	S	131	93	30	8	26
Méropénem	S	138	138	-	-	14
Imipénem ²	S	2	2	-	-	-
Amikacine	S	124	124	-	-	9
Gentamicine ³	S	4	4	-	-	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	117	-	-	117	2
Lévofloxacine	R	26	-	-	26	-
Moxifloxacine	R	1	-	-	1	-
Norfloxacine	R	2	-	-	2	-
Ofloxacine	R	1	-	-	1	-

¹ Huit laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftriaxone et à la céfotaxime et/ou la ceftazidime; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la ceftriaxone au lieu de la céfotaxime et la ceftazidime; un laboratoire a mentionné de déterminer la sensibilité à la ceftriaxone comme marqueur de la sensibilité à la céfotaxime.

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'imipénem et au méropénem; un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'imipénem au lieu du méropénem.

³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine et à l'amikacine; 2 laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine

Klebsiella pneumoniae M/14750

La souche de *Klebsiella pneumoniae* M/1450 envoyée dans le cadre de l'EEQ 2017/2 produisait une carbapénémase de type KPC-3 (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase, classe A de Ambler) et présentait un caractère de multirésistance incluant également une résistance à la colistine (CMI=16 µg/ml). La résistance à la colistine était ici liée à la présence d'une mutation non-sens dans le gène chromosomique *mgrB* (régulateur négatif du système à deux composantes PhoPQ) entraînant la synthèse d'une protéine tronquée (Y41 codon stop).

Le commentaire de l'enquête a donné une description détaillée de structure et mode d'action de la colistine, l'usage clinique, les mécanismes de résistance et l'épidémiologie de cet antibiotique et les méthodes recommandées pour la détection de la résistance à la colistine. Vous pouvez retrouver ce commentaire dans le rapport global de l'EEQ 2017/2:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_2017.htm

En ce qui concerne la détection de la sensibilité, il est important de mentionner qu'il est actuellement très clairement recommandé de **ne plus évaluer la sensibilité à la colistine par des méthodes de diffusion en milieu solide** (disques ou bandelettes par gradient de diffusion de type E-test ou analogues). En effet, de par leur haut poids moléculaire les polymyxines diffusent mal dans les milieux gélosés, ne permettant donc pas une bonne estimation de la sensibilité de la colistine. **La méthode de référence** préconisée par les sociétés savantes (tant EUCAST que CLSI) pour évaluer la sensibilité des bactéries aux polymyxines **est la méthode de dilution en milieu liquide (macro-ou microdilution)**

http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf

Compte tenu de ce que la méthode de référence de microdilution en bouillon (Standard ISO 20776-1) n'étant pas utilisable en routine dans les laboratoires cliniques, **différentes méthodes alternatives** ont été évaluées récemment pour tester la sensibilité à la colistine. Des systèmes de microdilution « prêts à l'emploi » utilisant soit des gammes de concentrations prédéfinies de plusieurs antibiotiques lyophilisés dont la colistine (plaques de 96 multi-puits [**Sensititre**, Thermofisher Scientific, UK]) soit la colistine seule sont actuellement disponibles dans le commerce (**MICRONAUT MIC-Strip**, Merlin Diagnostika, Germany), système UMIC (Biocentric, France).

Dans une étude récente (Hindler et al., 2013), le système Sensititre® donnait d'excellents résultats pour la colistine les résultats étant corrélés à la méthode de référence par microdilution dans 95% des cas (accord de catégorisation de résultats S/I/R) sans résultats faussement sensibles pour des souches résistantes (absence d'erreurs très majeures).

Les systèmes commerciaux sous forme de barrette unique (MICRONAUT MIC-Strip, Merlin Diagnostika Germany; UMIC, Biocentric, France) comprennent chacun une large gamme de concentrations de colistine seule (de 0.06 à 64 µg/ml) et s'avèrent dès lors pratiques pour confirmer les résultats obtenus pour la colistine à partir de la méthode utilisée en routine. Comme pour la méthode Sensititre® les résultats de CMI sont obtenus après incubation pendant 18-24 h à 35°C et sont bien corrélés avec ceux de la méthode de référence par microdilution. Une évaluation récente réalisée dans notre laboratoire sur un total de plus de 100 souches d'Entérobactéries (dont plus de la moitié étaient résistantes à la colistine) a montré pour ces deux tests une excellente corrélation par rapport aux résultats obtenus avec le Sensititre® (utilisé comme méthode de référence), une concordance catégorielle étant observée dans 95-100% des cas et quasi absence de résultats faux sensibles. A noter que des résultats invalides, non interprétables (présence de «*skip wells*», c.à.d: croissance paradoxale de la souche dans des puits isolés de concentrations plus élevées avec inhibition de croissance à concentration plus faible) sont rarement observés par ces différentes méthodes commerciales (dans 1-3%

des cas) et nécessitent dans ces cas de répéter le test. Un nouveau test « **Rapid Polymyxin NP™** » introduit récemment sur le marché par la société ELITech Group permet également de détecter en 2-4 heures les souches résistantes à la colistine, quels que soient l'espèce d'entérobactérie testée ou le mécanisme moléculaire à l'origine de la résistance. Le principe de ce test est basé sur la détection de la métabolisation du glucose liée à la croissance bactérienne en présence d'une concentration définie de colistine. La croissance bactérienne est mise en évidence par un changement de couleur (jaune/orange) d'un indicateur de pH. Les études préliminaires montrent une bonne corrélation des résultats avec la méthode de référence (sensibilité >95% ; spécificité : 99%). Ce test facile à mettre en œuvre dans un laboratoire clinique devrait dès lors également permettre de confirmer rapidement (2-4h au lieu de 18-24 h par rapport aux autres méthodes microbiologiques) la sensibilité ou la résistance à la colistine à partir d'un antibiogramme standard.

En ce qui concerne les résultats de l'EEQ le commentaire a mentionné que malgré la diversité des méthodes d'antibiogramme et des tests complémentaires utilisés, la majorité des participants ont détectés 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). Par ailleurs 105 des 144 laboratoires qui ont participé à l'enquête ont déterminé la sensibilité à la colistine. La très grande majorité d'entre eux (>95%) ont catégorisé correctement cette souche comme résistante à la colistine. Seuls, trois laboratoires (tous les trois ayant utilisé la méthode de diffusion des disques en gélose) ont catégorisé de manière erronée cette souche comme sensible.

A noter cependant qu'environ un quart des laboratoires ont utilisé une méthode de diffusion (majoritairement E-test ou disques) qui n'est actuellement plus recommandée pour tester la colistine. Sur les 39 laboratoires n'ayant pas testé la colistine une partie d'entre eux a argumenté qu'ils n'avaient pas testé la colistine (ou pas répondu le résultat) précisément parce que les méthodes qu'ils utilisaient dans leur laboratoire n'étaient pas adaptées pour tester la colistine. Plusieurs d'entre eux auraient référé une telle souche vers le laboratoire de référence pour confirmation du résultat. En résumé il apparaît que la majorité des laboratoires ont utilisé pour tester la colistine la méthode qu'il utilise habituellement en routine et que certains d'entre eux ont utilisé une autre technique pour confirmer le résultat.

Seuls 8 laboratoires ont utilisés une technique de microdilution (sans clairement mentionner laquelle pour 6 d'entre eux) pour tester la colistine. Deux laboratoires ont utilisés les tests de CMI par microdilution sur barrette unitaire (MIC Strip test de Micronaut ou le système UMIC de Biocentric). Aucun des laboratoires ne mentionnait avoir utilisé la méthode de microdilution Sensititre pourtant commercialisée depuis de nombreuses années en Belgique.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2017/2.

Tableau 1.8. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/14750 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	S/I	S/R	I	I/R	R	Pas en routine¹
Pipéracilline-tazobactame	R	140	-	-	-	-	1	139	11
Ceftazidime	R	140	-	-	-	-	-	140	13
Céfotaxime ²	R	1	-	-	-	-	-	1	1
Ceftriaxone ³	R	6	-	-	-	-	-	6	-
Céfépime	R	133	-	-	-	-	-	133	18
Méropénem	R	142	-	-	-	-	-	142	5
Ertapénem ⁴	R	5	-	-	-	-	-	5	5
Imipénem ⁴	R	1	-	-	-	-	-	1	1
Amikacine	I/R	129	-	-	-	1	2	126	9
Gentamicine	S	130	43	3	-	69	1	14	16
Tobramycine ⁵		1	-	-	-	-	-	1	-
Colistine	R	105	2	-	1	-	2	100	27

¹ Cette remarque ne concerne que les laboratoires qui ne répondraient en routine qu'un certain nombre d'antibiotiques e.

² Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime, la sensibilité à la céfotaxime

³ Cinq laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime, la sensibilité à la ceftriaxone. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la ceftriaxone au lieu de la ceftazidime

⁴ Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité au méropénem la sensibilité à l'ertapénem et à l'imipénem. Trois laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénem la sensibilité à l'ertapénem. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ertapénem au lieu du méropénem

⁵ Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à l'amikacine et à la gentamicine la sensibilité à la tobramycine.

Un certain nombre de laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse:

- (suspicion de) KPC: 38 labos
- KPC +, colistine R: 5 labos
- KPC +, envoi pour déterminer la résistance à la colistine: 3 labos
- (suspicion de) carbapénèmase: 23 labos
- Carbapénèmase +, colistine R: 1 labo
- Carbapénèmase +, envoi pour déterminer la résistance à la colistine: 1 labo
- Carbapénèmase -: 1 labo
- OXA48 -: 1 labo
- OXA48 -, colistine R: 1 labo
- Il faut déterminer la résistance à la colistine (par envoi à un autre labo ou non): 7 labos
- Il faut confirmer la résistance à la colistine: 1 labo

Escherichia coli M/15164

Ce germe était porteur d'une céphalosporinase (ampC) mais pas de BLSE. Plusieurs laboratoires ont rapporté la présence de cette céphalosporinase.

La plupart des laboratoires n'ont pas eu de problème pour répondre correctement l'antibiogramme.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2017/3

Tableau 1.9. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/15164 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Amoxicilline-acide clavulanique	R	144	-	-	144	-
Céfuroxime	R	142	-	-	142	9
Ceftazidime	R	141	-	-	141	22
Ceftriaxone ¹	R	2	-	-	2	-
Céfotaxime ²	R	3	-	-	3	1
Témocilline	S	117	111	2	4	14
Méropénem	S	139	137	-	2	25
Ertapénem ³	S	1	1	-	-	-
Amikacine	S	124	121	1	2	10
Gentamicine ⁴	S	4	4	-	-	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	118	-	-	118	2
Lévofloxacine	R	28	-	-	28	-
Norfloxacine	R	13	-	-	13	-
Ofloxacine	R	1	-	-	1	-

¹ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftriaxone et à la ceftazidime.

² Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la céfotaxime et à la ceftazidime; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la céfotaxime au lieu de la ceftazidime.

³ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ertapénem et au méropénem.

⁴ Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine et à l'amikacine; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Enterococcus faecium M/15235

Cette souche était un VRE (porteuse du gène *vanA*), qui était également résistant à la linézolide.

Six laboratoires ont mentionné explicitement la résistance à la vancomycine et au linézolide (dont 2 laboratoires ont mentionné le gène *vanA*). 38 laboratoires ont mentionné la résistance à la vancomycine (dont 19 laboratoires ont mentionné le gène *vanA*). Un laboratoire a mentionné la résistance au linézolide.

Le commentaire a discuté plus amplement de la fréquence de la résistance à la vancomycine et au linézolide chez *E. faecium*.

L'EUCAST et le CLSI utilisent des charges différentes pour la diffusion par disque de la vancomycine. L'EUCAST utilise une charge de 5 µg et considère une zone <12mm comme résistant, tandis que le CLSI utilise une charge de 30 µg et considère une zone ≤14mm comme résistant. Même si les laboratoires utilisent les 2 normes, ils ont tous détecté correctement la résistance à la vancomycine.

Les charges et les breakpoints pour la détection de la résistance au linézolide sont également différents pour l'EUCAST (10 µg, <19mm) et le CLSI (30 µg, ≤20 mm). Chez environ un tiers des laboratoires qui utilisent les directives d'EUCAST et 60% laboratoires qui utilisent celles du CLSI nous avons constaté une erreur très majeure (R rapporté comme S) pour le linézolide. La plupart des laboratoires qui ont déterminé la CMI avec l'E-test ou le Vitek ont rapporté une CMI pour le linézolide égale à la CMI déterminée par le CNR (8 mg/L) et ont répondu l'isolat comme R.

Le tableau suivant reprenant les résultats de l'enquête a été publiés dans le rapport global 2017/3.

Tableau 1.10. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/15235 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	S/R	I	I/R	R	Pas en routine
Ampicilline	R	138	-	-	-	-	138	3
Gentamicine	S	118	102	1	4	-	11	23
Vancomycine	R	137	-	-	-	-	137	2
Teicoplanine	R	119	-	-	-	-	119	40
Linézolide	R	125	23	3	4	2	93	32

Le terme « S » dans les tableaux signifie : « absence de résistance de haut niveau à la gentamicine ».

Malditof

En 2017 nous avons envoyé un EEQ destinée aux utilisateurs d'appareil Malditof. Nous avons envoyé 5 échantillons. La question finale était de savoir si le laboratoire effectuerait des tests complémentaires pour une identification plus ample, pour confirmation,... **Le but n'était cependant pas d'effectuer ces tests complémentaires : l'identification finale ne devait donc être basée que sur le résultat du Malditof; il pouvait donc être possible ou même probable qu'un laboratoire réponde de ne pas communiquer le résultat de l'appareil en routine.** Certains laboratoires ont quand-même effectué les tests complémentaires pour certains échantillons et ils ont pris en compte ces résultats pour la « réponse définitive, transmise en routine » : certaines réponses sont donc biaisées.

Les germes envoyés étaient:

- M/7438: *Rhodococcus equi* (hémoculture)
- M/14598: *Salmonella* Chester (selles)
- M/14854: *Listeria monocytogenes* (hémoculture)
- M/15149: *Shewanella algae* (selles)
- M/15165: *Streptococcus dysgalactiae* (hémoculture)

Les tableaux suivants montrent un résumé des résultats.

M/7438

Routine ?	Identification	Bruker (N = 59)	bioMérieux (N = 18)
Non transmis		3	5
Transmis			
	<i>Rhodococcus equi</i>	54	10
	<i>Rhodococcus hoagii</i>	-	1
	<i>Rhodococcus</i> species	2	-
	<i>Gemella morbillorum</i>	-	1
	<i>Haemophilus haemolyticus</i>	-	1

M/14598

Routine ?	Identification	Bruker (N = 59)	bioMérieux (N = 21)
Non transmis		1	-
Transmis			
	<i>Salmonella</i> species	51	20
	<i>Salmonella enterica</i>	6	1
	<i>Salmonella arizonae</i>	1	-

M/14854

Routine ?	Identification	Bruker (N = 59)	bioMérieux (N = 20)
Non transmis		3	-
Transmis			
	<i>Listeria monocytogenes</i>	49	20
	<i>Listeria innocua</i>	2	-
	<i>Listeria</i> species	5	-

M/15149

Routine ?	Identification	Bruker (N = 59)	bioMérieux (N = 20)
Non transmis		43	11
Transmis	<i>Shewanella putrefaciens</i>	8	-
	<i>Shewanella algae</i>	2	8
	<i>Shewanella species</i>	6	1

M/15165

Routine ?	Identification	Bruker (N = 59)	bioMérieux (N = 20)
Non transmis		4	1
Transmis	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	52	13
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	2
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	3
	<i>Streptococcus equisimilis</i>	-	1
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	1
	<i>Streptococcus species</i>	1	-

Dans le rapport global de l'enquête les résultats techniques des deux appareils ont été analysées pour les différents échantillons Les listes avec les tests complémentaires proposés par les laboratoires ont également été reprises dans ce document.

Les commentaires des différents germes ont discuté de la clinique et de l'épidémiologie des germes concernés, des possibilités d'identification par MaldiToF et des éventuels tests complémentaires nécessaires pour obtenir une identification adéquate.

II. Parasitologie

Trois enquêtes ont été organisées dans le domaine de la parasitologie en 2017.

Enquête 1

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang (P/14250 en P/14630) ont été envoyés. 160 laboratoires ont participé à l'enquête.

L'échantillon P/14250 était négatif : il ne contenait pas de parasites.

157 (98.1%) laboratoires ont donné la réponse correcte.

L'échantillon P/14630 contenait des trophozoïtes et de (rares) gamétocytes de *Plasmodium ovale*.

Ce résultat a été confirmé par PCR.

Les laboratoires avec des numéros d'agrément pairs et impairs ont reçu le même échantillon ; cependant les laboratoires pairs ont reçu un échantillon prélevé sur k-EDTA et les laboratoires impairs un échantillon prélevé sur héparine. Etant donné que nous n'avons cependant pas remarqué des différences majeures entre les résultats obtenus par les laboratoires ayant reçu les échantillons prélevés sur k-EDTA et les laboratoires ayant reçu les échantillons prélevés sur héparine, les résultats de cet échantillon sont évalués globalement.

Plasmodium ovale a été répondu par 98 (61.2%) laboratoires. 46 (28.8%) laboratoires ont mentionné la présence de *Plasmodium non-falciparum*.

Pour *P. ovale* 97 (99.0%) laboratoires ont mentionné le stade d'évolution trophozoïte, 27 (27.6%) ont mentionné schizonte et 21 (21.4%) gamétocyte.

Pour *P. non-falciparum* 46 (100%) laboratoires d'évolution ont mentionné le stade d'évolution trophozoïte, 8 (17.4%) ont mentionné schizonte et 6 (13.0%) gamétocyte.

Le commentaire concernant l'enquête a accentué une fois de plus l'importance de distinguer *P. falciparum* et *P. non-falciparum*. Les résultats de l'enquête étaient bons avec seulement 9/160 (5.6%) réponses inacceptables (erreurs majeures) (Tableau 1). A cause des implications pour le traitement le fait de rater un *P. falciparum* ou de le répondre erronément et le fait de répondre *Plasmodium species* sans s'exprimer sur la présence ou l'absence de *P. falciparum*, ne sont pas acceptables. Répondre *P. non-falciparum*, *P. malariae* ou une autre espèce n'a pas ces mêmes implications et est acceptable (*erreur mineure*).

Enquête 2

Deux suspensions de selles formolées, P/14647 et P/15017, ont été envoyés.

137 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/14647 contenait des œufs de *Diphylobothrium latum*.

Diphylobothrium latum a été répondu par 121 (88.3%) laboratoires. 14 (10.2%) laboratoires ont répondu *Diphylobothrium* species. 118 (97.5%) laboratoires ayant répondu *Diphylobothrium latum*, ont mentionné le stade d'évolution « œuf ». Pour *Diphylobothrium* species tous les laboratoires ont répondu le stade d'évolution « œuf ».

L'échantillon P/15017 contenait des œufs d'Ancylostomatoidea, des kystes de *Giardia lamblia* et des kystes d'*Endolimax nana*. Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'EEQ 2011/3 sous le numéro P/10977.

71 (51.8%) laboratoires ont mentionné la présence d'Ancylostomatoidea (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites), 38 (27.7%) la présence d'*Ancylostoma duodenale* et 8 (5.8%) la présence de *Necator americanus* ; en total 117 (85.4%) laboratoires ont donc mentionné des parasites appartenant aux Ancylostomatoidea.

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

Giardia lamblia (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 122 (89.06%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 113 (92.6%) d'entre eux.

Endolimax nana (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 70 (51.1%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 64 (91.4%) d'entre eux.

Tableau 2.1 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2011/3 et 2017/2.

<i>Parasite</i>	<i>P/10977 (2011/3)</i>	<i>P/15017 (2017/2)</i>
Ancylostomatoidea	83.2%	85.4%
<i>Giardia lamblia</i>	90.6%	89.0%
<i>Endolimax nana</i>	51.9%	51.1%

Enquête 3

Deux suspensions de selles formolées, P/15081 et P/15347., ont été envoyés.

136 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/15081 contenait des œufs d'*Ascaris lumbricoides* et des kystes d'*Entamoeba coli*. L'échantillon contenait également en plus petites concentrations des kystes de *Chilomastix mesnili*, des kystes d'*Endolimax nana* et des kystes de *Blastocystis hominis*

Etant donné que les parasites étaient présents en plus petites concentrations, l'échantillon est considéré comme un échantillon didactique.

Le commentaire concernant l'enquête a discuté du cycle de vie, des symptômes et de la recherche d'*Ascaris lumbricoides*.

L'échantillon P/15347 contenait des œufs d'*Hymenolepis nana*.

Hymenolepis nana (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 133 (95.7%) laboratoires. Les œufs ont été retrouvés par 126 (94. %) d'entre eux.

Cet échantillon a déjà été envoyé dans enquête 2014/3 (sous le numéro P/10183).

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus en 2014 et 2017 pour ce même échantillon..

Tableau 2.2 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2014/3 et 2017/3.

<i>Parasite</i>	<i>P/10183 (2014/3)</i>	<i>P/15347 (2017/3)</i>
<i>H. nana</i>	96.1%	95.7%

III. Sérologie infectieuse

En 2017, les paramètres sérologiques pour la rubellose, le CMV, l'hépatite A, le toxoplasme et le VIH ont été évalués. Il y avait également deux échantillons d'urine pour la détection de l'antigène de la Legionella. Le nombre de participants dépendait du paramètre.

La Rubellose

Deux échantillons, IS/13136 et IS/13137 ont été envoyés.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/13136: Une jeune femme se présente chez son généraliste pour un examen avant grossesse. Elle dit avoir été vaccinée dans sa jeunesse mais le carnet de vaccination a été perdu. Le médecin prend un échantillon pour contrôler les anticorps.

IS/13139: Une jeune femme enceinte, qui réside dans une maison d'hébergement pour réfugiés, se présente chez le médecin avec un rash et de la fièvre. Les données concernant son statut de vaccination sont inconnues.

Les résultats attendus étaient :

IS/13136: IgG : positives
IgM: négatives
Interprétation : Immunité

IS/13139: IgG : positives
IgM: négatives
Interprétation : Immunité

134 laboratoires cliniques ont introduit leurs résultats

Sur l'échantillon IS/13136, 15 laboratoires ont effectué un test, 115 laboratoires 2 tests, 2 laboratoires 3 tests et 2 laboratoires 4 tests.

Sur l'échantillon IS/13139, 14 laboratoires ont effectué un test, 116 laboratoires 2 tests, 2 laboratoires 3 tests et 2 laboratoires 4 tests.

Le tableau suivant présente un aperçu des combinaisons des tests effectués.

Tableau 3.1. Aperçu des combinaisons des tests utilisés dans la détermination des anticorps anti-Rubella

<i>Nombre de tests</i>	<i>Type test</i>	<i>IS/13136</i>	<i>IS/13139</i>
1 test	IgG	15	14
2 tests	IgG + IgM		
3 tests	IgG + 2 IgM	2	2
4 tests	2 IgG + 2 IgM	2	2
Total		134	134

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Cobas Rubella IgG (Roche) (25.7%, les 2 échantillons), Architect Rubella IgG (Abbott) (23.5%, les 2 échantillons), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (16.2%, les 2 échantillons) et VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (8.8%, les 2 échantillons)
- IgM: Architect Rubella IgM (Abbott) (23.6% et 23.4%), Cobas Rubella IgG (Abbott) (23.6% et 22.6%), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (17.0% et 17.7%) et VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (13.0% et 12.9%)

Pour l'échantillon IS/13136 tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat négatif pour les IgM.

140 (98.5%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ». Deux laboratoires qui ont uniquement déterminé les IgG, ont préféré ne pas s'exprimer.

Pour l'échantillon IS/13139 tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat négatif pour les IgM.

120 (89.6%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ». Quelques laboratoires ont préféré une autre option.

Huit (6.0%) laboratoires ont donné l'interprétation «« Possibilité d'une infection récente » (1 laboratoire avec les résultats IgG+ et IgM-; 7 laboratoires qui ont uniquement déterminé les IgG). Quatre laboratoires qui ont uniquement déterminé les IgG, ont préféré ne pas s'exprimer. Un laboratoire a répondu « Rash non rubéolique » et un laboratoire « Pas d'immunité » (en dépit des IgG positives).

Le commentaire a mentionné que l'interprétation «« Possibilité d'une infection récente » pour l'échantillon S/13139 pour les laboratoires qui n'ont déterminé que les IgG (et pas les IgM). Cette interprétation peut prêter à confusion chez le clinicien et conduire potentiellement à des diagnostics erronés. Si on n'effectue pas de détermination des IgM au laboratoire, il est impossible de s'exprimer sur la présence ou non d'une infection récente sur base d'un prélèvement de sang.

Le commentaire a également discuté la problématique de « standardisation internationale ». Il s'avère qu'il existe de très grandes différences quantitatives entre les différentes méthodes utilisées. Les résultats de l'échantillon IS/12136 (voir le tableau 6.1.4) le montrent clairement: il existe une différence d'environ 10 fois entre les valeurs médianes des IgG obtenues avec la méthode avec les résultats les plus élevés (Advia) et les résultats les plus bas (Architect). Pour l'échantillon IS/12139 on remarque également des différences importantes.

Ces deux échantillons de l'EEQ montrent également une autre donnée remarquable: les différences entre les méthodes des IgG anti-Rubella ne sont pas pour chaque échantillon(ou chaque patient) les mêmes. Comparons par exemple la médiane des 2 échantillons pour les 2 méthodes les plus utilisées en Belgique: pour l'échantillon IS/12136 elle est de 29.9 IU/ml pour l'Architect et de 111.2 IU/ml pour le Cobas, tandis que pour l'échantillon IS/12139 elle est de 25.9 IU/ml pour l'Architect et de 28.7 IU/ml pour le Cobas.

Cette problématique des différences entre les méthodes des IgG anti-Rubella a récemment été discutée dans une revue scientifique exhaustive, dans laquelle cette « standardisation internationale » est à juste titre critiquée et commentée. Cette problématique de standardisation pourrait dans la pratique avoir des conséquences pour le patient individuel si les résultats des IgG obtenus par des laboratoires qui utilisent différentes méthodes étaient comparés.

- 1) Si on obtient un résultat positif pour les IgM et par conséquent on veut démontrer des « changements de titre » en IgG entre les prélèvements d'un même patient, il faut l'effectuer avec la même méthode et de préférence dans le même

laboratoire. Dans le cas contraire, on pourrait voir d'imaginaires augmentations ou diminutions des IgG anti-Rubella.

- 2) Même si dans ce QE nous n'avons pas remarqué des différences qualitatives entre les laboratoires et les méthodes (qui est d'ailleurs un excellent résultat!), en pratique on pourrait avoir le cas d'un patient déclaré séropositif ou séronégatif selon que son sang soit analysé dans différents laboratoires. Ceci peut ensuite être interprété par un clinicien comme une séroconversion et conduire à un diagnostic erroné. Cela peut également mener à une politique de vaccination différente pour le patient.

En plus des possibles conséquences pour le patient individuel, il est également plausible que les différences dans la séoprévalence des IgG anti-Rubella entre populations ou au sein d'une même population au cours du temps puissent en partie être attribuées à l'utilisation de différentes méthodes.

Ag de Legionella

Il y avait 2 échantillons d'urine pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/14680 et Ag/14681. L'échantillon Ag/14680 était positif et l'échantillon Ag/14681 négatif.

L'échantillon Ag/ 14680 a déjà été envoyé lors des enquêtes 2010/2 (sous le numéro Ag/10093) et 2011/2 (sous le numéro Ag/11069).

L'échantillon Ag/14681 a déjà été envoyé lors de l'enquête 2015/1 sous le numéro Ag/12900.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

Ag/14680: Un patient de 75 ans qui réside régulièrement à la Costa del Sol espagnole est admis à l'hôpital avec un malaise, de la fièvre et de la dyspnée trois mois après avoir été traité pour une infection avérée à Legionella.

Les hémocultures et la culture respiratoire classique sont négatives.

Ag/14681: Un homme de 25 ans, sans signe clinique préalable, se présente début janvier chez son généraliste avec une fièvre et un syndrome grippal. Le patient mentionne qu'il séjourne régulièrement dans des hôtels à l'étranger.

104 laboratoires ont participé à cette EEQ : ils ont tous effectué un test.

Le réactif le plus utilisé est le BinaxNOW Legionella Urinary Ag test (Alere Health) (91.3%).

103 laboratoires ont obtenu un résultat positif pour l'échantillon Ag/14680. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif et a fourni l'explication suivante : « BinaxNOW Legionella positif sur échantillon frais. Après chauffage de l'urine 5 minutes à 100°C, BinaxNOW Legionella négatif -> Faux positif (l'antigène bactérien étant thermostable). »

86 laboratoires ont également choisi « positif » comme interprétation (6 d'entre eux ont indiqué que ceci veut dire: positif pour le séro-groupe 1 de Legionella pneumophila), 14 demanderaient des tests supplémentaires (principalement la PCR et/ou la culture sur un échantillon respiratoire) ; 2 laboratoires ont mentionné l'interprétation « La positivité du test est plus que probablement due à son infection datant de 3 mois » ; un laboratoire a choisi « Persistance antigénémie ou réinfection » et 1 laboratoire a choisi l'interprétation « négatif » .

Pour l'échantillon Ag/14681, tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif. 95 laboratoires ont également choisi « négatif » comme interprétation (2 d'entre eux ont indiqué que ceci veut dire: négatif pour le séro-groupe 1 de Legionella pneumophila), 9 demanderaient des tests supplémentaires (principalement la PCR et/ou la culture sur un échantillon respiratoire).

Le commentaire sur l'enquête a mentionné qu'étant donné la faible sensibilité et la réactivité croisée limitée avec Legionella pneumophila de sérogroupes non 1 et d'autres espèces de Legionella, ce n'est **jamais une bonne idée de se fier uniquement au résultat du test antigène dans les urines** en cas de suspicion d'une infection par Legionella pour obtenir un diagnostic correct. Même s'ils ne sont pas remboursés, **les tests moléculaires sur un échantillon respiratoire (profond)** sont considérés de plus en plus dans cette problématique comme le « **gold standard** ». La culture de Legionella demande une expertise supplémentaire et est peu sensible. A cause de la réponse immunologique tardive, la sérologie de Legionella est surtout utile à des fins épidémiologiques.

La recherche de l'antigène de Legionella dans les urines n'est en effet remboursée uniquement que si le patient est hospitalisé, s'il a plus de 18 ans, sur prescription de médecin-spécialiste et au maximum 1x par admission hospitalière (règle diagnostique 104). Ceci peut être motivé étant donné la faible sensibilité de l'antigène dans les urines

dans les infections non-invasives par Legionella comme la fièvre de Pontiac et le caractère exceptionnel des infections invasives par Legionella chez les enfants immunocompétents sauf s'ils sont nés après un accouchement dans l'eau (3).

L'hépatite A

Deux échantillons ont été envoyés : IS/7733 et IS/14794. Les laboratoires pairs et impairs ont cependant reçus des échantillons différents sous ce dernier numéro.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/7733: Un homme de 28 ans 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.

IS/14794: Une femme de 48 ans développe une jaunisse 2 semaines après son retour d'un voyage dans les tropiques; elle se plaint de fatigue et de malaise général et présente de la fièvre. Elle déclare n'avoir reçu aucun vaccin avant d'entreprendre son voyage.

Les résultats et interprétations attendus étaient :

IS/7733:

IgG: négatifs
IgM: négatifs
Interprétation: Pas d'immunité

IS/14794:

Laboratoires pairs
IgG: négatifs
IgM: négatifs
Interprétation: Pas d'immunité

Laboratoires impairs (échantillon déjà envoyé comme IS/6623 dans l'EEQ

2014/2)

IgG: positifs
IgM: négatifs
Interprétation: Immunité

Au total 148 laboratoires cliniques ont donné une réponse : 87 laboratoires avec un numéro d'agrément pair et 61 laboratoires avec un numéro d'agrément impair.

Sur l'échantillon IS/7733, les 148 laboratoires ont effectué 278 tests; sur l'échantillon IS/14794, les 87 laboratoires pairs ont effectué 167 tests et les 61 laboratoires impairs ont effectué 117 tests.

Sur l'échantillon IS/7733, 19 laboratoires ont effectué un test, 128 laboratoires 2 tests et 1 laboratoire 3 tests.

Sur l'échantillon IS/14794 :

Des laboratoires pairs, 7 laboratoires ont effectué un test et 80 laboratoires 2 tests.

Des laboratoires impairs, 6 laboratoires ont effectué un test, 54 laboratoires 2 tests et 1 laboratoire 3 tests.

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

Tableau 3.2. Nombre de participants répartis par paramètre pour l'hépatite A (2017/2).

<i>Nombre de tests</i>	<i>Type test</i>	<i>IS/7733</i>	<i>IS/14794 (labos pairs)</i>	<i>IS/14794 (labos impairs)</i>
1 test	Ac totaux s	6	2	-
	IgG	2	-	-
	IgM	11	5	6
2 tests	Ac totaux + IgM	94	63	35
	IgG + IgM	34	17	19
3 tests	Ac totaux + 2 IgM	1	-	1
Total			146	146

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) (34.7% les 2 échantillons), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (14.9% les 2 échantillons), Liaison anti-HAV (Diasorin) (11.9% les 2 échantillons) et ADVIA Centaur HAV Total (Siemens) (11.9% les 2 échantillons)
- IgM: Cobas anti-HAV IgM (Roche) (26.2% et 26.5%), Architect HAV IgM (Abbott) (25.5% et 25.8%) et VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (12.8% et 12.9%)

Pour l'échantillon IS/7733, tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux ou les IgG, les ont trouvés négatifs.

139 laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatives ; un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

10.8% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Pas d'immunité ». Un laboratoire a répondu « Immunité ».

Deux des laboratoires n'ayant déterminés que les IgM, ont mentionné qu'il n'y a pas d'infection récente/aiguë par le virus de l'hépatite A; huit ont préféré ne pas s'exprimer au sujet de l'immunité et un laboratoire a combiné ces deux interprétations.

Pour l'échantillon IS/14794, laboratoires pairs : tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG.

Les anticorps totaux ont été considérés comme négatifs par 64 laboratoires ; un laboratoire a obtenu un résultat positif.

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

86.2% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Pas d'immunité ». ». Un laboratoire a répondu « Immunité ». Un laboratoire a mentionné « A suivre dans 15 jours selon clinique ».

8 laboratoires, ont mentionné qu'il n'y a pas d'infection récente/aiguë par le virus de l'hépatite A. Deux des laboratoires n'ayant déterminés que les IgM, ont préféré ne pas s'exprimer au sujet de l'immunité.

Pour l'échantillon IS/14794, laboratoires impairs : tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG. et les anticorps totaux et un résultat négatif pour les IgM.

88.5% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ».

2 laboratoires, ont mentionné qu'il n'y a pas d'infection récente/aiguë par le virus de l'hépatite A, un laboratoire a mentionné que les IgG doivent être déterminés pour évaluer l'immunité et un laboratoire « Profil sérologique suggestif d'une infection récente/actuelle causée par le virus de l'hépatite A ». Trois des laboratoires n'ayant déterminés que les IgM, ont préféré ne pas s'exprimer au sujet de l'immunité.

Le CMV

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

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/4885: Une femme de 30 ans se présente chez son généraliste pour un examen avant grossesse. Etant donné que son statut immunitaire pour le CMV n'est pas connu, il décide d'effectuer une prise de sang.

IS/14798: Une jeune fille de 18 ans consulte son médecin généraliste à cause d'une faiblesse générale et d'une légère fièvre depuis 2 semaines. L'examen clinique ne montre rien de spécial; les tests hépatiques sont cependant légèrement perturbés.

Les résultats attendus étaient

S/4885

IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV.

IS/14798

IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Sérologie négative pour CMV.

149 laboratoires cliniques ont introduit leurs résultats.

Les laboratoires cliniques ont effectué 331 tests sur l'échantillon S/4885 et 300 tests sur l'échantillon IS/14798.

Echantillon S/4885 : 4 laboratoires ont effectué 1 test, 113 laboratoires ont effectué 2 tests, 29 laboratoires ont effectué 3 tests, 1 laboratoire 4 tests et 2 laboratoires 5 tests.

Echantillon IS/14798 : 4 laboratoires ont effectué 1 test, 141 laboratoires ont effectué 2 tests, 2 laboratoires 3 tests et 2 laboratoires 4 tests.

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

Tableau 3.3. Nombre de participants répartis par paramètre pour CMV (2017/2).

<i>Nombre de tests</i>	<i>Type test</i>	<i>Nombre de labos</i>	
		<i>S/4885</i>	<i>IS/14798</i>
1 test	Ac totaux IgG	1 3	1 3
2 tests	IgG + IgM IgG + Avidité IgG	112 1	141 -
3 tests	IgG + IgM + Avidité IgG 2 IgG + IgM IgG + 2 IgM	29 - -	- 1 1
4 tests	2 IgG + IgM + Avidité IgG 2 IgG + 2 IgM	1 -	- 2
5 tests	2 IgG + 2 IgM + Avidité IgG	2	-
Total		149	149

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect CMV IgG (26.5%, les 2 échantillons), Cobas CMV IgG (Roche) (26.5%, les 2 échantillons) en Liaison CMV IgG II (Diasorin) (19.1%, les 2 échantillons)
- IgM: Cobas CMV IgM (Roche) (28.1% et 27.7%), Architect CMV IgM (26.0% et 25.7%) et Liaison CMV IgM (Diasorin) (19.9% et 19.6%)
- Avidité (uniquement l'échantillon S/4885) : VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (69.7%) et Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (21.2%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

Echantillon S/4885

Le laboratoire a obtenu un résultat positif pour les anticorps totaux.

Tous les laboratoires ont trouvé les IgG positives et les IgM négatives.

30 (90.9%) laboratoires ont obtenu un résultat élevé pour l'avidité et trois laboratoires un résultat borderline.

145 (97.3%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV ». Trois laboratoires ont mentionné qu'il est impossible de donner une interprétation sans détermination des IgM et un laboratoire a mentionné qu'il faut effectuer l'avidité pour exclure une infection récente.

Echantillon IS/14798

Le laboratoire a obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux.

Tous les laboratoires ont trouvé les IgG négatives.

137 (94.5%) laboratoires ont trouvé les IgM négatives ; quatre laboratoires ont obtenu un résultat borderline et 3 laboratoires un résultat positif. Un laboratoire obtenu des résultats différents (borderline et négatif) avec les 2 trousse qu'il a utilisé.

Sept des résultats non-négatifs ont été obtenus avec la trousse Immulite CMV IgM (nombre total d'utilisateurs = 7: 3 +, 4 +/-). La firme en a été avertie et a examiné le problème. Vous trouvez ci-dessous les résultats de leur examen:

« The Technical Support Lab (TSL) from Siemens Healthineers has performed the internal testing of the ISP Survey sample (IS/14798) on the IMMULITE 2000 CMV IGM.

TSL completed testing as per protocol with guidance from assay instructions for use (IFU). Adjustments of CMM kit lots met acceptable limits for investigation testing.

Two IMMULITE 2000 CMM kits were obtained. Kit #1 of lot 277 was adjusted and the quality control samples supplied with the kit (negative and positive) were processed at n = 3. This was repeated for Kit #2 lot 278.

Results were recorded and quality controls are within assigned ranges on both lots.

In addition, ten internal CMM negative samples were processed at n = 3 on both lots and resulted negative.

Returned sample IS/14798 was processed at n = 3 two times on both lots and resulted indeterminate (=borderline, = equivocal).

From the 7 laboratories that responded to the survey of sample IS/14798, 3 reported a positive result (with ratios of 1.16, 1.28, and 1.7).

Siemens Healthineers TSL was not able to confirm the positive result on sample IS/14798 and was thus not able to confirm the failure of the external ISP infectious serology CMV survey with Immulite 2000 CMM kit, as the results from internal testing by TSL revealed indeterminate on two lots at n=3.

The other 4 laboratories reported a borderline result (with ratio's 0.9, 0.953, 1.06, and 1.1), and thus were in accordance with the internal testing performed by TSL.

Siemens would like to point out that samples that have undergone a manipulation, such as conservation, and or lyophilisation, can react differently than native samples, due to the fact that the antibody can react differently in these non-native samples.

In conclusion of the internal testing, the 10 negative patient samples did report out with the intended negative response and the survey material (IS/14798) reported out with an indeterminate response. Review of internal data including patient samples did not indicate any issues with true negative specimens reading positive, therefore the assay is performing as intended. The survey sample reporting out indeterminate, where all other vendors were negative, could be a sample matrix specific issue. »

140 (94.0%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie négative pour CMV ». Six laboratoires qui ont obtenu un résultat « non-négatif » pour les IgM ont donné comme interprétation que les IgM était positives ou borderline et que des examens complémentaires sont nécessaires. Un laboratoire qui a obtenu un résultat positif pour les IgM a mentionné que la sérologie était suggestive d'une infection primaire par CMV. Deux laboratoires ont mentionné qu'il est impossible de donner une interprétation sans détermination des IgM.

Le toxoplasme

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Toxoplasme, IS/9605 et IS/14957.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/9605: Prélèvement chez une architecte paysagiste de 25 ans qui souhaite devenir enceinte.

IS/14957: Une dame de 47 ans se plaint depuis 1 mois de fatigue; les ganglions cervicaux sont clairement palpables. Elle ne possède pas de chat mais elle travaille régulièrement dans le jardin.

Les résultats attendus étaient :

IS/9605: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Absence d'anticorps spécifiques

IS/14957: IgG positif
IgM négatif
Interprétation: Sérologie suggestive d'une infection récente

145 laboratoires cliniques ont participé à cette enquête. Un laboratoire n'a pas envoyé de résultats pour l'échantillon IS/14957.

Pour l'échantillon IS/9605 les laboratoires ont effectué 303 tests : 138 laboratoires ont effectué 2 tests, 3 laboratoires ont effectué 3 tests, 3 laboratoires ont effectué 4 tests et un laboratoire 6 tests.

Pour l'échantillon IS/14957 les laboratoires ont effectué 369 tests: 84 laboratoires ont effectué 2 tests, 46 laboratoires ont effectué 3 tests, 9 laboratoires ont effectué 4 tests, 4 laboratoires 5 tests et un laboratoire 7 tests.

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

Tableau 3.4. Nombre de participants répartis par paramètre pour le Toxoplasme (enquête 2017/3).

<i>Nombre de tests</i>	<i>Type test</i>	<i>IS/9605</i>	<i>IS/14957</i>
2 tests	IgG + IgM	138	84
3 tests	IgG + 2 IgM	2	1
	IgG + IgM + avidité	-	45
	IgG + IgM + IgA	1	-
4 tests	2 IgG + 2 IgM	3	-
	IgG + 2 IgM + avidité	-	8
	IgG + IgM + IgA + avidité	-	1
5 tests	2 IgG + 2 IgM + avidité	-	4
6 tests	3 IgG + 3 IgM	1	-
7 tests	3 IgG + 3 IgM + avidité	-	1
Total		145	144

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Cobas Toxo IgG (Roche) (26.0% et 25.3%), Architect Toxo IgG (Abbott) (23.3%, les 2 échantillons), Liaison Toxo IgG II (DiaSorin) (17.3%, les 2 échantillons) et VIDAS Toxo II (bioMérieux) (8.0% et 8.7%)
- IgM: Cobas Toxo IgM (Roche) (25.7% et 23.9%), Architect Toxo IgM (Abbott) (23.0% et 22.0%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (15.1% et 14.5%) et VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (8.6% et 12.%)
- IgG avidité (échantillon IS/14957): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (52.5%), Liaison XL Toxo IgG avidity II (DiaSorin) (23.7%) et Architect Toxo IgG Avidity (Abbott) (13.6%)

Pour l'échantillon IS/9605, tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG, les IgA et les IgM.

144 (99.3%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Absence d'anticorps spécifiques » pour l'échantillon IS/9605. Un laboratoire n'a pas donné d'interprétation (il s'agit du laboratoire qui n'a pas envoyé des résultats pour l'échantillon IS/14957).

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG pour l'échantillon IS/14957.

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

143 (99.3%) des laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les de IgM, un laboratoire a donné une réponse négative; étant donné que son résultat quantitatif est clairement dans le range positif et que le laboratoire a fourni l'interprétation « Sérologie suggérant une infection récente », il a probablement coché la mauvaise case dans le toolkit.

Tous les laboratoires ont obtenu une avidité faible.

124 (86.1%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Sérologie suggérant une infection récente » pour l'échantillon IS/14957. Trois laboratoires ont donné une variante à cette réponse, reprenant une demande de confirmation; un laboratoire a référé à une infection chronique ou une réactivation. Seize laboratoires ont répondu qu'une infection récente ne peut être ni exclue, ni confirmée sans l'exécution de tests complémentaires.

Le commentaire a discuté plus précisément les laboratoires qui ont mentionné que ces résultats ne permettaient pas d'exclure ni de confirmer une infection, à confirmer par l'avidité des IgG et/ou un échantillon de suivi. Dans ce contexte clinique, cette précaution n'est pas nécessaire. La principale indication de l'avidité des IgG est la datation de l'infection chez les femmes enceintes présentant une sérologie IgG et IgM positives sans évidence de séroconversion récente.

Le VIH

2 échantillons « prêts-à-emploi » (IS/15125 et IS/15126) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH. Les laboratoires pairs et impairs ont cependant reçus des échantillons différents sous les 2 numéros.

Les résultats attendus étaient :

IS/15125:

Laboratoires pairs (échantillon déjà envoyé comme IS/10543 dans l'EEQ 2015/3) : réactif pour le VIH

Laboratoires impairs (échantillon déjà envoyé comme S/6633 dans l'EEQ 2005/3) : négatif pour le VIH

IS/15126:

Laboratoires pairs (échantillon déjà envoyé comme IS/10519 dans l'EEQ 2011/3) : négatif pour le VIH

Laboratoires impairs (échantillon déjà envoyé comme S/6978 dans l'EEQ 2007/3) : réactif pour le VIH

154 laboratoires belges et Luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests de dépistage effectués par laboratoire. Plusieurs laboratoires ont effectué 2 tests de dépistage différents par échantillon; deux laboratoires ont utilisé trois tests de dépistage.

Tableau 3.5. Tests de dépistage effectués pour la détermination du VIH

<i>Echantillon</i>		<i>1 test</i>	<i>2 tests</i>	<i>3 tests</i>	<i>Total</i>
IS/15125	Labos pairs (N labos)	78	11	2	91
	Labos impairs (N labos)	60	3	-	63
IS/15126	Labos pairs (N labos)	83	6	2	91
	Labos impairs (N labos)	58	5	-	63

Au total les laboratoires pairs ont donc effectué 106 tests de dépistage sur l'échantillon IS/15125 et 101 sur l'échantillon IS/15126. Les laboratoires impairs ont effectué 66 tests de dépistage sur l'échantillon IS/15125 et 68 sur l'échantillon IS/15126.

Le nombre de trousse de 3^e génération a diminué jusque 4. Pour 3 laboratoires il s'agit du seul test de dépistage qu'ils utilisent (un de ces laboratoires effectue cependant pour chaque échantillon une recherche du génome viral) ; le 4^e laboratoire utilise aussi bien un test de 3^e que de 4^e génération. Ces laboratoires ont été contactés avec le mention que le comité d'experts conseille fortement l'utilisation de trousse de 4^e génération étant donné la moins bonne sensibilité en phase de séroconversion des trousse de 3^e génération. La détection précoce des infections est une priorité, tant pour le patient qui peut bénéficier plus rapidement d'un traitement que pour la population, les patients non-dépistés en phase aiguë d'infection montrant un risque accru de transmission du virus.

Les réactifs les plus utilisés sont HIV Combi PT (Roche) (30.2% et 31.9%), Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (25.0% et 25.4%), Liaison XL Murex HIV Ag/Ab (DiaSorin) (9.9% et 10.01%) et VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (9.3% et 7.7%).

Résultats pour l'échantillon IS/15125

Laboratoires pairs: 90 (98.9%) ont obtenu un résultat réactif avec les tests de dépistage. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif ; étant donné que ce laboratoire a répondu un résultat réactif pour l'échantillon IS/15126 (avec les 2 techniques utilisées pour cet échantillon), il s'agit probablement d'une inversion d'échantillons.

Laboratoires impairs: 62 (98.4%) ont rapporté un résultat négatif avec les tests de dépistage. Un laboratoire a fourni un résultat réactif (ce laboratoire a également obtenu un résultat réactif pour l'échantillon IS/15126).

Résultats pour l'échantillon IS/15126

Laboratoires pairs: 90 (98.9%) laboratoires ont rapporté un résultat négatif avec les tests de dépistage. Le laboratoire qui a fourni un résultat réactif est le laboratoire qui a probablement interverti les 2 échantillons.

Laboratoires impairs: tous les laboratoires ont obtenu un résultat réactif avec les tests de dépistage.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2018.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités des experts ou du groupe de travail EEQ.