

I. REMARQUES GENERALES

Pour la 3^e enquête du cycle 2005 (enquête 2005/3), le matériel suivant a été expédié le 03 octobre 2005.

- 1.1. Deux échantillons cliniques et deux échantillons lyophilisés pour identification.
Pour deux échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés.
- 1.2. Deux suspensions formolées de selles pour la recherche de parasites.
- 1.3. Trois échantillons de plasma pour la recherche des anticorps de VIH, EBV et CMV.

NOMBRE DES PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

- | | | | |
|----|--|---|-----|
| 1. | Pour les identifications et antibiogrammes | : | 201 |
| 2. | Pour la parasitologie | : | 195 |
| 3. | Pour la sérologie | | |
| | VIH | : | 194 |
| | EBV | : | 169 |
| | CMV | : | 190 |

Nous remercions Marc Lontie pour les photographies de ce rapport global.

II. IDENTIFICATIONS

2.1. Culture 6410

Cet échantillon contenait un *E. coli* O157 qui ne produisait pas de toxine.

E. coli O157 produit généralement VT1 et/ou VT2, des cytotoxines que l'on appelle aussi toxines de Shiga (ST1 et ST2), d'où les dénominations *E. coli* producteurs de Verotoxines (VT) ou de toxines de Shiga (VTEC ouf STEC) qui peuvent être utilisées comme synonymes d' *E. coli* entérohémorragique (EHEC). Les EHEC typiques possèdent aussi le gène *eae* et sont entérohémolytiques (hémolyse uniquement sur sang de mouton lavé en tampon au calcium) tandis que l'un ou ces deux derniers facteurs de virulence sont absents chez les EHEC atypiques.

Pour pouvoir détecter de manière précoce les épidémies avec ces agents zoonotiques et en interrompre la transmission, il est recommandé de rechercher EHEC O157 sur tous les échantillons de selles soumis pour coproculture. On peut aussi décider de ne les rechercher qu'en cas de présence de sang macroscopique dans les selles, de notion de diarrhée sanglante dans l'anamnèse, dans les cas de syndrome hémolyse-urémie (HUS) et dans le cadre d'épidémies, mais on sait qu'un nombre non négligeable de EHEC O157 ne seront alors pas détectés. Malheureusement, la recherche de ces micro-organismes n'est toujours pas incluse dans la nomenclature de l'INAMI et en Belgique, seulement une minorité des laboratoires les recherchent.

Les EHEC O157 peuvent être recherchées sur un milieu de MacConkey modifié, le SMAC, qui contient du sorbitol en place du lactose ou sur des milieux chromogènes disponibles sur le marché. Sur milieu SMAC, elles forment des colonies incolores. La sensibilité peut être augmentée par l'addition de céfixime et de tellurite (milieu CT-SMAC) ou par l'utilisation de milieux d'enrichissement liquide ou par séparation immunomagnétique. Les colonies sorbitol négatif seront testées avec un antisérum ou un réactif latex anti-O157. Une agglutination aspécifique sera exclue par agglutination en sérum physiologique ou latex de contrôle. On s'assurera qu'il s'agit bien d'un *E. coli* par une galerie d'identification biochimique, sans oublier que ces EHEC O157 sont toujours β -glucuronidase négative et produisent parfois une uréase. Finalement, il faudra s'assurer de la présence des gènes de VT1 et/ou VT2 et des autres facteurs de virulence par PCR.

Les EHEC d'autres sérotypes (et les rares EHEC O157 fermentant le sorbitol) ne possèdent pas de biotype particulier et ne peuvent être détectés que par la production de toxines VT ou par la présence des gènes des VT par des techniques moléculaires. Pour cela, il est conseillé d'envoyer les échantillons de selles des patients atteints du HUS au laboratoire de référence de l'AZ-VUB.

Il faut noter que la dose infectieuse est très basse et que des cas de transmission interpersonnelle sont rapportés fréquemment, ainsi que des contaminations en laboratoire. C'est la raison pour laquelle on a décidé d'utiliser une souche particulière qui ne produit pas de toxine pour cet exercice.

La plupart des laboratoires ont donné une réponse qui montre qu'ils connaissent les EHEC O157. Cependant, il est difficile de faire la différence entre ceux qui ont bien vérifié l'agglutination pour l'antigène O157 de ceux qui ont considéré qu'un *E. coli* ne fermentant pas le sorbitol devait être un EHEC O157.

Quelques laboratoires ont fait la confusion avec d'autres groupes d'*E.coli* producteurs de diarrhée, les *E. coli* entéropathogènes (EPEC), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC) ou des micro-organismes proches tels que *E. fergusonii*. Quelques laboratoires ont rapporté l'absence d'isolement de micro-organismes pathogènes, ce qui ne peut pas être considéré comme fautif, puisque la nomenclature de l'INAMI n'exige encore toujours que la recherche de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter*.

Denis Pierard, AZ VUB, Brussel

2.2. La souche de la culture M/6411 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes reste une cause importante de pharyngite, d'infections invasives et de complications non suppuratives (Carapetis 2005, Cunningham 2000). La ré-émergence de manifestations cliniques depuis le milieu des années 80s et l'observation de l'expansion de certains sérotypes ont contribué à la mise en place d'un réseau européen de surveillance et à un regain de publications dans le monde (Carapetis 2005, Ekelund 2005, Lamagni 2005). Toutefois l'association de ces sérotypes avec la présence de gènes associés à la production de toxines érythrogènes, incriminées dans le « choc toxique streptococcique » ne semble pas l'apanage des souches invasives.

Par ailleurs, si la résistance à la pénicilline n'est pas encore d'actualité, la résistance de *S. pneumoniae* et *S. pyogenes* aux macrolides a, par contre augmenté dans plusieurs régions du globe, de façon souvent hétérogène de régions à régions et au moins liée en partie à la consommation de macrolides (Goossens abstract, Hsueh2006)

Identification

L'identification de cette souche de *S. pyogenes* à partir d'un échantillon comportant aussi des streptocoques viridans ne semble pas avoir posé plus de problèmes que lors de contrôles de qualité antérieurs (Evaluation CQ2000-3, CQ2003-3).

Il convient cependant de souligner que les tests de détection préliminaires couramment utilisés au laboratoire sont loin d'être fiables à 100%. Les laboratoires ne peuvent donc pas se contenter d'une zone d'inhibition autour de la bacitracine (0.04U), ni même peut-être de la recherche de l'antigène de groupe comme méthode d'identification définitive. En effet, des clones de *Streptococcus pyogenes* résistants à la bacitracine ont été décrits. Ces derniers peuvent être isolés dans les frottis de gorge et ne semblent pas associés à une invasivité particulière (Malhotra2003, CQ2000-3). Les laboratoires ne devraient donc idéalement pas stopper l'identification de colonies β-hémolytiques en cas d'absence de zone autour d'un disque de bacitracine.

Des souches de *S. dysgalactiae* exhibant l'antigène de groupe A ont été décrites (Brandt 1999) ; ces souches ne paraissent néanmoins pas très fréquentes et l'intérêt d'une identification plus poussée au niveau de l'espèce ne s'impose vraiment que dans les formes invasives et lors d'enquêtes de prévalence. Néanmoins, il faut garder à l'esprit que de tels pièges d'identification sont possibles même pour des souches isolées d'un frottis de gorge. On pourrait proposer, surtout en cas d'infection invasive, en plus de la détermination du groupe, une recherche de pyrrolidonylarylamidase et éventuellement une réaction de Voges-Proskauer. On pourrait dans le futur envisager la détection simultanées de caractères d'identification, de virulence et de résistance aux antibiotiques par micro-arrays (Davignon 2005).

Antibiogramme

L'antibiogramme par contre soulève plus de controverses, tant sur la méthodologie que sur les indications.

Un total de 11 laboratoires sur les 190 participants (6%) ne réalisent pas d'antibiogramme en routine et n'en ont pas fourni pour le Contrôle de Qualité. Il est hautement probable que parmi les laboratoires ayant fourni un antibiogramme pour le Contrôle de Qualité, bon nombre d'entre eux n'en réalise pas en réalité en routine. A partir des 179 laboratoires ayant fourni au moins un résultat de sensibilité à au moins 1 antibiotique, le tableau 4.1.1 a été réalisé. Le choix des antibiotiques était libre ; les 5 antibiotiques testés le plus fréquemment étaient la pénicilline, l'ampicilline, l'érythromycine, la clindamycine et la tétracycline.

Selon le CLSI/NCCLS, seuls les antibiogrammes des grandes colonies β -hémolytiques sont évalués avec les critères « streptococcus β -hémolytique »; les petites colonies β -hémolytiques, quel que soit leur antigène de groupe (A,C,R,G) sont assimilées aux viridans (CLSI/NCCLS 2005, facklam). Si le problème d'une éventuelle résistance ou tolérance à la pénicilline ne semble toujours pas se poser en pratique pour *S.pyogenes*, il n'en est pas de même pour les macrolides, molécules de substitution fréquentes, notamment en cas d'allergie à la pénicilline ou en cas d'échec clinique.

Plusieurs laboratoires déclarent ne fournir d'antibiogramme qu'en cas d'allergie ou pour des souches de sites profonds. Cette attitude est peut-être défendable en routine sur le plan individuel mais exige alors le maintien d'une surveillance régionale, tant parmi les souches invasives que parmi les souches isolées de frottis de gorge.

Mécanismes de résistance

La résistance aux macrolides peut être due à divers mécanismes chez *Streptococcus pyogenes*. La résistance par efflux, phénotype M, concerne tous les macrolides à 14 ou 15 atomes mais épargne les molécules à 16 atomes et la clindamycine (*mef*) ; la méthylation au niveau ribosomal (*erm*), phénotype MLS_B , peut être constitutive ou inductible. Le phénotype MLS_B constitutif concerne tous les macrolides, la clindamycine et la streptogramine B ; le phénotype MLS_B inductible comporte 3 sous-types. Le mécanisme d'induction de résistance doit être recherché par la méthode dite des doubles disques sur agar Mueller-Hinton enrichi de 5% de sang de mouton: un aplatissement de la zone de sensibilité à la clindamycine après incubation de 18h à 35°C, lorsque les papiers filtres de clindamycine (2 μ g) et d'érythromycine (15 μ g) sont distants de 12-20 mm suggère le mécanisme de résistance MLS_B inductible; l'isolat doit être considéré comme résistant à la clindamycine si le test démontre un aplatissement de la zone de sensibilité à la clindamycine. La méthode des triples disques, comportant aussi un macrolide à 16 carbones est nécessaire pour détecter les phénotypes concernant les 3 sous-types inductibles. D'autres mécanismes plus rares sont décrits également et une certaine confusion règne dans la littérature concernant la désignation des gènes, en particulier ceux associés à la méthylation de ARN ribosomal 23S (Roberts 1999). Une bonne corrélation existe entre les phénotypes et les génotypes, mais des phénotypes identiques peuvent être l'expression de gènes différents ou de combinaisons de mécanismes (Grivéa 2006).

Prévalence de la résistance

La prévalence de la résistance aux macrolides est variable selon les pays et les régions, variable dans le temps et semble en partie liée à la consommation des macrolides et des antibiotiques apparentés ou non (Goossens abstract, Hsueh 2006). Bien que la résistance aux macrolides ne soit pas considérée comme un problème aux USA des % très élevés de résistance, dépassant 5%, y ont été décrits dans certaines régions, par exemple 48% à Pittsburgh pendant l'hiver 2000-2001 (Martin 2002). Une forte prévalence de résistance a été décrite en Finlande et semble avoir chuté après une diminution de l'usage des macrolides et la diversification des molécules (Seppala 1997) ; la prévalence semble par contre très faible en Norvège 1,6% (Kristiansen 2001) et par contre, certains pays européens observent des % de résistance préoccupants, 34,5% en Espagne (Perez 2005), 35,8% au Portugal (Melo 1999).

En Belgique, des données provenant du centre de référence sont disponibles et indiquent une augmentation de résistance particulièrement depuis 1997. Même si les souches sont plus souvent invasives dans la période comparative de 1993 à 1994, le % de résistance

des souches envoyées au centre de référence était de 5,8% en 1993 à 1994 et 8,9% en 1997, le % global de l'étude rétrospective étant de 6,5% (Descheemaeker 2000). Des données plus récentes provenant de 3866 souches isolées de cas de pharyngite indiquent un % de résistance de 13% aux macrolides.

Concernant *Streptococcus pyogenes*, une relation avec le niveau de consommation des macrolides a été suggérée en Finlande et est également suggérée dans une étude belge (Goossens 2001). Il est difficile d'attribuer l'entière responsabilité de l'augmentation de résistance aux macrolides, mais de nombreuses études ont montré cette relation et une relation inverse ou au moins une stabilisation en cas de diminution de l'exposition aux macrolides. Néanmoins cette observation ne semble pas s'appliquer à *S.pneumoniae* (Hsueh 2006), ni à toutes les régions du monde. Les mécanismes moléculaires sous-jacents et les causes de l'expansion de clones porteurs de co-résistance n'ont pas été suffisamment étudiés (Perez)

Résultats et commentaires

Les performances générales des laboratoires sont bonnes (2 discordances mineures pour la pénicilline et le groupe des tétracyclines, 1 pour l'ofloxacine), certaines de ces erreurs pouvant être dues à des erreurs de lecture ou d'interprétation.

Les diamètres médians sont nettement inférieurs aux valeurs seuil de résistance pour les macrolides et la clindamycine. Parmi les 3 résultats discordants pour l'érythromycine (2 ROSCO, 1 CLSI) et les 2 discordants pour la clindamycine (1 pour chaque méthode), on ne peut exclure des erreurs de lecture ou d'interprétation. Par la méthode CLSI par exemple (tableau 4.1.2), 1 résultat est déclaré sensible à l'érythromycine et 1 sensible à la clindamycine, alors que les diamètres extrêmes obtenus par les laboratoires mentionnant la charge des disques s'étalent de 6 à 10 mm pour l'érythromycine (valeur seuil de résistance ≤ 15 mm) et 6 à 14 mm pour la clindamycine (valeur seuil de résistance ≤ 15 mm). Les résultats bruts « S » obtenus par ROSCO ont été changés en « R » pour la clindamycine par 2 laboratoires et à la fois pour la clindamycine et l'érythromycine par 2 laboratoires également.

Les méthodes utilisées et les choix d'antibiotiques méritent également des remarques. Le rapport a retenu que les données les plus résistantes lorsqu'un laboratoire fournissait des résultats contradictoires suite à l'usage de plusieurs méthodes, sauf en cas d'information spécifique du laboratoire.

Le Vitek 2 n'est validé que pour le streptococcus β -hémolytique ; la croissance hétérogène de *S.pyogenes* interdit une interprétation de l'antibiogramme Vitek et ne peut être utilisée. Il faut rejeter la pratique qui consiste à introduire une identification de « *S.agalactiae* » afin d'obtenir une interprétation des valeurs de croissance.

Aucune discordance n'a été observée pour les souches testées en ATB, SIRSCAN et Phoenix, et parmi les quelques résultats sur OSIRIS, la classique discordance au SXT est observée (le laboratoire utilisant cet appareil a judicieusement corrigé le résultat brut « I » en « résistant »).

Dans la littérature, peu de données validées sont disponibles pour le E-test. Des publications nombreuses témoignent pourtant de l'utilisation régulière du E-test mais elles sont éparses, rarement comparatives, concernent divers antibiotiques dont la pénicilline, des quinolones, l'acide fusidique et divers macrolides. Peu d'études sont consacrées à l'effet d'une incubation en CO_2 qui diminue l'activité des macrolides in vitro. Dans les études comparatives, peu de discordances entre la méthode de diffusion, par disques, la détermination des MIC par dilution en bouillon ou en agar et le E-test ont été observées (Melo 1999, Van Assel 1995).

Stevens a étudié l'effet de combinaisons de pénicilline et de clindamycine dans des infections expérimentales chez la souris et in vitro (Stevens 1998). Dans cette étude in vitro, les MICs moyennes obtenues pour la clindamycine sont 0,06 µg/ml et 0,16 µg/ml respectivement par microdilution et par E-test en CO₂ (MBC 0,22 µg/ml). Une revue de ces études indiquent qu'en cas de doute, et si la clinique en suggère la nécessité de déterminer une MIC, le E-test peut probablement être utile (Martin 2002).

Deux souches sont rapportées intermédiaires à la pénicilline, dont une basée sur un diamètre d'au moins 25 mm en méthode CLSI (tableau 4.1.2) et une en ROSCO (tableau 4.1.3). La réponse en CLSI pourrait correspondre à une erreur d'interprétation puisque la limite de sensibilité est de ≥ 24 mm et les valeurs extrêmes rapportées sont de 25 à 46 mm. Il faut de toute façon encourager les laboratoires à contrôler ce type de résultat par la détermination de la MIC par une méthode de référence ou au moins par E-test et d'envoyer ces souches au laboratoire de référence (3 résultats de MIC à la pénicilline par E-test sont disponibles et confirment la sensibilité de la souche, tableau 4.1.4). Rappelons qu'aucune souche résistante à la pénicilline ou de sensibilité réduite n'a été isolée en Belgique.

L'oxacilline ne peut pas être utilisée pour prédire la sensibilité à la pénicilline pour les streptocoques autres que *S.pneumoniae*.

Les résultats du triméthoprime-sulfaméthoxazole ne devraient pas être rapportés, même s'ils font partie d'une batterie d'antibiotiques, d'autant que de nombreuses discordances apparaissent pour cette bactérie naturellement résistante à cette association.

Il est délicat à l'heure actuelle d'imposer la réalisation d'un antibiogramme sur les souches de streptocoques β A isolés de sites non profonds, mais il paraît judicieux de faire tester régulièrement des souches par un laboratoire de référence. Il est néanmoins recommandé de tester régulièrement au moins la sensibilité aux macrolides, de choisir une méthode par diffusion en agar et de conseiller aux laboratoires qui ne réalisent pas d'antibiogrammes systématiques de conserver les souches quelques jours à température ambiante (attention germes fragiles...).

Traitement

Il est établi que le traitement de la pharyngite a au moins partiellement contribué à la réduction des complications suppuratives et au déclin du rhumatisme articulaire aigu (RAA). Par ailleurs le traitement contribue à la réduction de la dissémination. Il fut établi par le passé que la prévention du RAA est acquise lorsque le traitement efficace est administré dans les 9 jours après le début de la maladie. L'effet bénéfique sur le cours de la maladie ne s'observe de façon significative que si le traitement est très précocement instauré (Pichichero 1987). En dehors d'un contexte épidémique ou de signes de toxicité ou d'une constellation de signes et symptômes statistiquement associés à l'infection streptococcique, la clinique ne permet pas de poser un diagnostic de certitude. La bonne habitude de certains pédiatres, dans les cas douteux de prescrire l'antibiotique et ne le faire administrer par les parents qu'en cas de réponse positive rapide du laboratoire ne devrait pas se perdre, surtout si le laboratoire utilise une technique de détection rapide, malheureusement non remboursée en Belgique (recherche d'antigène, biologie moléculaire). Une approche également défendable est d'instaurer le traitement empiriquement et de le stopper si le diagnostic n'est pas confirmé par le laboratoire.

La pénicilline par voie orale, pénicilline V pendant 10 jours, reste le traitement de référence (phénoxyéthylpénicilline : 25.000 U/kg/j en 4 prises ; 3x10⁶U chez l'adulte). De nombreuses études ont néanmoins montré la supériorité des céphalosporines orales, en particulier de 1^{ère} génération, en termes de suppression du portage et de réponse clinique (Casey 2004). Bien que la méthodologie de cette étude paraisse rigoureuse, des réticences sur la méthodologie des méta-analyses ont été exprimées (Shulman 1994).

La fréquence d'administration idéale des pénicillines est de 3 à 4 fois/jour, bien que certaines études ont montré une efficacité avec 500 mgx2 de Pen V chez les grands enfants et adolescents. Peu d'études ont évalué l'impact de ces modes d'administration en 2 fois sur la flore bactérienne. L'amoxiciline, dont le sirop pour enfants a l'avantage d'un goût acceptable a certainement un impact sur la flore digestive aussi important, voire encore plus important que les céphalosporines, il a été efficace à raison de 2 fois par jour, mais à la dose de 45 mg/kg, le traitement a un prix officiel plus légèrement plus élevé que le cefadroxil. Au final, de nombreuses études rapportent la supériorité des céphalosporines orales sur la pénicilline, les céphalosporines orales de 1^{ère} génération peuvent être administrées aux patients souffrant d'allergie non immédiate, elles peuvent être administrées 1x/j ce qui augmente la compliance, certaines sont peu coûteuses et sont certainement alternatives de choix à la pénicilline (cefadroxil 30 mg/kg, 1g chez l'adulte).

La durée de 10 jours peut être raccourcie à 5 jours avec des antibiotiques tels que la clarithromycine, azithromycine, le céfuroxime, certaines céphalosporines orales de 3^{ème} génération, non commercialisées en Belgique (céfixime, ceftibuten, cefdinir, cefpodoxime). Aux USA, seules cefdinir, cefpodoxime et azithromycine sont approuvées dans cette indication (Bisno 2005).

La benzathine pénicilline est réservée aux patients incapables de déglutir, souffrant de troubles digestifs importants ou non compliants (chez les enfants : 600.000 unités lorsque le poids est ≤ 27 kg, 1.200.000 unités si le poids est > 27 kg ; chez les adolescents et les adultes : 2.400.000 unités).

En cas d'allergie à la pénicilline ou aux céphalosporines, les macrolides sont les médicaments de choix (érythromycine 20-40 mg/kg en 2 à 4 doses, max 1g); les néomacrolides sont nettement mieux tolérés que l'érythromycine, mais ils sont plus coûteux et ne sont pas clairement supérieurs en termes d'efficacité.

Il va de soi que les affections sévères associées à des sites profonds nécessitent un traitement par voie parentérale, de même que certains cas d'infections suppuratives.

Remarque

Ces échantillons ont, dans le cadre d'une étude comparative, été envoyés également dans une enquête du CMPT (Clinical Microbiology Proficiency testing), Vancouver, Canada (sous la direction du Dr. M. Noble). Les résultats des laboratoires canadiens peuvent être retrouvés à la page internet suivante:

http://www.interchg.ubc.ca/cmpt/pdf_critiques_2005/m052_1_th_gas_aug_05.pdf

F. Crockaert, Institut J. Bordet, Bruxelles

REFERENCES

- 1 Bisno AL, Stevens DL. 2005. *Streptococcus pyogenes*. In Principles and Practice of Infectious Diseases (6th edition). Gerald L Mandell, John E Bennett, Raphael Dolin. Churchill Livingstone Inc, New York 2000;p. 2364-68
- 2 Brandt CM, Haase G, Schnitzler N, Zbinden R, Lütticken R. 1999. Characterization of Blood Culture Isolates of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* Possessing Lancefield's Group A Antigen. *J. Clin. Microbiol.* 37 :4194-4197.
- 3 CLSI/NCCLS 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th informational supplement. M100-S15 vol.25n°1. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 4 Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. 2004. The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet Infectious Diseases* 5:685-694.
- 5 Casey JR, Pichichero ME. 2004. Meta-analysis of cephalosporin versus penicillin treatment of group A streptococcal tonsillopharyngitis in children. *Pediatrics* 113:866-882.
- 6 Cunningham MW. 2000. Pathogenesis of Group A Streptococcal Infections. *Clin. Microbiol. Reviews.* 13: 470-511.
- 7 Davignon L, Walter EA, Mueller KM, Barrozo CP, Stenger DA, Lin B, on behalf of the Epidemic Outbreak Surveillance Consortium. Use of Resequencing Oligonucleotide Microarrays for Identification of *Streptococcus pyogenes* and Associated Antibiotic Resistance Determinants. *J. Clin. Microbiol.* 43:5690-5695.
- 8 Descheemaeker P, Chapelle S, Lammens C, Hauchecorne M, Wijdooghe M, Vandamme P, Ieven M, Goossens H. 2000. Macrolide resistance and erythromycin resistance determinants among Belgian *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J of Antimicrob. Chemother.* 45:167-73.
- 9 Ekelund K, Darenberg J, Norrby-Teglund A, Hoffmann S, Bang D, Skinhoj P, Konradsen HB. 2005. Variations in emm type among group A streptococcal isolates causing invasive or noninvasive infections in a nationwide study. *J. Clin. Microbiol.* 43:3101-9.
- 10 Evaluation externe de la qualité des analyses en Biologie Clinique. Enquêtes 2000-3 e t 2003-3.
- 11 Facklam R. 2002. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes. *Clin. Microbiol. Reviews* 15:613-630.
- 12 Goossens H, Lammens C, Lontie M, Stalpaert M, André M, Van Pelt H, Dellanoy P, Drion S, Hendrickx E. 2001. *Streptococcus pyogenes* (S py) resistance to erythromycin (ERY) in relation to mechanisms of resistance, genotype, and Consumption to macrolides (M). ICAAC 41st Chicago, # C2-1314abstract consomma macrolides
- 13 Grivea IN, Al-Lahham A, Katopodis GD, Syrogiannopoulos GA, Reinert RR. 2006. Resistance to erythromycin and telithromycin in *Streptococcus pyogenes* isolates obtained between 1999 and 2002 from Greek children with tonsillopharyngitis: phenotypic and genotypic analysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:256-61
- 14 Hsueh P.-R., Shyr J.-M. and Wu J.-J. 2006. Changes in macrolide resistance among respiratory pathogens after decreased erythromycin consumption in Taiwan. *Clin Microbiol and Infect.* 12:296-298
- 15 Kristiansen BE, Sandnes RA, Mortensen L, Tveten Y, Vorland L. 2001. The prevalence of antibiotic resistance in bacterial respiratory pathogens from Norway is low. *Clin. Microbiol. Infect.* 7:682-7 ds Bacterio\Strepto\streptoABEtest-biblio
- 16 Lamagni TL, Efstration A, Vuopio-Varkila J, Jasir A, Schalén C. 2005. Eurosurveillance www.eurosurveillance.org. 10 :179-184
- 17 Malhotra-Kumar S, Wang S, Lammens C, Chapelle S, Goossens H. 2003. Bacitracin-Resistant Clone of *Streptococcus pyogenes* Isolated from Pharyngitis Patients in Belgium. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 5282-5284.
- 18 Malhotra-Kumar S, Lammens C, Chapelle S, Wijdooghe M, Piessens J, Van Herck K, Goossens H. 2005. Macrolide- and telithromycin-resistant *Streptococcus pyogenes*, Belgium, 1999-2003. *Emerg. Infect. Dis.* 11(6):939-42

- 19 Martin JM, Green M, Barbadora KA, Wald ER. 2002. Erythromycin-resistant group A streptococci in schoolchildren in Pittsburgh. *N Engl J Med.* 346:1200-6.
- 20 Melo-Cristino J, Fernandes ML. 1999. *Streptococcus pyogenes* isolated in Portugal: macrolide resistance phenotypes and correlation with T types. Portuguese Surveillance Group for the Study of Respiratory Pathogens. *Microb. Drug. Resist.* 5:219-25.
- 21 Perez-Trallero E, Garcia-de-la-Fuente C, Garcia-Rey C, Baquero F, Aguilar L, Dal-Re R, Garcia-de-Lomas J; Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. 2005. Geographical and ecological analysis of resistance, coresistance, and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1965-72.
- 22 Pichichero ME, Disney FA, Talpey WB, Green JL, Francis AB, Roghmann K.J, Hoekelman RA. 1987. Adverse and beneficial effects of immediate treatment of group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis with penicillin. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1987;6:635-643.
- 23 Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. 1999. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2823-2830.
- 24 Seppala H, Klaukka T, Vupio-Varkila J et al. 1997. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. *N. Engl. J. Med.* 337: 491-492.
- 25 Shulman ST, Gerber MA, Tanz RR, Markowitz M. Streptococcal pharyngitis: the case for penicillin therapy. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1994;13:1-7
- 26 Stevens D, Madaras-Kelly KJ, Richard DM. 1998. *Antimicrob. Agents Chemother.*
- 27 Van Asselt GJ, Sloos JH, Mouton RP, Van Boven CP, Van de Klundert JA. 1995. Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to azithromycin, clarithromycin, erythromycin and roxithromycin in vitro. *J Med Microbiol.* 43:386-91

2.3. La souche de la culture M/6354 était une *Nocardia nova*.

Les *Nocardia* font partie des actinomycétales aérobies avec les autres nocardioformes dont ils doivent être distingués : *Rhodococcus*, *Dietzia*, *Gordonia* et *Tsukamurella*. A cause de leur acido-résistance partielle, elles doivent également être différenciées des mycobactéries à croissance rapide.

Les *Nocardia* sont des bacilles à gram positif, polymorphes, souvent filamenteux, avec des ramifications et des fragmentations en éléments coccoïdes. Ils présentent une acido-résistance partielle d'intensité très variable mais rarement absente. Ils poussent aisément en 1 à 3 jours sur les milieux classiques ne contenant pas d'antibiotiques. Leurs colonies sont mycéliennes («spider colonies») et forment généralement des myceliums aériens («aerial mycelium»). Ceux-ci peuvent être très abondants et visibles à l'oeil nu sous forme d'un tapis de duvet blanc, ou ils peuvent être peu nombreux et seulement repérables à la loupe. De plus, ils n'apparaissent pas toujours rapidement ni sur toutes les cultures, mais ils font rarement défaut. Leur présence constitue un élément important de l'identification, puisqu'ils n'apparaissent pas chez les nocardioformes cités plus haut ni chez les mycobactéries à croissance rapide. Les colonies elles-mêmes ont souvent une couleur ocre ou saumon mais celle-ci peut être masquée par l'abondance du mycelium aérien. Elles s'émulsionnent mal, formant des grains ou des membranes.

Les *Nocardia* sont catalase positive, aérobies et ne fermentent pas les sucres mais peuvent les acidifier par oxydation.

Plus de quarante espèces de *Nocardia* ont été décrites mais beaucoup n'ont pas été retrouvées chez l'homme ou ne sont actuellement représentées que par un ou quelques isollements. Jusqu'il y a peu, *N. asteroides* était considérée comme l'espèce la plus fréquente. Toutefois, elle s'est avérée être formée d'un complexe hétérogène qui a récemment été démembré en plusieurs nouvelles espèces, au point que *N. asteroides* «sensu stricto» n'est que rarement isolée. Malgré le grand nombre d'espèces, une étude récente a montré qu'environ 95 % des souches isolées en Belgique appartiennent seulement à 5 espèces : *N. farcinica*, *N. nova* (qui à eux deux représentent deux tiers des isollements), *N. cyriacigeorgica*, *N. abscessus* et *N. brasiliensis*. Quoique l'identification des espèces soit difficile au laboratoire de routine, quelques tests simples associés au profil de sensibilité à quelques antibiotiques, testés ici dans un but diagnostique, permettent une orientation parmi les espèces courantes. Ils sont résumés dans le tableau suivant :

Gélatine	Urée	PYR ¹	γ-Glut ²	Amoxy	Amoxyclav	Cefotax Ceftriaxone	Cipro	Erythro Clarithro	Tobra	Imip
-	+	+	+	R	S	R	S/R	R	R	S
-	v	+	-	S	I/R	I/R	R	S	I/R	S
-	-	-	+	I/R	I/R	S	R	R	S	S
-	+	-	+	S	S	S	R	S/R	S	S/R
+	+	-	+	R	S	I/R	R	R	S	R

N. farcinica
N. nova
N. cyriaciorgica
N. abscessus
N. brasiliensis

¹: = pyrrolidonyl aminopeptidase.

²: = γ-glutamyl aminopeptidase.

Comme on peut le voir et compte tenu de la forte prépondérance des espèces mentionnées, quelques identifications présomptives simples sont possibles : seules *N. farcinica* et *N.nova* sont pyrrolidonyl aminopeptidase positives ; la première est toujours résistante aux macrolides (érythromycine ou clarithromycine), la seconde toujours sensible. Une souche qui hydrolyse la gélatine ou la caséine et est résistante à l'imipénème est presque à coup sûr *N. brasiliensis*. *N. cyriacigeorgica* est uréase négative et est toujours résistante à la ciprofloxacine et aux macrolides mais sensible à la tobramycine. Ceci ne sont que quelques exemples.

Concernant la sensibilité aux antibiotiques, celle-ci peut être réalisée par la méthode de diffusion des disques en gélose ou par la détermination des CMI en E-test. Comme mentionné ci-dessus l'antibiotype peut être utilisé comme aide à l'identification d'une souche de *Nocardia* au niveau de l'espèce. Bien que toutes les souches de *Nocardia* secrètent des beta-lactamases (dont il existe plusieurs types différents) il existe une importante variabilité inter-espèces de sensibilité aux beta-lactamines. Ceci s'explique par des différences dans les profils d'activité des beta-lactamases rencontrées chez les *Nocardia* ainsi que par une variabilité des profils des PLPs de paroi et de la perméabilité membranaire. Une sensibilité à l'ampicilline et une résistance paradoxale à l'amoxiciline-clavulanate est typiquement retrouvée chez *N. nova*. A l'inverse *N. farcinica* est résistante à l'amoxiciline et aux céphalosporines de 3ème génération mais est sensible à l'amoxiciline-clavulanate. *N. brasiliensis* présente une résistance constante aux carbapénèmes tandis qu'environ la moitié des souches de *N. abscessus* est résistante à ces antibiotiques. Le profil de sensibilité/résistance aux macrolides (érythromycine, clarithromycine), à la tobramycine et aux fluoroquinolones (ciprofloxacine) est également très utile pour orienter en première approximation l'identification au niveau des différentes espèces les plus fréquemment rencontrées en clinique.

Les *Nocardia* peuvent donner des manifestations cliniques diverses et touchent préférentiellement des patients débilisés ou immunodéprimés mais elles peuvent également occasionner des infections post-traumatiques chez des sujets sains. Les localisations respiratoires sont les plus fréquentes, mais on observe également des mycétomes, des infections suppuratives, aussi bien superficielles que profondes (p.ex. des abcès du cerveau). Dans de rares cas, une généralisation septicémique peut également survenir. Quoique qu'il n'y ait pas de spécificité liée à l'espèce dans les manifestations pathologiques, certaines formes cliniques sont plus fréquemment rencontrées chez certaines espèces. Plusieurs auteurs considèrent *N. farcinica* comme plus invasive et une majorité des septicémies lui sont imputables. Par contre, *N. brasiliensis* est généralement observé dans des infections locales, plaies ou abcédations et mycétomes.

Sur le plan thérapeutique le traitement des nocardioses repose sur des recommandations empiriques, compte tenu de l'absence de données issues d'essais cliniques bien contrôlés. Les sulfamides associés au triméthoprim (cotrimoxazole) constituent le traitement de référence. Cependant, compte tenu de la nécessité d'un traitement prolongé (classiquement 6 mois), de la tolérance parfois médiocre à cette association, et de la description de cas d'échecs cliniques, d'autres classes d'antibiotiques actives in vitro ont été utilisés avec succès en clinique. Les alternatives thérapeutiques reposent généralement sur l'association d'une beta-lactamine et de l'amikacine, en particulier les combinaisons imipénème + amikacine ou ceftriaxone + amikacine qui apparaissent comme les plus actives et qui doivent être préconisées. L'association amoxicilline-acide clavulanique a également été utilisée avec succès.

Enfin, les tétracyclines, en particulier la minocycline, présentent de nombreux avantages (absorption orale permettant un relais per os pour les traitements prolongés, bonne diffusion cérébrale, faible toxicité) qui en font également de bons candidats en cas de contre-indication du cotrimoxazole. Parmi les quinolones, seule la ciprofloxacine présente une efficacité suffisante mais variable selon les espèces (cf. tableau) et son utilisation clinique n'est envisageable qu'après échecs des autres molécules et sur la base des résultats de l'antibiogramme. Même si *N.nova* est sensible aux macrolides, de nombreuses espèces de *Nocardia* sont intrinsèquement résistantes à cette famille d'antibiotique qui ne présente pas d'intérêt en clinique.

La grande majorité des participants à l'enquête ont répondu *Nocardia* sp., se limitant au genre, ce qui est tout à fait acceptable pour le laboratoire clinique. Toutefois, les éléments qui précèdent montrent qu'à l'heure actuelle, avec quelques tests simples et le profil de sensibilité aux antibiotiques, il est possible, même en routine, d'arriver à un diagnostic présomptif plus précis.

Prof. G. Wauters, Prof. Y. Glupczynski

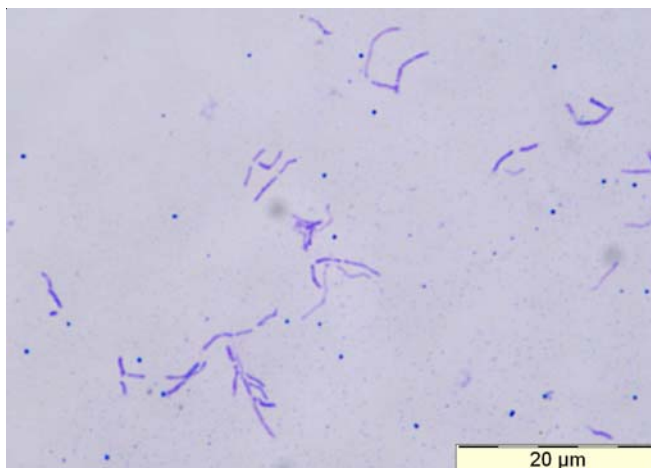


Figure 2.1. *Nocardia nova* (échantillon de cette enquête)

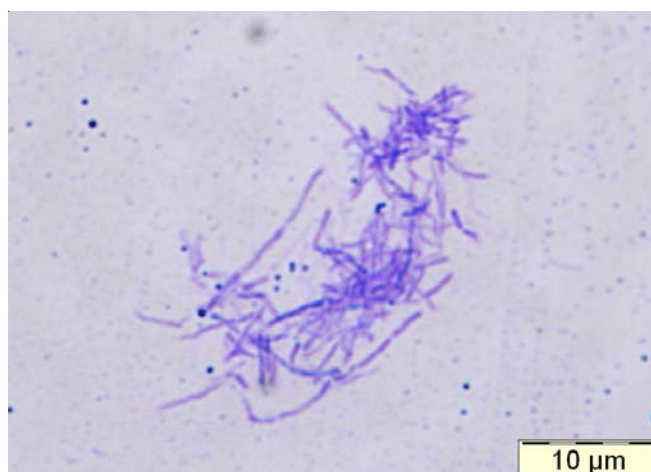


Figure 2.2. *Nocardia nova* (échantillon de cette enquête)

2.4. La souche M5983 était une *Burkholderia multivorans*, une espèce du complexe *Burkholderia cepacia*

et était (intentionnellement) originaire des sécrétions respiratoires d'un patient souffrant de fibrose kystique (FK) ou mucoviscidose. La colonisation par ce type de pathogène du tractus respiratoire d'un patient atteint de mucoviscidose est associée à de nombreuses et sévères complications (infections extrêmement difficiles à traiter, complications en cas de greffe pulmonaire).

B. cepacia est un non-fermentant ubiquitaire, qui n'est pas retrouvé fréquemment dans les échantillons cliniques, mais qui récemment a reçu beaucoup d'attention, en raison de l'association mentionnée ci-dessus.

En pratique la reconnaissance du genre ne semble pas poser de grands problèmes: en tout cas, la souche renvoyée a été identifiée correctement par la plus grande partie des participants. Dans ce commentaire, nous démontrons qu'il est préférable de faire confirmer cette identification par des techniques supplémentaires ou dans un laboratoire de référence.

Taxonomie.

Grâce aux nouvelles connaissances taxonomiques, différents nouveaux genres, comme *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia* e.a., ont été séparés du grand genre *Pseudomonas* décrit il y a environ 100 ans.

Le genre *Burkholderia* comporte le pathogène humain *B. pseudomallei* (agent causal de la mélioiidose, avec comme source importante les champs de riz d'Indochine), le pathogène d'animaux *B. mallei* (agent causal de la morve) et une série de non-pathogènes ou opportunistes comme *B. gladioli* et le complexe *B. cepacia*.

Jusque récemment, on parlait dans la littérature du complexe *B. cepacia*, étant donné qu'il s'agit d'un groupe de bactéries apparentées, mais les 9 genomovars ont été entre-temps reconnus comme espèces : *B. cepacia*, *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. stabilis*, *B. vietnamiensis*, *B. dolosa*, *B. ambifaria*, *B. anthina* et *B. pyrrocinia*.

Les souches qui sont retrouvées chez les patients FK appartiennent à toutes les espèces, mais 80 à 90 % sont *B. cenocepacia* et *B. multivorans*.

Identification et détection

- L'identification provisoire du complexe *B. cepacia*

L'identification n'est pas tellement difficile, après croissance en cultures pures. La détection du *B. cepacia* est moins facile dans les échantillons qui contiennent d'autres espèces, notamment *P. aeruginosa* qui dans les stades primaires de FK se présente comme une colonisation avec des grandes colonies de croissance rapide et qui donne souvent dans les stades ultérieurs des colonies variables (plus ou moins grandes ou petites, plus ou moins mucoïdes). Par contre, les colonies de *B. cepacia* peuvent prendre 2-4 jours avant d'avoir une croissance; de plus l'aspect des colonies sur gélose McConkey est très variable. Si ce n'est pas repris dans les techniques de base du laboratoire d'incuber les échantillons des patients CF plus longtemps que 48H, la recherche de *Burkholderia* doit donc être précisée au laboratoire par le clinicien.

Il existe 3 géloses sélectives dont le *B. cepacia* selective agar (BCSA) est la meilleure. Cette gélose est utilisée par certains en routine pour la culture des échantillons FK. Cependant, comme c'est presque toujours le cas, cette gélose n'a pas de sélectivité absolue et l'identification doit être confirmée avec d'autres techniques.

- *L'identification définitive:*

jusqu'au niveau de l'espèce n'est presque pas réalisable dans le laboratoire de routine, mais chez le patient FK elle est importante à cause du pronostic, traitement et des mesures d'isolement. Hors laboratoire universitaire équipé de techniques adéquates, le mieux est d'effectuer cette identification, comme cela a été le cas pour cette souche, dans un laboratoire de référence dont voici les coordonnées (<http://www.iph.fgov.be/epidemiologie/epinl/plabnl/plabannl/index.htm>)

Epidémiologie

Les espèces du complexe *B. cepacia* sont retrouvées partout dans la nature, le sol, les eaux de surface, sur les légumes et les fruits. Il n'est pas illogique que la fréquence relative de chaque espèce soit différente selon l'habitat, mais il n'y a aucun modèle fixe. On a démontré que ces espèces sont résistantes aux conditions hostiles et peuvent résister à certains antiseptiques.

Le mode de contamination par ces souches est lié à l'utilisation de soins par nébulisation et l'infection opportuniste se déclare chez les patients immunodéficients comme les FK ou les greffés.

B. cepacia survit très bien dans les voies respiratoires des patients FK, dont l'anatomie et la physiologie sont fortement altérées.

Plus récemment décrites sont les contaminations par transmission croisée de *Burkholderia* de patients colonisés ou infectés vers d'autres, soignés dans les mêmes centres ou groupés dans des lieux communs pendant les vacances (en Belgique, il y a 7 centres reconnus). Actuellement, ces infections croisées sont pour la plus grande partie empêchées par des mesures spécifiques. Les jours de consultation (et même les vacances) des patients FK *P.aeruginosa* positifs sont maintenant souvent différents de ceux des patients *P.aeruginosa* négatifs ; on essaie de faire la même chose pour les MRSA et le *B. cepacia*.

La colonisation des voies respiratoires ressemble beaucoup à celle de *P.aeruginosa* : suite aux précautions d'hygiène appliquées rigoureusement, il y a eu une diminution de la transmission clonale de souche entre patients. Au cours de la maladie, il apparaît souvent que le patient est colonisé par des souches différentes, probablement d'origine environnementale, bien que ceci n'ait pas pu être démontré.

La souche anglaise ET12 est très de très mauvais pronostic.

Ce clone est fortement associé au « syndrome *B.cepacia* », caractérisé par une rapide détérioration de la fonction pulmonaire et une mortalité accrue; en histologie on remarque des micro-abcès typiques.

La distribution de *Burkholderia spp.* dans le FK n'est probablement pas un reflet de la fréquence des différentes espèces dans la nature, mais probablement une meilleure adaptation de ces espèces à la nouvelle écosphère.

Comme mentionné plus haut, l'épidémiologie de *B. cepacia* est probablement très analogue à celle par *P.aeruginosa*. La fréquence est moins grande, et la colonisation vient dans un « stade » ultérieur.

Une dernière remarque concernant la situation belge: la discussion de la situation récente et les données publiées montrent que le problème du BC n'est actuellement qu'un problème minime (incidence basse, pas de dissémination clonale, souches non-virulentes).

Sensibilité aux antibiotiques, et traitement

BC est naturellement résistant à plusieurs antibiotiques, et certaines souches sont multi-résistantes ; ce qui a pour conséquence de réduire drastiquement les options thérapeutiques.

A ce problème s'ajoute que seule une partie des antibiotiques est considérée comme validée pour l'exécution de l'antibiogramme de diffusion. Le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, le nouveau nom du NCCLS) limite dans le document M100-S15 (standards pour l'antibiogramme, version janvier 2005) les antibiotiques à tester à la ceftazidime, au méropénème (pour les deux avec des « breakpoints » différents), à la minocycline et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. L'antibiogramme de dilution permet de tester beaucoup plus d'antibiotiques.

Microbiologie des échantillons FK.

La microbiologie des colonisations et infections respiratoires chez le FK est complexe. En résumé, il y a succession des agents pathogènes suivants:

- Les pathogènes classiques des voies respiratoires *H.influenzae*, pneumocoques, *M.catarrhalis*, mais également les enterobacteriaceae et *S.aureus*
- Présence permanente de *S.aureus* et des souches d'enterobacteriaceae à croissance déficiente avec un phénotype atypique, (p.ex. *E.coli* poussant sur gélose McConkey et pas sur TSA et gélose au sang)
- Après, *P.aeruginosa* : une phase cruciale
- Des souches de *P.aeruginosa* atypiques et mucoïdes: un nombre important de souches qui ne peuvent pas être identifiées avec les techniques classiques. Cachées par ces colonies mucoïdes, de nouvelles colonisations de non-fermentants
- *B. cepacia* (complexe), clones virulents et moins virulents
- À cause d'une pression antibiotique permanente et une anatomie/histologie aberrante pour finir également *Achromobacter xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia* et autres non-fermentants
- MRSA : les vrais *mecA* positifs, ou « faux » (*mecA* négatif, recroissance de colonies autour du disque oxa-1 ou cefox-25) MRSA
- Colonisation avec une ou plusieurs souches de moisissures (*Aspergillus spp.*, *Pseudallescheria*)

Le traitement des échantillons d'expectoration FK est donc un vrai défi. A cause de la grande fréquence de ces isolats difficiles, certaines personnes conseillent d'effectuer une identification avec les techniques d'ADN. Pour finir, il y a encore le problème de la fiabilité clinique de l'antibiogramme de beaucoup de ces souches (croissance lente, conditions d'exécution aberrantes, combinaisons antibiotique-germe non-validées...).

Conclusion:

- l'identification exacte de l'espèce de cette souche est *B.multivorans*, mais en pratique *B. cepacia complexe* est également correct, et *B. cepacia* est, vu le «contexte historique», tout à fait acceptable.
- en pratique, l'identification provisoire de *B. cepacia* repose sur la découverte d'un non-fermentant oxidase-positif, qui pousse sur le B.cepacia-agar sélectif, et où on arrive avec un système (dans la plupart des cas commercial) à une identification probable. Pour des raisons d'épidémiologie, il est souhaitable d'envoyer les souches des patients FK au centre de référence.

G. Claeys, UZ, Gand

REFERENCES

1. Melissa B. Miller and Peter H. Gilligan Laboratory Aspects of Management of Chronic Pulmonary Infections in Patients with Cystic Fibrosis *Journal of Clinical Microbiology*, September 2003, p. 4009-4015, Vol. 41, No. 9
2. Tom Coenye , Peter Vandamme, John R. W. Govan, and John J. LiPuma Taxonomy and Identification of the Burkholderia cepacia Complex *Journal of Clinical Microbiology*, October 2001, p. 3427-3436, Vol. 39, No. 10
3. Lipuma JJ. Update on the Burkholderia cepacia complex. *Curr Opin Pulm Med*. 2005 Nov;11(6):528-33.
4. Patrick R. Murray , Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller, Robert H. Yolken. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition (American Society for Microbiology).
5. Revets H, Vandamme P, Van Zeebroeck A, De Boeck K, Struelens MJ, Verhaegen J, Ursi JP, Verschraegen G, Franckx H, Malfroot A, Dab I, Lauwers S. Burkholderia (Pseudomonas) cepacia and cystic fibrosis: the epidemiology in Belgium. *Acta Clin Belg*. 1996;51(4):222-30.

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N=201)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées

3.1. Culture M/6410 *Escherichia coli* O157 (selles)

Cet échantillon est considéré comme didactique ; pour une appréciation des différentes réponses nous référons à la description sous point 2.1.

<i>Escherichia coli</i> O157	74
<i>Escherichia coli</i> O157 EHEC	21
<i>Escherichia coli</i> O157 STEC	3
<i>Escherichia coli</i> O157 EPEC	2
<i>Escherichia coli</i> O157 H7	17
<i>Escherichia coli</i> O157 H7 EHEC	5
<i>Escherichia coli</i> O157 H7 VTEC	2
<i>Escherichia coli</i> O157 H7 (-)	3
<i>Escherichia coli</i> O157 H-	1
<i>Escherichia coli</i> O157 K- EHEC	2
<i>Escherichia coli</i> O17 H7 EHEC	1
<i>Escherichia coli</i> sorbitol négatif	3
<i>Escherichia coli</i> sorbitol négatif: envoi*	4
<i>Escherichia coli</i> pathogène	3
<i>Escherichia coli</i>	8
<i>Escherichia coli</i> : envoi*	11
<i>Escherichia coli</i> EHEC	15
<i>Escherichia coli</i> EPEC	7
<i>Escherichia coli</i> VTEC	2
<i>Escherichia coli</i> STEC	1
<i>Escherichia coli</i> EIEC	1
<i>Escherichia fergusonii</i>	1
<i>E. coli</i> et <i>Enterococcus sp.</i> : pas de pathogène O157 H7 n'est pas recherché au labo	1
Absence de germes pathogènes	6
Absence de germes pathogènes envoi dans le cadre d'un outbreak	1
Négatif	2
Pas de coproculture au labo	3
Pas de réponse	1

* Les laboratoires qui ont répondu « envoi », ont donné cette réponse parce qu'ils voulaient confirmer une suspicion d'*E. coli* O157, d'*E. coli* O157 H7, d'EHEC, ou d'autre par le centre de référence (et non pas parce qu'ils envoient systématiquement chaque *E. coli* provenant des selles); pour des raisons de simplification tous ces laboratoires sont repris sous le dénominateur « envoi » dans le tableau ci-dessus).

3.2. Culture M/6411 *Streptococcus pyogenes* (écouvillon de gorge)

<u><i>Streptococcus pyogenes</i></u>	171 (85.1%)
<u><i>Streptococcus</i> β-hémolytique groupe A</u>	21 (10.4%)
<u><i>Streptococcus</i> groupe A</u>	8 (4.0%)
<i>Streptococcus milleri</i>	1

3.3. Culture M/6354 *Nocardia nova* (expectoration)

<u><i>Nocardia species</i></u>	174 (86.6%)
<u><i>Nocardia nova</i></u>	1 (0.5%)
<i>Nocardia asteroides</i>	11
<i>Burkholderia cepacia</i>	3
<i>Actinomyces species</i>	2
<i>Rhodococcus species</i>	2
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	1
<i>Corynebacterium species</i>	1
<i>Flavobacterium species</i>	1
<i>Gordona bronchialis</i>	1
Bacille Gram positif non identifié au labo	1
Pas de réponse	2

3.4. Culture M/5983 *Burkholderia multivorans*, une espèce du complexe *Burkholderia cepacia* (expectoration)

<u><i>Burkholderia cepacia</i></u>	181 (90.0%)
<u><i>Burkholderia cepacia</i> complex</u>	7 (3.5%)
<u><i>Burkholderia cepacia multivorans</i></u>	1
<u><i>Burkholderia multivorans</i></u>	2
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	1
<i>Pseudomonas cepacia</i>	2
<i>Nocardia species</i>	3
<i>Chryseomonas luteola</i>	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
Pas de réponse	1

IV. ANTIBIOGRAMME

Un aperçu général des résultats par échantillon est présenté au début de la discussion de chaque échantillon. Dans le traitement ultérieur les résultats sont analysés selon les méthodes utilisées. Un certain nombre de laboratoires n'ont pas déterminé d'antibiogramme pour une des deux souches: 10 laboratoires n'ont pas déterminé d'antibiogramme pour M/6411 et deux ne l'ont pas déterminé pour M/5983. Un laboratoire n'a pas déterminé d'antibiogramme pour aucune des deux souches.

L'antibiogramme type a été réalisé par plusieurs experts.

4.1 Culture M/6411 *S. pyogenes* (écouvillon de gorge)

Nombre de participants = 190

Les laboratoires ont eu le choix de tester les antibiotiques qu'ils testent en routine pour la sensibilité de *S. pyogenes* (le nombre d'antibiotiques étant limité à 5 ; néanmoins certains laboratoires en ont testé plus). Un certain nombre de laboratoires ont déclaré ne pas déterminer d'antibiogramme pour *S. pyogenes* étant donné que toutes les souches sont sensibles à la pénicilline. Certains laboratoires ont mentionné le commentaire dans lequel sont mentionnées des alternatives en cas d'allergie à la pénicilline qu'ils fournissent dans ce cas au clinicien; certains laboratoires ont déclaré qu'en cas d'infections profondes ils effectuent un antibiogramme. Certains des laboratoires qui ont effectué l'antibiogramme, ont néanmoins mentionné qu'en routine ils n'effectuent pas d'antibiogramme pour *S. pyogenes* originaire d'un écouvillon de gorge.

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes ; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat le plus résistant, sauf si le laboratoire a ajouté une remarque sur le résultat qu'ils fournissent finalement au clinicien.

Tous les antibiotiques, qui ont été testés par les laboratoires sont repris dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R
Pénicilline	S	154	152	2	-
Oxacilline	S	6	6	-	-
Ampicilline	S	47	47	-	-
Amoxicilline	S	20	20	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	S	20	20	-	-
Céphalosporine 1 ^e génération ¹	S	1	1	-	-
Céfadroxil	S	6	6	-	-
Céfalexine	S	1	1	-	-
Céfalotine	S	13	13	-	-
Céfazoline	S	13	13	-	-
Céfuroxime	S	9	9	-	-
Céfotaxime	S	19	19	-	-
Ceftriaxone	S	3	3	-	-
Céfépime	S	3	3	-	-
Erythromycine	R	169	3	-	166
Clarithromycine	R	11	-	-	11
Azithromycine	R	2	-	-	2
Clindamycine	R	120	2	-	118
Tétracycline	S	47	46	1	-
Doxycycline	S	43	42	1	-
Minocycline	S	2	2	-	-
Ciprofloxacine	S	6	6	-	-
Lévofloxacine	S	28	28	-	-
Moxifloxacine	S	5	5	-	-
Norfloxacine	S	1	1	-	-
Ofloxacine	S	5	4	1	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole		28	17	2	9
Vancomycine		25	25	-	-
Chloramphénicol		2	2	-	-
Quinopristine-Dalfopristine		1	1	-	-
Rifampicine		1	1	-	-
Linézolide		1	1	-	-

¹ Un laboratoire n'a pas mentionné le nom de céphalosporine de la 1^e génération qu'il a utilisé

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné que l'échantillon montrait une résistance du type MLS_B constitutive.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.9. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Lorsque la méthode complète était reprise, nous avons déterminé le diamètre médian, minimum et maximum pour les méthodes de diffusion sur disque selon CLSI et ROSCO (NEO-SENSITABS).

Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée ou ne mentionnent pas la charge des disques utilisés ; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires rapportent un diamètre égal à « zéro » dans le cas où il y a une croissance jusqu'au bord du disque. Il est toutefois conseillé de ne pas répondre « zéro » dans ces cas, mais de donner le diamètre du disque. Dans ce cas également ces résultats pas été pris en compte pour les calculs suivants.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon CLSI pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	29 (37)	10	32	25 - 46	36	1	-
Oxacilline	1 (1)	1	25	25 - 25	1	-	-
Ampicilline	18 (19)	10	31	25 - 40	19	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	5 (5)	20+10	36	18 - 40	5	-	-
Céfalexine	1 (1)	30	26	26 - 26	1	-	-
Céfalotine	3 (4)	30	29	26 - 30	4	-	-
Céfazoline	2 (2)	30	33.5	27 - 40	2	-	-
Céfuroxime	3 (3)	30	32	26 - 36	3	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	31	31 - 31	1	-	-
Céfépime	1 (2)	30	30	30 - 30	1	-	-
Erythromycine	36 (42)	15	6	6 - 10	1	-	41
Clarithromycine	6 (6)	15	6	6 - 7	-	-	6
Azithromycine	1 (1)	15	7	7 - 7	-	-	1
Clindamycine	27 (31)	2	6	6 - 14	1	-	30
Tétracycline	14 (14)	30	26	21 - 40	13	1	-
Doxycycline	3 (6)	30	28	25 - 30	6	-	-
Ciprofloxacin	2 (3)	5	26	22 - 30	3	-	-
Lévofloxacin	9 (11)	5	22	18 - 26	11	-	-
Ofloxacin	2 (2)	5	19.5	19 - 20	1	1	-
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1 (1)	1.25+23.75	25	25 - 25	1	-	-
Vancomycine	8 (10)	30	20	17 - 23	10	-	-
Chloramphénicol	- (1)	-	-	-	1	-	-
Linézolide	1 (1)	30	26	26 - 26	1	-	-

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	76 (79)	5	31	24 - 40	78	1	-	-
Oxacilline	7 (7)	1	24	18 - 30	4	-	-	3
Ampicilline	27 (27)	33	36	26 - 45	26	-	-	1
Amoxicilline	16 (16)	30	34.5	25 - 46	16	-	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	14 (15)	30+15	35	24 - 46	15	-	-	-
Céfadroxil	6 (6)	30	27.5	20 - 36	6	-	-	-
Céfalotine	9 (9)	66	34	30 - 37	9	-	-	-
Céfazoline	10 (10)	60	33	24 - 42	10	-	-	-
Céfuroxime	5 (6)	60	34	29 - 40	6	-	-	-
Céfotaxime	5 (6)	30	36	33 - 41	6	-	-	-
Ceftriaxone	2 (2)	30	33	32 - 34	2	-	-	-
Céfépime	1 (1)	30	33	33 - 33	1	-	-	-
Erythromycine	81 (94)	78	10	9 - 31	2	-	92	-
Clarithromycine	4 (5)	30	10	9 - 10	-	-	5	-
Azithromycine	1 (1)	30	9	9 - 9	-	-	1	-
Clindamycine	57 (63)	25	10	9 - 30	1	-	62	-
Tétracycline	15 (20)	80	30	26 - 34	20	-	-	-
Doxycycline	34 (35)	80	30	22 - 42	34	1	-	-
Minocycline	- (1)	-	-	-	1	-	-	-
Ciprofloxacin	2 (3)	10	23.5	23 - 24	3	-	-	-
Lévofloxacin	5 (6)	5	24	20 - 35	6	-	-	-
Moxifloxacin	2 (3)	5	23.25	19.5 - 27	3	-	-	-
Ofloxacin	2 (3)	10	21	20 - 23	3	-	-	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	17 (20)	5.2+240	30	9 - 38	13	-	7	-
Vancomycine	7 (11)	5	20	17 - 26	11	-	-	-
Rifampicine	1 (1)	30	40	40 - 40	1	-	-	-

* Trois laboratoires ont utilisé les résultats des tests de sensibilité par disques Rosco à l'oxacilline pour répondre la sensibilité à la pénicilline. Un laboratoire a utilisé les disques d'ampicilline pour répondre la sensibilité à la pénicilline.

Les résultats obtenus avec le E test sont repris dans le tableau 4.1.4. Vu le nombre limité d'utilisateurs de cette technique pour la détermination de la sensibilité de la souche M/6411, un traitement statistique utile des résultats n'est pas possible.

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec le E test pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*)

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	3	-	-
Erythromycine	-	-	2

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.1.5.

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibiotique	Vitek 1				Vitek 2					
	Résultat final			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateur)
	S	I	R			S	I	R		
Pénicilline	1	-	-	-	- (1)	2	-	-	≤ 0,12	1 (2)
Ampicilline	1	-	-	-	- (1)	-	-	-	-	-
Céfotaxime	-	-	-	-	-	1	-	-	-	- (1)
Erythromycine	-	-	-	-	-	-	-	2	≥ 8	1 (2)
Clindamycine	-	-	-	-	-	-	-	2	0,5	1 (2)
Tétracycline	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 1	1 (1)
Norfloxacine	1	-	-	-	- (1)	-	-	-	-	-
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	-	-	-	-	-	-	1	-	-	- (1)
Vancomycine	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 1	1 (1)

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.1.6. La plupart des laboratoires ont mentionné seulement le résultat (S, I ou R) et n'ont pas mentionné les valeurs obtenues.

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*)

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	2	-	-
Céfotaxime	10	-	-
Erythromycine	-	-	20
Clindamycine	-	-	19
Tétracycline	10	-	-
Doxycycline	1	-	-
Lévofloxacine	10	-	-
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	3	-	-
Vancomycine	3	-	-
Chloramphénicol	1	-	-
Quinopristine-Dalfopristine	1	-	-

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris, Phoenix et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.7. à 4.1.9. A ce jour, il n'y a pas assez d'utilisateurs de ces appareils pour effectuer un traitement statistique utile des résultats quantitatifs. Si le nombre d'utilisateurs augmentait, ce traitement pourrait être effectué.

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	5	-	-
Ampicilline	2	-	-
Céfotaxime	1	-	-
Erythromycine	-	-	5
Clindamycine	-	-	3
Tétracycline	1	-	-
Doxycycline	1	-	-
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1	-	-
Vancomycine	1	-	-

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	3	-	-
Amoxycilline	2	-	-
Erythromycine	-	-	3
Clindamycine	-	-	1
Tétracycline	2	-	-
Lévofloxacine	1	-	-
Moxifloxacine	1	-	-

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/6411 (*S. pyogenes*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	3	-	-
Oxacilline	1	-	-
Ampicilline	2	-	-
Amoxycilline	1	-	-
Erythromycine	-	-	4
Clindamycine	-	-	3
Tétracycline	1	-	-
Doxycycline	2	-	-
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	-	-	2
Vancomycine	1	-	-

Il reste à mentionner que:

- 1 laboratoire a déterminé la sensibilité à la pénicilline, l'érythromycine et la clindamycine avec Mini Api
- 1 laboratoire a considéré la pénicilline et les céphalosporines de la 1^e génération comme sensibles sur base d'une extrapolation du résultat d'oxacilline (sans mentionner ce résultat de l'oxacilline)
- six laboratoires n'ont pas mentionné la méthode utilisée pour un ou plusieurs antibiotiques

La plupart des laboratoires n'ont pas changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Néanmoins quelques laboratoires ont quand même changé ce résultat brut, sur base des règles d'expertise ou non :

- 1 laboratoire a changé un résultat brut « I » en final « R » pour la triméthopri-
sulfaméthoxazole (Osiris)
- 1 laboratoire a changé des résultats bruts « S » (Rosco) et « I » (Vitek 2) en
finals « R » pour la clindamycine; un autre laboratoire a changé « S » en « R »
(Rosco)
- 2 laboratoires ont changé pour l'érythromycine et la clindamycine un résultat
brut « R » en final « S » (1 laboratoire pour la méthode des disques et l'autre
pour la méthode Rosco)

4.2 Culture M/5983 *Burkholderia cepacia* (expectoration)

Nombre de participants = 198

Trois laboratoires n'ont pas répondu d'antibiogramme pour la souche M/5983; certains l'ont expliqué en référant au manque d'une carte Vitek pour le *Burkholderia*.

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné avoir déterminé la sensibilité de ce *Burkholderia cepacia* après une incubation de 18-24h à 30°C.

Tous les laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques.

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes ; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat de la CMI dans le tableau suivant.

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ceftazidime	S	192	182	7	2	1 ⁵
Méropénème	S	167	95 ³	51	20	1 ⁵
Imipénème ¹		14	1	-	13	-
Minocycline	S	62	51	3	8	-
Doxycycline ²		27	27	-	-	-
Tétracycline ²		15	3	8 ⁴	4	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	S	194	190	-	4	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu qu'au méropénème

² Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la doxycycline et/ou la tétracycline au lieu qu'à la minocycline. Certains de ces laboratoires ont néanmoins mentionné que ces résultats ne peuvent pas être extrapolés et que la sensibilité à la minocycline doit être déterminée séparément.

³ Un laboratoire a mentionné que le résultat pour le méropénème était « S » mais que ce résultat sera accompagné de la remarque suivante « Conseil final pour le méropénème: utiliser un dosage élevé 3x2 g; utiliser en combinaison avec autres antibiotiques; pas le traitement de 1^{er} choix; si nécessaire effectuer une CMI ».

⁴ Un laboratoire a répondu le résultat final « I » pour la tétracycline mais l'a accompagné par la remarque explicite que la minocycline ou la doxycycline peuvent encore être sensibles.

⁵ Un laboratoire a mentionné que pour le *B. cepacia* la méthode de diffusion par disque et la détermination de la CMI sur Vitek 2 ne sont pas les méthodes les plus appropriées et qu'avec les résultats bruts obtenus (« S » pour ces 2 techniques et « I » pour l'E test pour la ceftazidime; pour le méropénème « R » pour les disques et « S » pour le Vitek 2 et l'E test) le clinicien serait contacté pour discuter des possibilités thérapeutiques et les limites des posologies habituelles.

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.9. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Lorsque la méthode complète était reprise, nous avons déterminé le diamètre médian, minimum et maximum pour les méthodes de diffusion sur disque selon CLSI et ROSCO (NEO-SENSITABS).

Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée ou ne mentionnent pas la charge des disques utilisés ; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires rapportent un diamètre égal à « zéro » dans le cas où il y a une croissance jusqu'au bord du disque. Il est toutefois conseillé de ne pas répondre « zéro » dans ces cas, mais de donner le diamètre du disque. Dans ce cas également ces résultats n'ont pas été pris en compte pour les calculs suivants.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon CLSI pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*1
Ceftazidime	33 (37)	30	29	19 - 32	34	2	-	1
Méropénème	30 (32)	10	19.5	6 - 28	19	5	7	1
Imipénème	3 (4)	10	6	6 - 6	-	-	4	-
Minocycline	15 (15)	30	20	14 - 25	11	2	2	-
Doxycycline	4 (6)	30	18	17 - 20	6	-	-	-
Tétracycline	3 (3)	30	15	13 - 15	-	2	1	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	31 (37)	1.25+23.75	24	15 - 28	37	-	-	-

¹ Un laboratoire a mentionné que pour le *B. cepacia* la méthode de diffusion par disque et la détermination de la CMI sur Vitek 2 ne sont pas les méthodes les plus appropriées et qu'avec les résultats bruts obtenus (« S » pour ces 2 techniques et « I » pour l'E test pour la ceftazidime; pour le méropénème « R » pour les disques et « S » pour le Vitek 2 et l'E test) le clinicien serait contacté pour discuter des possibilités thérapeutiques et les limites des posologies habituelles.

Tableau 4.2.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	S/I	I	R
Ceftazidime	83 (87)	30	30	18 - 42	86	-	1	-
Méropénème	65 (69)	10	26	9 - 34	58	1	3	7
Imipénème	9 (10)	15	12	9 - 20	1	-	-	9
Minocycline	42 (43)	80	29	9 - 35	38	-	1	4
Doxycycline	21 (21)	80	30	25 - 32	21	-	-	-
Tétracycline	11 (11)	80	24	12 - 25	3	-	6	2
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	83 (90)	5.2+240	40	29 - 55	87	-	1	2

Les résultats obtenus avec le E test sont repris dans le tableau 4.2.4. Vu le nombre limité d'utilisateurs de cette technique pour la détermination de la sensibilité de la souche M/5983, un traitement statistique utile des résultats n'est pas possible.

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec le E test pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*)

Antibiotique	Résultat			
	S	I	R	*
Ceftazidime	4	-	-	1
Méropénème	2	-	1	1
Minocycline	1	-	-	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	1	-	-	-

* Un laboratoire a mentionné que pour le *B. cepacia* la méthode de diffusion par disque et la détermination de la CMI sur Vitek 2 ne sont pas les méthodes les plus appropriées et qu'avec les résultats bruts obtenus (« S » pour ces 2 techniques et « I » pour l'E test pour la ceftazidime; pour le méropénème « R » pour les disques et « S » pour le Vitek 2 et l'E test) le clinicien serait contacté pour discuter des possibilités thérapeutiques et les limites des posologies habituelles.

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.2.5.

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*)

Antibiotique	Vitek 1					Vitek 2					
	Résultat final			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final				Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateur)
	S	I	R			S	I	R	*		
Ceftazidime	-	1	1	16	1 (2)	44	2	-	1	4	32 (47)
Méropénème	-	-	2	≥ 16	1 (2)	7	36	2	1	4	19 (46)
Minocycline	-	-	1	-	- (1)	-	-	-	-	-	-
Tétracycline	-	-	1	≥ 16	1 (1)	-	-	-	-	-	-
Triméthopri- sulfaméthoxazole	1	-	1	≤ 10	1 (2)	46	-	-	-	≤ 20	38 (46)

* Un laboratoire a mentionné que pour le *B. cepacia* la méthode de diffusion par disque et la détermination de la CMI sur Vitek 2 ne sont pas les méthodes les plus appropriées et qu'avec les résultats bruts obtenus (« S » pour ces 2 techniques et « I » pour l'E test pour la ceftazidime; pour le méropénème « R » pour les disques et « S » pour le Vitek 2 et l'E test) le clinicien serait contacté pour discuter des possibilités thérapeutiques et les limites des posologies habituelles.

Dans la plupart des cas la « dilution mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette dilution. Généralement pour la plupart des antibiotiques les réponses ne diffèrent pas plus d'une dilution. Dans quelques cas néanmoins, une plus grande différence a été retrouvée pour le Vitek 2:

- pour la ceftazidime un laboratoire a mentionné une dilution de 1 mg/l et un laboratoire une dilution de 16 mg/l
- pour le méropénème, un laboratoire a mentionné une dilution de 0.5 mg/l, un laboratoire une dilution de ≤ 2 mg/l et un laboratoire une dilution de > 32 mg/l
- pour la triméthopri-
sulfaméthoxazole un laboratoire a mentionné une dilution de 5 mg/l et un laboratoire une dilution de ≥ 32 mg/l

Il reste à mentionner qu'un laboratoire a utilisé le Vitek 2 compact et a trouvé un résultat « S » pour la ceftazidime et la triméthopri-
sulfaméthoxazole et un résultat « I » pour le méropénème.

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.2.6. La plupart des laboratoires ont mentionné seulement le résultat (S, I ou R) et n'ont pas mentionné les valeurs obtenues.

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*)

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ceftazidime	13	1	1
Méropénème	10	2	2
Triméthopri- sulfaméthoxazole	15	-	-

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.2.7.

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*)

Antibiotique	Résultat final			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ceftazidime	7	-	-	8	5 (7)
Méropénème	3	4	-	8	4 (7)
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	7	-	-	≤ 0.5/9.5	7 (7)

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.2.8. à 4.2.9. A ce jour, il n'y a pas assez d'utilisateurs de ces appareils pour effectuer un traitement statistique utile des résultats quantitatifs. Si le nombre d'utilisateurs augmentait, ce traitement pourrait être effectué.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*)

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ceftazidime	5	-	-
Méropénème	1	-	2
Minocycline	-	1	-
Tétracycline	-	1	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	4	-	1

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/5983 (*Burkholderia cepacia*).

Antibiotiques	Résultat		
	S	I	R
Ceftazidime	3	-	-
Méropénème	2	-	1
Minocycline	1	-	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	3	-	-

Il reste à mentionner que:

- 4 laboratoires n'ont pas mentionné la méthode utilisée pour un ou plusieurs antibiotiques

La plupart des laboratoires n'ont pas changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Néanmoins quelques laboratoires ont quand même changé ce résultat brut, sur base des règles d'expertise ou non:

- le méropénème
 - o S -> I: 23 laboratoires pour Vitek 2 et 1 pour Rosco
 - o S -> I/S: 1 laboratoire pour Rosco
 - o S -> R: 1 laboratoire pour Rosco et 1 pour la méthode des disques
 - o I -> R: 1 laboratoire (méthode non mentionné)
- la minocycline
 - o S -> R: 2 laboratoires pour Rosco
 - o I -> R: 1 laboratoire pour Rosco et 1 pour la méthode des disques

- tétracycline
 - o S -> I: : 1 laboratoire pour la méthode des disques
 - o I -> R: 1 laboratoire pour Rosco
- triméthoprim-sulfaméthoxazole
 - o S -> R: 1 laboratoire pour Rosco

V. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

Deux suspensions de selles formolées ont été envoyées : P/6242 et P/6243.

195 laboratoires ont participé à cette enquête.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était 31%. Nous aimerions demander d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. En outre d'un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter un certain nombre d'erreurs : fautes de frappe, utilisation d'anciens codes, erreurs d'encodage,...

Les échantillons étaient accompagnés des renseignements cliniques suivants :

P/6242:

Femme de 26 ans qui retourne de Guinée (Conakry) avec diarrhée.

P/6243:

Selles d'un enfant adoptif d'Inde.

L'échantillon P/6242 contenait des kystes d'*Endolimax nana*, de *Chilomastix mesnili*, d'*Entamoeba coli* et de *Blastocystis hominis*.

L'échantillon P/6243 contenait des kystes de *Giardia lamblia* et des oeufs d'*Hymenolepis nana*.

5.2. Les résultats

5.2.1 L'échantillon P/6242

Les 195 laboratoires ont fourni 453 réponses. 38 ont répondu la présence d'un parasite, 72 ont répondu la présence de 2 parasites, 66 ont répondu la présence de 3 parasites et 18 ont répondu la présence de 4 parasites. 1 laboratoire a répondu «Absence de parasites».

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/6242

Résultat	Nombre
<i>Entamoeba coli</i>	173
<i>Blastocystis hominis</i>	124
<i>Endolimax nana</i>	80
<i>Chilomastix mesnili</i>	38
<i>Entamoeba hartmanni</i>	10
<i>Entamoeba histolytica</i>	7
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	5
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4
<i>Giardia lamblia, G.intestinalis</i>	2
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Entamoeba dispar</i> ou <i>histolytica</i>	1
<i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Toxocara cati</i>	1
Absence de parasites	1
Total	453

Les combinaisons des parasites, répondues par les laboratoires, sont reprises dans les tableaux suivants :

Tableau 5.2.2. Combinaisons de 2 parasites répondues pour l'échantillon P/6242

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	41
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i>	15
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	2
<i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	3
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	2
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	2
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Giardia lamblia</i>	1
<i>Entamoeba dispar</i> ou <i>histolytica</i> + <i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1
Total	72

Tableau 5.2.3. Combinaisons de 3 parasites répondues pour l'échantillon P/6242

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i>	38
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	14
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	3
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	4
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Endolimax nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Toxocara cati</i>	1
<i>Endolimax nana</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	1
Total	66

Tableau 5.2.4. Combinaisons de 4 parasites répondues pour l'échantillon P/6242

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	14
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Chilomastix mesnili</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	4
Total	18

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Entamoeba coli*, *Blastocystis hominis*, *Endolimax nana* et *Chilomastix mesnili* sont repris dans les tableaux suivants. Pour l'*Endolimax nana* 2 laboratoires ont mentionné 2 stades dévolution.

Tableau 5.2.5 Stades d'évolution d'*Entamoeba coli* pour l'échantillon P/6242

Stade d'évolution	Nombre
Kyste	168
Oocyste	2
Trophozoïte	2
Oeuf	1
Total	173

Tableau 5.2.6 Stades d'évolution de *Blastocystis hominis* pour l'échantillon P/6242

Stade d'évolution	Nombre
Kyste	90
Non précisé	14
Trophozoïte	11
Oocyste	6
Forme végétative	2
Oeuf	1
Total	124

Tableau 5.2.7 Stades d'évolution d'*Endolimax nana* pour l'échantillon P/6242

Stade d'évolution	Nombre
Kyste	79
Forme végétative	2
Oeuf	1
Total	82

Tableau 5.2.8 Stades d'évolution de *Chilomastix mesnili* pour l'échantillon P/6242

Stade d'évolution	Nombre
Kyste	38
Total	38

5.2.2 **Commentaire**

Nous référons au point 5.4. et également aux rapports globaux 2000/2 (*Entamoeba coli*), 2002/3 (*Endolimax nana*) et 2004/3 (*Blastocystis hominis*).

5.3. L'échantillon P/6243

5.3.1 Les résultats

Les 195 laboratoires ont fourni 384 réponses. 9 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 183 ont répondu la présence de 2 parasites et 3 ont répondu la présence de 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/6243

Résultat	Nombre
<i>Hymenolepis nana</i>	188
<i>Giardia lamblia</i> , <i>G.intestinalis</i>	184
<i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Taenia saginata</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Heterophyes heterophyes</i>	1
Total	384

Les combinaisons des parasites, répondues par les laboratoires, sont reprises dans les tableaux suivants :

Tableau 5.3.2. Combinaisons de 2 parasites répondues pour l'échantillon P/6243

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	175
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Taenia saginata</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Heterophyes heterophyes</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
Total	183

Tableau 5.3.3. Combinaisons de 3 parasites répondues pour l'échantillon P/6243

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
Total	3

Les stades dévolutions répondus par les laboratoires pour *Giardia lamblia* et *Hymenolepis nana* sont repris dans les tableaux suivants :

Tableau 5.3.4. Stades d'évolution de *Giardia lamblia* pour l'échantillon P/6243

Stade d'évolution	Nombre
Kyste	181
Oeuf	2
Trophozoïte	1
Total	184

Tableau 5.3.5. Stades d'évolution de *Hymenolepis nana* pour l'échantillon P/6243

Stade d'évolution	Nombre
Oeuf	180
Kyste	6
Oocyste	1
Forme végétative	1
Total	188

5.3.2 Commentaire

Nous référons au point 5.4. et aux rapports globaux 2002/3 (*Hymenolepis nana*) et 2003/3 (*Giardia lamblia*).

5.4. Commentaire sur les résultats et concernant les parasites

La conservation des kystes des protozoaires est difficile. Même dans des échantillons de selles fixés au formol, ces kystes se détériorent lentement mais irréversiblement. La conservation des kystes de *Blastocystis hominis* est encore plus difficile. Les kystes de la plupart des souches de *B. hominis* se détériorent très rapidement (certains après quelques heures) même dans des échantillons de selles fixés. Toutes ces données ont pour conséquence qu'il n'est pas facile de trouver des échantillons appropriés pour un Contrôle de Qualité de la parasitologie dans les selles.

Photographier les protozoaires est compliqué vu la profondeur de champs limitée des objectifs à immersion (qui sont nécessaires vu les dimensions minuscules de ces éléments). Quand on examine les protozoaires, on se forme, grâce au réglage micrométrique, une image effectivement spatiale du kyste ou du trophozoïte avec tous les détails importants au diagnostic, comme l'aspect du noyau avec une chromatine en amas (*Endolimax nana*) ou avec un caryosome central et une chromatine périphérique (*Entamoeba* spp). Des belles photographies sont donc souvent le fruit du hasard. Les appareils digitaux offrent une multitude de possibilités étant donné leurs capacités d'enregistrement presque illimitées.

Les directives pratiques pour l'exécution d'un examen parasitologique des selles peuvent être retrouvés dans l'excellent manuel de Garcia (2) et sur le site web du CDC (5).

L'échantillon (P/6242) d'une femme belge de 26 ans après retour de Guinée (Conakry) contenait une multitude de protozoaires. Il est parfaitement possible que certains protozoaires ne soient retrouvés que par certains participants (entre autre à cause de l'impossibilité de rendre cet échantillon parfaitement homogène). Quelques mois au par avant, lors d'une visite antérieure en Belgique, ses selles contenaient également beaucoup de kystes de *Giardia lamblia*. La présence de cette diversité de protozoaires (dans l'échantillon soumis au CQ) est probablement plus le « symptôme » que la cause de ses problèmes intestinaux. Ils démontrent en tout cas quelle a séjourné dans un environnement où la possibilité de transmission de protozoaires intestinaux (pathogènes, non-pathogènes et opportunistes) existait (4). Il est possible que cette femme ait une déficience (relative) en IgA sécrétoire comme présumé pour les infections au *Giardia lamblia* (3).

La présence d'*Hymenolepis nana* accompagnés de *Giardia lamblia* (P/6243) n'est pas rare chez les enfants adoptifs, originaires de différents continents (un enfant d'origine indienne dans le cas présent). *H. nana* est auto-infectieux, un fait qui entretient très facilement l'infection (cf. rapport QC 2002/3).

La suite du commentaire présentera à l'aide de quelques photographies microscopiques une description des protozoaires les plus importants et d'*Hymenolepis nana*, présents dans les échantillons de cette enquête.

Blastocystis hominis

Les kystes (6 - 40 μm) ont une dimension variable. On peut distinguer différents noyaux périphériques et un grand élément central (*central body*, vacuole) (2). Ils se colorent très légèrement en jaune avec le Lugol. Pour plus de données au sujet de ce « parasite » controversé nous renvoyons au « review » récent de Boudewijns *et al.* (1). Les kystes de la souche de cette enquête sont particulièrement robustes étant donné qu'on peut les retrouver sans problèmes après quelques mois dans cet échantillon fixé au formol.

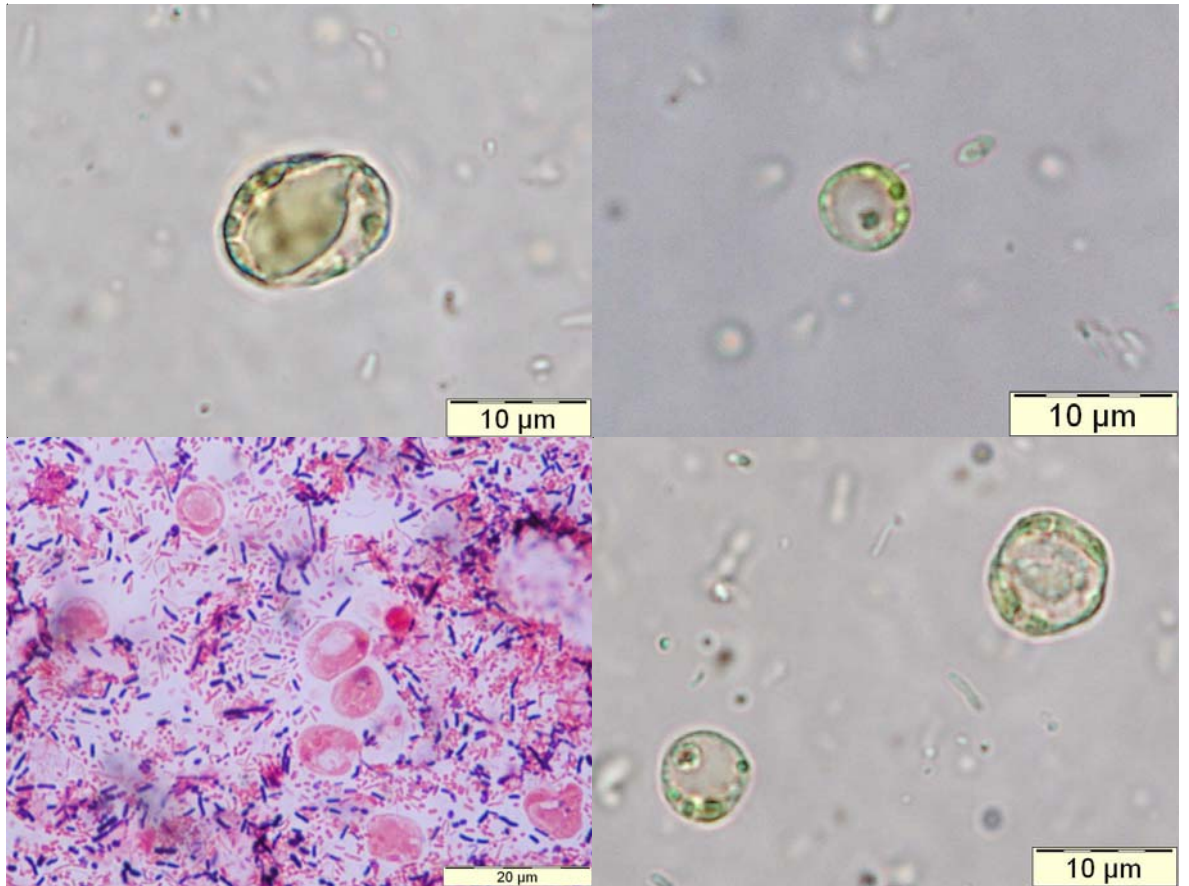


Figure 5.1. *Blastocystis hominis*: à gauche en bas (Gram); les 3 autres photos sont de l'échantillon P/6242 de cette enquête (coloré au Lugol).

Chilomastix mesnili

Les kystes (6 - 10 μm) de ce petit flagellé (non-pathogène) sont retrouvés parfois dans les selles. Ce kyste est typiquement ovale (toutefois des formes circulaires peuvent être également retrouvées), contient un noyau avec une chromatine en amas (comme l'*Endolimax nana*; cfr. infra) sans structure clairement visible (contrairement à l'*Entamoeba* spp.; cfr. infra) mise facilement en évidence avec la coloration simple au Lugol, et accompagné d'habitude d'une fibrille cystosomiale courbe (*shepherds crook*) (2).

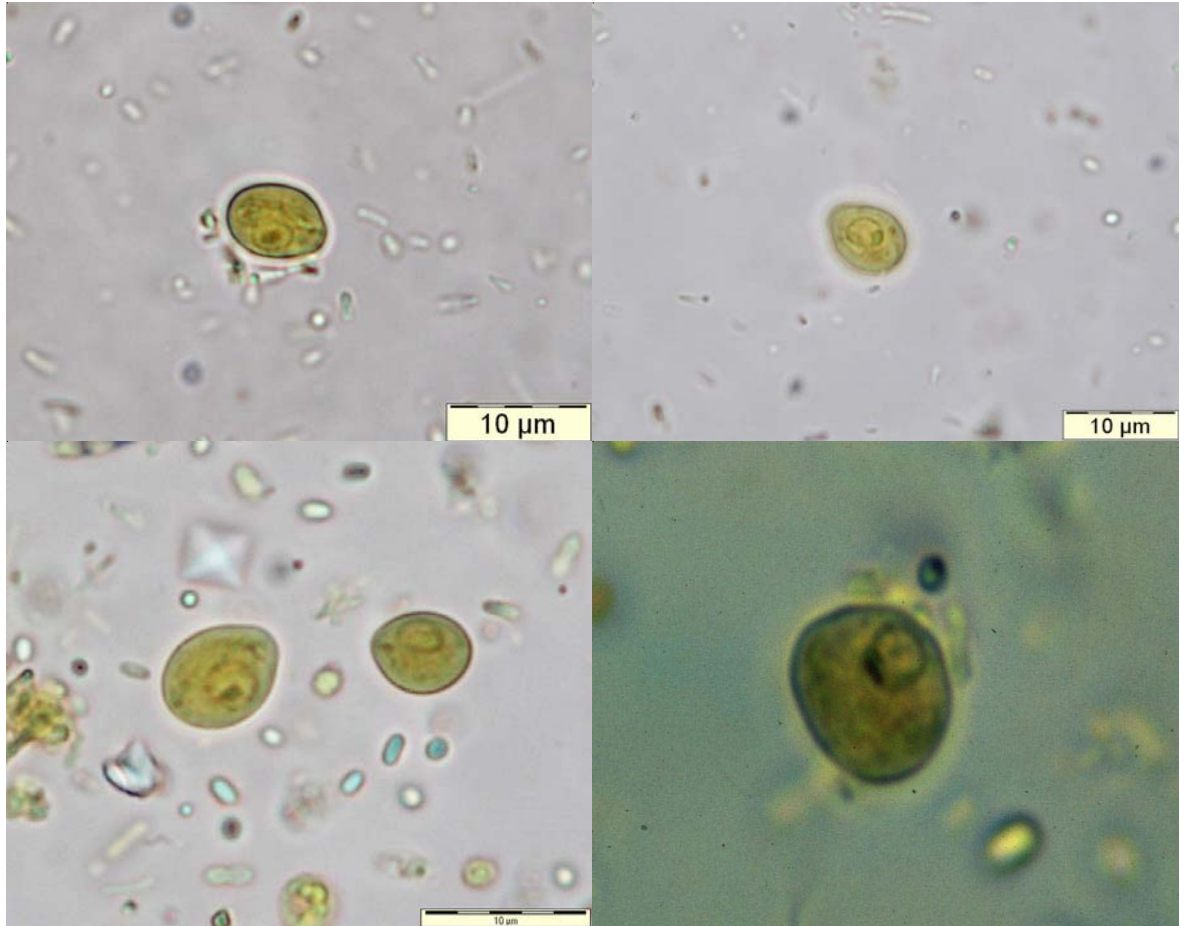


Figure 5.2. *Chilomastix mesnili*: kystes colorés au Lugol. Les 2 photos supérieures sont de cette enquête (P/6242).

Endolimax nana

Les kystes frais d'*E. nana* (6 - 12 μm) contiennent d'habitude 4 noyaux distincts (sans structure visible contrairement au noyau d'*Entamoeba* spp.; le caryosome central est massif et la chromatine périphérique est presque absente). Le plus souvent il n'est pas possible de voir les 4 noyaux simultanément étant donné qu'il est nécessaire de micrométriser à cette fin. La structure des noyaux se perd en vieillissant, surtout si le fixateur ne contient pas de sel de mercure (2), de sorte que la reconnaissance devient plus difficile.

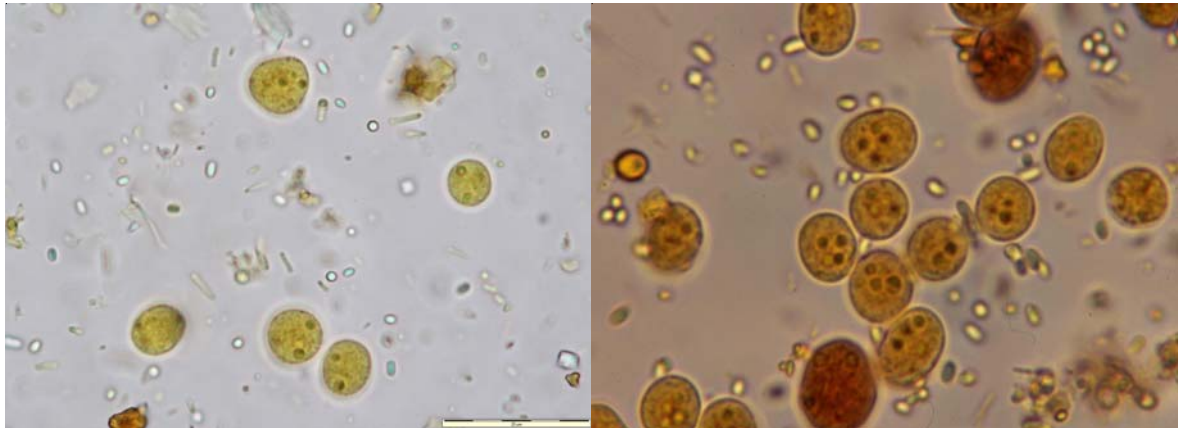


Figure 5.3. *Endolimax nana*: kystes colorés au Lugol. La chromatine du noyau est en amas.

Entamoeba coli

Ce kyste relativement grand (15 - 50 μm), nettement plus grand que ceux d'*Entamoeba histolytica* (10 - 20 μm) a généralement une paroi cellulaire très délimitée. Le cytoplasme a un aspect « spongieux » (plus rugueux que celui d'*E. histolytica*). Il y a de 1 à (normalement) 8 noyaux. Ce noyau à l'aspect typique d'*Entamoeba* sp., c'est à dire une chromatine périphérique avec un point de chromatine (plus ou moins central). Chez l'*E. coli* le point de chromatine se trouve souvent excentrique. Dans de rares cas on voit des chromidiums (bâtonnets en forme d'aiguille, mince et pointue).

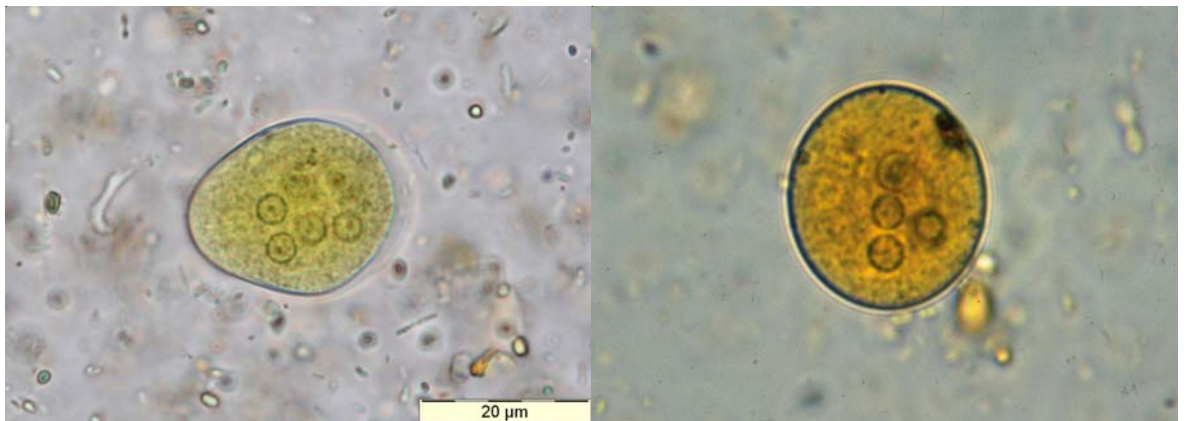


Figure 5.4. *Entamoeba coli*: kystes colorés au Lugol. Le caryosome et la chromatine périphérique des noyaux sont clairement visibles.

Giardia lamblia

Les kystes (7 - 10 μm) sont ovoïdes et contiennent 4 noyaux et des flagelles comprimés. Les détails de la structure interne sont très difficiles à voir avec une coloration au Lugol.

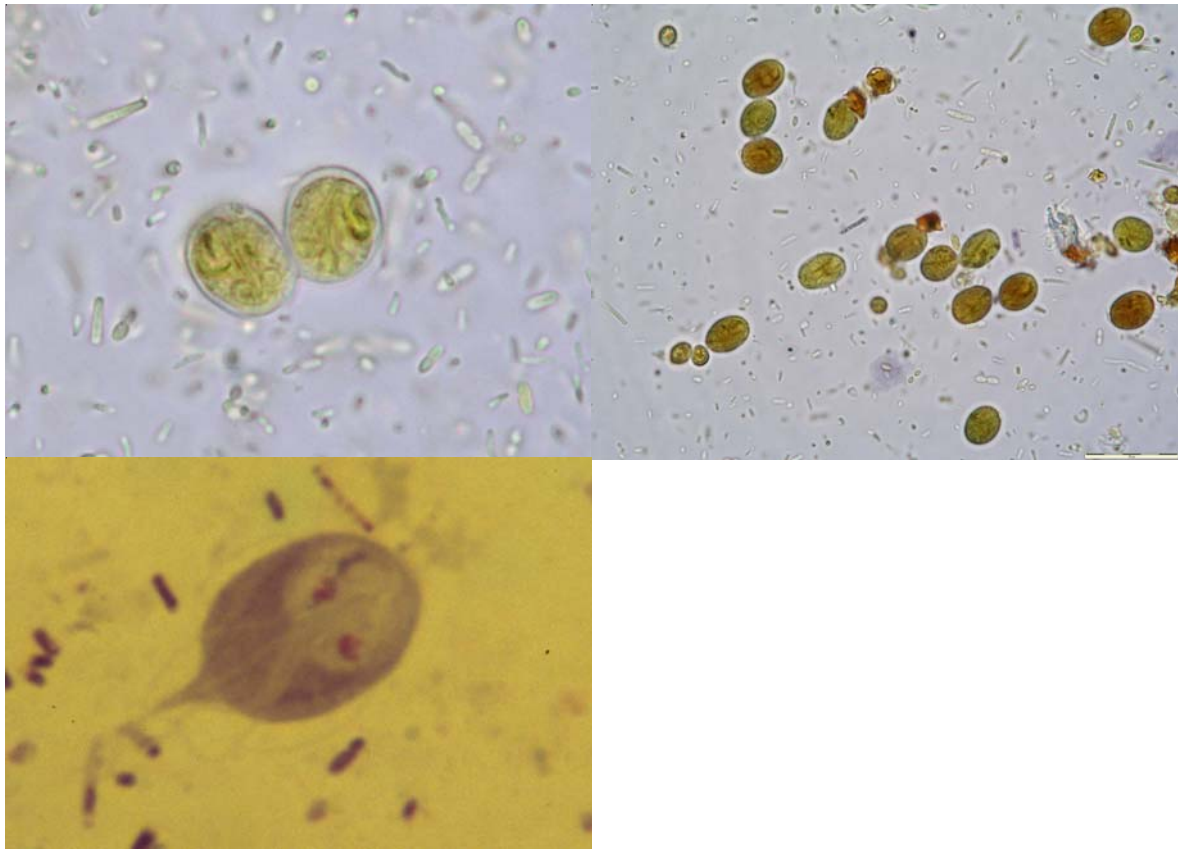


Figure 5.5. *Giardia lamblia*: à gauche en bas un trophozoïte (May-Grunwald Giemsa). Les kystes sont colorés au Lugol.

Hymenolepis nana

L'oeuf rond jusqu'ovale avec une fine coque incolore d'*H. nana* (30 - 47 μm) a un aspect typique. L'oncosphère hexacanthe a trois paires de crochets. L'embryophore contient deux éléments polaires d'où partent quelques filaments.



Figure 5.6. *Hymenolepis nana*: à gauche l'échantillon de cette enquête (P/6243) (colorations au Lugol).

M. Lontie, MCH, Leuven et K. Vernelen, ISP, Bruxelles

REFERENCES

1. Boudewijns M., Verhaegen J., Lontie M., Colaert J. 2005 *Blastocystis hominis*: een controversiële darmparasiet. Tijdschr. voor Geneeskunde. 61:1456-1461.
2. Garcia L.S. 1999. Diagnostic Parasitology. American Society for Microbiology, Washington D.C.
3. Hill D.R. 2005. *Giardia lamblia*. In Mandell G. et al. (eds.). Principles and practice of infectious diseases. Elsevier (Churchill Livingstone), Philadelphia: 3198-3205.
4. Schmidt G.D. & Roberts L.S. 1977. Foundations of parasitology. p. 109. The C.V. Mosby Company, Saint Louis.
5. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/Default.htm>

VI. SEROLOGIE

6.1 Description des échantillons

3 échantillons ont été envoyés.

Il y avait un échantillon lyophilisé, S/6365, pour y effectuer la détermination des anticorps anti-EBV et anti-CMV.

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

« Femme en âge de procréation, ayant consultée pour un syndrome grippal accompagné de myalgies, de fièvre et de malaise généralisée. L'échantillon soumis au Q.C. a été prélevé un mois après le début des manifestations cliniques. »

Les résultats et interprétations attendues étaient :

EBV: IgG: positif

IgM: négatif, réaction croisée avec CMV possible

Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV

CMV: IgG: positif

IgM: positif

Avidité : faible

Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV

Cet échantillon avait déjà été envoyé dans l'enquête 2003/1 (sous le numéro S/3942).

Il y avait 2 échantillons « prêt-à-l'emploi » pour la détermination des anticorps anti-VIH.

L'échantillon S/2608 était positif.

L'échantillon S/6333 était négatif.

6.2 EBV

6.2.1. Les participants

169 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 376 tests.

4 laboratoires ont effectué 1 test, 133 laboratoires ont effectué 2 tests, 23 laboratoires ont effectué 3 tests, 8 laboratoires ont effectué 4 tests et 1 laboratoire a effectué 5 tests.

- 8 laboratoires ont déterminé les anticorps hétérophiles
- 163 laboratoires ont effectué la détermination des IgG (dont 24 laboratoires ont effectué 2 tests et 4 ont effectué 3 tests). Au total 195 déterminations des IgG ont donc été effectuées; exprimé par type de test, cela donne :
 - 2 laboratoires ont effectué 1 détermination des EA IgG
 - 44 laboratoires ont effectué 1 détermination des EBNA IgG
 - 146 laboratoires ont effectué la détermination des VCA IgG (dont 3 laboratoires ont effectué 2 tests); au total 149 déterminations des VCA IgG ont donc été effectuées
- 167 laboratoires ont effectué la détermination des IgM (dont 5 laboratoires ont effectué 2 tests). Au total 172 déterminations des IgM ont donc été effectuées; exprimé par type de test, cela donne :
 - 2 laboratoires ont effectué 1 détermination des EA IgM
 - 1 laboratoire a effectué 1 détermination des EBNA IgM
 - 165 laboratoires ont effectué la détermination des VCA IgM (dont 4 laboratoires ont effectué 2 tests); au total 169 déterminations des VCA IgM ont donc été effectuées
- 1 laboratoire a déterminé l'avidité

Tableau 6.2.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Paramètre	Nombre de labos
Ac. hétérophiles seuls	2
VCA IgM seul	2
VCA IgG + VCA IgM	116
EBNA IgG + VCA IgM	14
EBNA IgG + EA IgM	2
Ac. hétérophiles + VCA IgM	1
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	19
VCA IgG + VCA IgM + Ac. hétérophiles	2
EBNA IgG + VCA IgM + avidité	1
VCA IgG + 2 VCA IgM	1
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	2
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + Ac. hétérophiles	2
VCA IgG + 2 VCA IgM + EBNA IgG	2
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EBNA IgM	1
2 VCA IgG + 2 VCA IgM	1
2 VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + Ac. hétérophiles	1

6.2.2. Réactifs utilisés

6.2.2.1 Anticorps hétérophiles

Tableau 6.2.2 Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps hétérophiles

Fabricant	Trousse	S/6365
Meridian Oxoid	Monospot Latex	1
	Clearview IM	2
Non précisé	Infectious Mononucleosis Test	2
	Non précisé	1
	Non précisé	2
Total		8

6.2.2.2 IgG

Tableau 6.2.3. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps VCA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	S/6365
Alphadia Biognost	EBV IgG Elisa	1
	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG IFA	2
bioMérieux	Non précisé	1
	Vironostika EBV-VCA IgG	2
Biorad	Platelia EBV-VCA IgG	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgG Elisa	3
BMD	Immuno Dot Mono-G	10
	Elisa EBV VCA IgG	3
Dade Behring	Enzygnost anti EBV IgG	26
DiaSorin	Liaison VCA IgG	33
	ETI-VCA-G	4
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa	18
	EBV VCA IgG IFA	4
Focus	EBV VCA IgG-EIA	1
Genbio (BMD)	IFA EBV-VCA IgG	1
	EBV VCA IgG	2
Immunoconcepts	Merifluor EBV VCA IgG	20
	Premier EBV VCA IgG	7
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (VCA) IgG ELISA	2
	Epstein-Barr virus/VCA1 IgG Elisa	3
Virion/Serion	Elisa classic Epstein Barr virus VCA IgG	1
	Non précisé	4
Total		149

Tableau 6.2.4. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps EBNA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	S/6365
Biotest	Anti-EBV EBNA IgG Elisa	9
	Non précisé	1
BMD	Immuno Dot Mono-G	4
	Elisa EBV EBNA IgG	1
DiaSorin	Liaison EBNA IgG	14
Euroimmun	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa	9
	Premier EBNA IgG	1
Mikrogen	recomLine EBV IgG	1
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (EBNA) IgG ELISA	1
	CAPTIA Epstein Barr Virus (EBNA-1) IgG	1
Non précisé	Non précisé	2
Total		44

Les déterminations des EA IgG ont été effectuées avec la trousse Liaison EA IgG de Diasorin et la trousse EBV-EA IgG Elisa d'Euroimmun.

6.2.2.3 IgM

Tableau 6.2.5. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps VCA anti-EBV IgM

Fabricant	Trousse	S/6365
Alphadia	EBV IgM Elisa	1
Biognost	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM IFA	2
	Non précisé	1
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgM	2
Biorad	Platelia EBV-VCA IgM	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgM Elisa	6
	Non précisé	1
BMD	Immuno Dot Mono-M	9
	Elisa EBV VCA IgM	3
Dade Behring	Enzygnost anti EBV IgM	26
	Enzygnost anti EBV IgM II	1
DiaSorin	Liaison EBV IgM	33
	ETI-EBV-M reverse	3
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa	22
Focus	EBV VCA IgM RIFA	6
	Epstein-Barr Virus VCA IgM	1
Genbio (BMD)	EBV VCA IgM-EIA	1
	IFA EBV-VCA IgM	1
Immunoconcepts	EBV VCA IgM	1
	EBV-VCA IgM IFA	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgM	23
	Premier EBV VCA IgM	11
Mikrogen	recomLine EBV IgM	1
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (VCA) IgM ELISA	3
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus VCA IgM	1
Virion/Serion	Epstein-Barr virus/VCA1 IgM Elisa	3
	Elisa classic Epstein Barr virus VCA IgM	1
Non précisé	Non précisé	4
Total		169

Les déterminations des EA IgM ont été effectuée avec la trousse anti-EBV EA IgM Elisa de Diasorin et la trousse EBV-EA IgM Elisa d'Euroimmun; la trousse utilisée pour la détermination des EBNA IgM n'a pas été spécifiée.

6.2.2.3 Avidité

La détermination de l'avidité a été effectuée avec la trousse recomLine EBV IgG avidity kit de Mikrogen.

6.2.3. Résultats

6.2.3.1 Anticorps hétérophiles

Tous les laboratoires qui ont recherché les anticorps hétérophiles, les ont trouvés négatifs.

6.2.3.2 IgG

a. VCA IgG

Tous les laboratoires qui ont recherché les VCA IgG, les ont trouvés positifs. Les laboratoires ayant utilisés 2 méthodes différentes, les ont trouvé positifs avec ces 2 méthodes.

Pour les trousse avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et s'ils ont utilisés les mêmes unités (pour certaines trousse les résultats quantitatifs ont été répondu dans des unités différentes, rendant une statistique adéquate impossible). Ces résultats sont présentés dans le tableau 6.2.6.

Tableau 6.2.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les VCA IgG anti-CMV pour l'échantillon S/6365 pour les trousse les plus utilisées ; les résultats sont exprimés en U/ml; chaque méthode a cependant sa propre unité , qui ne peut être comparée avec celle des autres méthodes.

Trousse	Nombre	Médiane	Minimum	Maximum
Enzygnost anti EBV IgG (U/ml)	25	378	280	519
Liaison VCA IgG (U/ml) ¹	31	220	169	262

¹ Il reste à mentionner qu'un laboratoire a mentionné une valeur de 97 U/ml et un autre une valeur de 1370 AU/ml.

b. EBNA IgG

Tous les laboratoires qui ont recherché les EBNA IgG, les ont trouvés positifs.

Pour la trousse avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif. Ces résultats sont présentés dans le tableau 6.2.7.

Tableau 6.2.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les EBNA IgG anti-CMV pour l'échantillon S/6365 pour la trousse la plus utilisée ; les résultats sont exprimés en U/ml.

Trousse	Nombre	Médiane	Minimum	Maximum
Liaison EBNA IgG (U/ml)	14	339	267	965

c. EA IgG

Un laboratoire qui a déterminé les EA IgG a obtenu un résultat positif, l'autre un résultat négatif.

6.2.3.3 IgM

a. VCA IgM

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.8. Dans les cas où nous mentionnons 2 résultats, il s'agit de laboratoires qui ont utilisés 2 méthodes différentes.

Tableau 6.2.8. Résultats des VCA IgM pour l'échantillon S/6365.

Résultat	Nombre de labos
Négatif	77
Positif	72
Borderline	10
Pas de réponse	2
Positif/Négatif	2
Positif/Positif	1
Négatif/Négatif	1
Total	165

Pour les trousse avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et s'ils ont utilisés les mêmes unités (pour certaines trousse les résultats quantitatifs ont été répondu dans des unités différentes, rendant une statistique adéquate impossible). Ces résultats sont présentés dans le tableau 6.2.9. Dans ce tableau nous mentionnons également le résultat qualitatif.

Tableau 6.2.9. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les VCA IgM anti-CMV pour l'échantillon S/6365 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Résultat qualitatif	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Enzygnost anti EBV IgM (index)	Positif	17	0.27	0.151	2.836
	Borderline	4	0.171	0.13	0.299
	Négatif	3	0.178	0.15	0.185
Liaison EBV IgM (U/ml) ¹ Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa (Euroimmun) (index) ²	Positif	29	115	74.6	158
Premier EBV VCA IgM (index)	Négatif	18	0.55	0.224	0.874
	Négatif	9	0.2	0.053	0.414

¹ Il reste à mentionner que 2 laboratoires ont mentionné une valeur de > 160 U/ml (et l'interprétation positif) et qu'un autre laboratoire a mentionné 965 AU/ml (sans interprétation qualitative).

² Il reste à mentionner que 1 laboratoire a mentionné une indice de 1.1 (avec l'interprétation qualitative: borderline)

b. EBNA IgM

Le laboratoire ayant déterminé les EBNA IgM a obtenu un résultat positif.

c. EA IgM

Un laboratoire qui a déterminé les EA IgM a obtenu un résultat positif, l'autre un résultat négatif.

6.2.3.4 Avidité

Le laboratoire ayant déterminé l'avidité, a obtenu une valeur élevée.

6.2.3.5 Interpretation

L'interprétation est reprise dans le tableau ci-dessous 6.2.10.

Tableau 6.2.10. Interprétation pour l'EBV pour l'échantillon S/6365

Interprétation	Nombre
Infection ancienne	91
Test IgM positif mais tests supplémentaires nécessaires	48
Infection primaire	14
Séronégatif	2
Stimulation polyclonale par/réaction croisée avec/ réactivation par le CMV ¹	9
Pas d'infection primaire par EBV	1
Fin d'infection primaire (phase transitoire)	1
Infection récente mais pouvant remonter à plus de 3 mois vu le titre en EBNA	1
Prélèvement tardif par rapport aux symptômes; apparition d'anti-EBNA possible mais peut être plus ancienne	1
Pas d'interprétation	1
Total	169

¹ Nous mentionnons l'ensemble des laboratoires qui réfèrent au CMV.

Il est à noter que l'interprétation «sérologie négative» est fournie par des laboratoires n'ayant effectué qu'un test (soit les IgM, soit les Ac. hétérophiles) et l'ont trouvé négatif.

Un laboratoire qui avait trouvé les Ac. hétérophiles et les VCA IgM négatifs, n'a pas donné d'interprétation.

Certains laboratoires ont conseillé plusieurs tests supplémentaires, repris dans le tableau suivant 6.2.11.

Tableau 6.2.11. Tests supplémentaires conseillés pour le CMV pour l'échantillon S/6365

Test	Nombre
Prise de sang supplémentaire	11
Prise de sang supplémentaire + avidité	8
Prise de sang supplémentaire + avidité + EBNA	1
Prise de sang supplémentaire + avidité + EA	1
Prise de sang supplémentaire + avidité + hématologie + transaminases + Ac. hétérophiles	2
Prise de sang supplémentaire + avidité + hématologie + sérologie de CMV	1
Prise de sang supplémentaire + avidité + EBNA + Ac. hétérophiles + PCR + réévaluation d'anciens échantillons	1
Prise de sang supplémentaire + EBNA	3
Prise de sang supplémentaire + EA	1
Prise de sang supplémentaire + Ac. hétérophiles + hématologie + transaminases	1
Prise de sang supplémentaire + hématologie + transaminases + sérologie de CMV	1
Prise de sang supplémentaire + EBNA + hématologie + transaminases + sérologie de CMV	1
Avidité	2
Avidité + sérologie de CMV	1
Avidité + EBNA + hématologie + transaminases	1
EBNA	7
EBNA + EA + Ac. hétérophiles	1
EBNA + EA + Ac. hétérophiles + hématologie + confirmation des IgM	1
Confirmation des IgM	2
Confirmation des IgM + sérologie de CMV	1
Exclure une réactivation (charge virale) ou infection datant de 3-6 mois auparavant (EBNA+)	1
Total	49

Le tableau suivant 6.2.12. reprend le nombre de semaines estimées nécessaire avant d'effectuer une nouvelle prise de sang.

Tableau 6.2.12. Nombre de semaines d'intervalle avant un nouveau prélèvement conseillés pour l'EBV pour l'échantillon S/6365.

Nombre de semaines	Nombre de laboratoires
2	8
2 - 3	5
3	14
3 - 4	4
4	1
Total	32

6.2.4. Comparaison avec les résultats de 2003/1

En 2003 les laboratoires ont obtenus les résultats suivants

- Anticorps hétérophiles: 100% positif
- IgM
 - o 32% positif
 - o 17% borderline
 - o 51% négatif
- IgG:
 - o 97.5% positif
 - o 0.5% borderline
 - o 2% négatif
- Interpretation
 - o 52.6% infection ancienne
 - o 31.6% test IgM positif mais tests supplémentaires nécessaires
 - o 7.9% infection primaire
 - o 1.1% séronégatif
 - o 6.8% autre

6.3 CMV

6.3.1. Les participants

190 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 476 tests.

2 laboratoires ont effectué 1 test, 102 laboratoires ont effectué 2 tests, 75 laboratoires ont effectué 3 tests, 10 laboratoires ont effectué 4 tests et 1 laboratoire a effectué 5 tests.

- 1 laboratoire a déterminé les anticorps totaux
- 190 laboratoires ont effectué la détermination des IgG (dont 1 laboratoire a effectué 2 tests). Au total 191 déterminations des IgG ont donc été effectuées
- 187 laboratoires ont effectué la détermination des IgM (dont 15 laboratoires ont effectué 2 tests). Au total 202 déterminations des IgM ont donc été effectuées
- 82 laboratoires ont déterminé l'avidité

Tableau 6.3.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Paramètre	Nombre de labo's
IgG seul	2
Total + IgG	1
IgG + IgM	101
IgG + IgM + Avidité IgG	71
IgG + 2 IgM	4
IgG + 2 IgM + Avidité IgG	10
2 IgG + 2 IgM + Avidité IgG	1

6.3.2. Réactifs utilisés

6.3.2.1 Détermination des anticorps anti-CMV totaux.

La détermination des anticorps anti-CMV totaux a été effectuée avec la trousse Enzywell CMV Screen de Diesse.

6.3.2.2 Détermination des IgG anti-CMV.

Tableau 6.3.2. Réactifs utilisés pour la détermination des IgG anti-CMV

Fabricant	Trousse	S/6365
Abbott	AxSYM CMV IgG	72
bioMérieux	VIDAS CMV IgG	69
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgG	8
Diamedix	CMV IgG	1
Diasorin	Liaison CMV IgG	30
	ETI-CYTOK-G Plus	4
DPC	Immulite CMV IgG	3
Euroimmun	CMV IgG	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG	1
Virion/Serion	ESR 109 G	1
Non précisé	Non précisé	1
Total		191

6.3.2.3 Détermination des IgM anti-CMV.

Tableau 6.3.3. Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-CMV

Fabricant	Trousse	S/6365
Abbott	AxSYM CMV IgM	52
bioMérieux	VIDAS CMV IgM	95
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgM	10
Diamed	CMV IgM	2
Diamedix	CMV IgM	1
Diasorin	Liaison CMV IgM	31
	ETI-CYTOK-M reverse Plus	6
Euroimmun	CMV IgM	2
Meridian	Merifluor CMV IgM	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgM	1
Virion/Serion	ESR 109 M	1
Total		202

6.3.2.4 Réactifs utilisés pour la détermination de l'avidité IgG.

Tableau 6.3.4. Réactifs utilisés pour la détermination de l'avidité IgG

Fabricant	Trousse	S/6365
bioMérieux	VIDAS CMV IgG avidity	63
Diasorin	Liaison CMV IgG avidity	14
In house	In house	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG avidity	1
Non précisé	Non précisé	3
Total		82

6.3.3. Résultats

6.3.3.1 Recherche d'anticorps totaux anti-CMV

Le laboratoire ayant effectué la détermination des anticorps totaux, a trouvé ces anticorps positifs.

6.3.3.2 Recherche des IgG anti-CMV

190 résultats étaient positifs; 1 seul résultat était négatif. Le laboratoire ayant déterminé les IgG avec 2 méthodes, a obtenu des résultats positifs avec ces 2 méthodes.

Pour les trousse avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans le tableau 6.3.5.

Tableau 6.3.5. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les IgG anti-CMV pour l'échantillon S/6365 pour les trousse les plus utilisées ; les résultats sont exprimés en AU/ml («A» est égal à arbitraire) ou UI/ml; chaque méthode a cependant sa propre unité « arbitraire » ou « internationale », qui ne peut être comparée avec celle des autres méthodes.

Trousse	N labo's	Médiane	Minimum	Maximum
AxSYM CMV IgG (AU/ml) ¹	71	61,6	35,5	110,5
VIDAS CMV IgG (AU/ml)	68	16	13	23
Liaison CMV IgG (IU/ml) ²	28	3,9	3	5,4

¹ Uniquement les laboratoires ayant répondu un résultat positif, ont été pris en compte ; le laboratoire ayant répondu un résultat négatif, a mentionné un résultat numérique de 14.1 AU/ml.

² Il reste à mentionner qu'un laboratoire a mentionné une valeur de 10.7 U/ml et un autre 57 AU/ml.

6.3.3.3 Recherche des IgM anti-CMV

201 résultats étaient positifs; 1 laboratoire a mentionné la trousse utilisé pour la détermination des IgM mais na pas répondu de résultat. Tous les laboratoires ayant déterminés les IgM avec 2 méthodes, ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 méthodes.

Pour les troussees avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans le tableau 6.3.6.

Tableau 6.3.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les IgM anti-CMV pour l'échantillon S/6365 pour les troussees les plus utilisées.

Trousse	N labo's	Médiane	Minimum	Maximum
AxSYM CMV IgM (index)	50	8,1915	5,008	10,852
VIDAS CMV IgM (index)	87	2,64	2,27	3,21
Liaison CMV IgM (AU/ml)	25	170	146	237

6.3.3.4 Avidité

Tous les laboratoires ont répondu « faible ».

Pour les troussees avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans le tableau 6.3.7. Pour la simplicité des calculs, tous les résultats ont été recalculés en % (autant que possible).

Tableau 6.3.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour l'avidité de CMV pour l'échantillon S/6365 pour les troussees les plus utilisées.

Kit	N labo's	Médiane	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%)	59	9.66	5	14
Liaison CMV IgG avidity (%)	10	2.7	1.5	6.2

6.3.3.5 Interprétation

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV »; un nombre important des autres ont choisi « Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire une confirmation est nécessaire ». Certains ont choisi la combinaison des deux ou leur propre interprétation. 5 laboratoires n'ont pas donné d'interprétation (dont la plupart étaient des centres de transfusion, qui ne déterminent que les IgG ou Ac totaux + IgG, et ne peuvent évidemment donner d'interprétation sur base de ces seules données). Un laboratoire a répondu « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV ».

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.3.8.

Tableau 6.3.8. Interprétation pour le CMV pour l'échantillon S/6365

Interprétation	Nombre
Infection primaire	106
Test IgM positif mais tests supplémentaires nécessaires	68
Infection primaire et Test IgM positif mais tests supplémentaires nécessaires	4
Infection primaire ou Test IgM positif mais tests supplémentaires nécessaires	3
Infection primaire ou réactivation	1
La coexistence d'IgG et d'IgM et un test d'avidité bas (<0,2) plaide en faveur d'une infection de < 3 mois	2
Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV	1
Pas d'interprétation	5
Total	190

Certains laboratoires ont conseillé plusieurs tests supplémentaires, repris dans le tableau suivant 6.3.9.

Tableau 6.3.9. Tests supplémentaires conseillés pour le CMV pour l'échantillon S/6365

Test	Nombre
Avidité	7
Avidité + prise de sang supplémentaire	23
Avidité + hématologie	1
Avidité + test de grossesse	1
Avidité + prise de sang supplémentaire + test de grossesse	2
Avidité + prise de sang supplémentaire + PCR	1
Avidité + prise de sang supplémentaire + confirmation des IgM	1
Avidité + prise de sang supplémentaire + PCR + ré-évaluation d'anciens échantillons	1
Avidité + prise de sang supplémentaire + test de grossesse + culture CMV	1
Avidité + prise de sang supplémentaire + hématologie + tests d'hépatologie + sérologie d'EBV	1
Prise de sang supplémentaire	27
Prise de sang supplémentaire + confirmation des IgM	2
Prise de sang supplémentaire + culture CMV	1
Prise de sang supplémentaire + PCR	1
Prise de sang supplémentaire + hématologie + tests d'hépatologie + sérologie d'EBV	1
Culture CMV	1
PCR	1
Confirmation des IgM	1
Non précisé	1
Total	75

Le tableau 6.3.10. ci-dessous reprend le nombre de semaines estimé nécessaire avant d'effectuer une nouvelle prise de sang.

Tableau 6.3.10. Nombre de semaines d'intervalle avant un nouveau prélèvement conseillés pour le CMV pour l'échantillon S/6365

Nombre de semaine	Nombre de laboratoire
1	1
1 - 2	1
2	17
2 - 3	9
3	27
3 - 4	4
4	3
Total	62

Douze laboratoires ont, malgré l'interprétation «infection primaire», conseillé d'effectuer des tests supplémentaires. Dix d'entre eux les conseilleraient dans tous les cas et deux, en cas de grossesse seulement. Ces tests sont repris dans le tableau 6.3.11. ci-dessous

Tableau 6.3.11. Tests supplémentaires conseillés pour le CMV pour l'échantillon S/6365 par les laboratoires ayant donné l'interprétation « infection primaire ».

Test	Nombre
Nouvelle prise de sang	7
Avidité	2
Nouvelle prise de sang + avidité	2
Non précisé	1
Total	12

6.3.3.6 Comparaison avec les résultats de 2003/1

En 2003 les laboratoires ont obtenu les résultats suivants:

- Anticorps totaux: 100% positifs
- IgM: 100% positifs
- IgG:
 - o 98% positifs
 - o 1% borderline
 - o 1% négatifs
- Interprétation
 - o 63.4% infection primaire
 - o 36.6% test IgM positif mais tests supplémentaires nécessaires
 - o 1.5% autre
 - o 0.5% pas d'interprétation

6.4 Discussion du contrôle de qualité en sérologie: anticorps CMV et EBV

6.4.1. Introduction

Le Cytomégalo virus et le virus d'Epstein Barr font partie du groupe des virus herpétiques. En cas de certains syndromes cliniques (fièvre, gangliopathies, problèmes hépatiques, syndrome « mononucleosis like »), les deux sérologies sont demandées simultanément. Etant donné que les virus herpétiques montrent souvent des réactions croisées dans les tests d'IgM, l'interprétation des profils sérologiques peut s'avérer difficile.

6.4.2. Echantillons examinés

L'information clinique spécifiait qu'il s'agissait d'une patiente avec un syndrome grippal. La détermination de la sérologie de CMV et d'EBV et une interprétation des résultats étaient demandés: pour les deux paramètres, on pouvait choisir entre les options suivantes:

- 1) Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV (ou EBV);
- 2) Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV (ou EBV);
- 3) Sérologie négative pour CMV (ou EBV).

L'échantillon était originaire d'une patiente avec une infection primaire de CMV. L'histoire de la patiente montrait que quelques années auparavant la sérologie d'EBV était positive en IgG et négative en IgM.

L'échantillon envoyé était positif en IgG et IgM anti-CMV; et positif en IgG anti-EBV.

6.4.3. Discussion de la sérologie CMV

Un seul laboratoire a eu un problème avec la détermination des IgG.

Tous les laboratoires qui ont déterminé les IgM ont obtenu un résultat positif. Les 82 laboratoires qui ont déterminé l'avidité des IgG ont tous trouvé une avidité faible.

Les réponses correctes pour la sérologie de CMV

L'échantillon envoyé montrait une positivité en IgG, une valeur élevée pour les IgM et une avidité faible. Ces résultats sont très suggestifs pour une infection primaire. Néanmoins, étant donné qu'un seul échantillon a été envoyé, et que donc une séroconversion en IgG ne pouvait pas être démontrée, le diagnostic d'infection primaire ne peut pas être prouvé avec certitude et les réponses suivantes sont acceptées:

Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV (106 labo's)

Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire une confirmation est nécessaire (68 labo's)

Infection primaire ou réactivation (1labo)

La réponse suivante n'est pas incorrecte, mais demande un petit éclaircissement: « La coexistence d'IgG et d'IgM et un test d'avidité bas plaide en faveur d'une infection de < 3 mois. »

Une avidité élevée en combinaison d'IgM positives exclut en principe une infection primaire dans les trois mois précédents. Cependant une avidité faible en combinaison d'IgM ne démontre pas nécessairement une infection récente (une avidité faible peut être trouvée des mois et même jusqu'un an après l'infection aiguë). Néanmoins dans le cas d'une avidité très faible (comme dans le cas présent), le diagnostic d'infection récente peut être retenu. Des valeurs d'avidité <20% (s'ils sont mesurés avec le Vidas) sont effectivement suggestif d'une infection primaire de < 3 mois. Cette réponse a été fournie par 2 laboratoires qui ont déterminé l'avidité avec le Vidas.

Les réponses incorrectes pour la sérologie de CMV

Une seule réponse vraiment incorrecte peut être retenue, à savoir infection ancienne par CMV (la présence des IgM laissera toujours la possibilité d'une infection primaire ou d'une réactivation). 5 laboratoires n'ont pas proposé d'interprétation.

Les tests complémentaires qui ont été conseillés

Un grand nombre de tests complémentaires possibles ont de juste titre été conseillé, à savoir l'avidité, les paramètres hématologiques, les tests hépatiques et un nouveau prélèvement. Pour la culture de CMV et la PCR, une remarque est cependant nécessaire: ces analyses n'ont pas de place dans le diagnostic de CMV chez les patients immunocompétents. En outre, il est impossible de faire la distinction entre une infection primaire et une réactivation par culture ou PCR.

Un test de grossesse n'est également pas nécessaire pour confirmer les IgM.

6.4.4. Discussion de la sérologie de l'EBV

Le sérum était originaire d'une patiente avec une infection primaire par CMV qui avait eu une infection par EBV auparavant. Nous nous attendions donc à une sérologie EBV positive en IgG avec absence d'IgM et d'anticorps hétérophiles. Etant donné que certains tests sérologiques pour les IgM anti-EBV peuvent avoir des réactions croisées avec les CMV-IgM, nous pouvions nous attendre à ces réactions croisées.

Anticorps hétérophiles

Seuls 8 laboratoires ont déterminé les anticorps hétérophiles; aucun résultat positif n'a été obtenu.

Les IgG anti-EBV

Les anticorps IgG peuvent être recherchés contre 2 antigènes majeurs, à savoir le VCA (Viral capsular antigen) et l'EBNA (Epstein Barr Nuclear Antigen).

Les VCA-IgG apparaissent rapidement après l'infection et restent positifs à perpétuité. Les VCA-IgG peuvent être présents simultanément avec les VCA-IgM en cas d'une infection aiguë. Les EBNA-IgG apparaissent au plutôt 2 à 3 mois après une infection primaire d'EBV et atteignent un pic après 7 à 8 mois. Ils restent positifs à perpétuité. Une sérologie positive en EBNA IgG exclut une infection primaire d'EBV.

La recherche des IgG anti-EA n'est pas une technique appropriée pour évaluer si le patient a déjà eu une infection par l'EBV. En effet les anti-EA augmentent rapidement après l'infection mais deviennent négatifs quelques mois après l'infection primaire. En cas de réactivations et de néoplasmes associés à l'EBV (lymphome de Burkitt, carcinome nasopharyngien) ils peuvent être détectés à nouveau.

Tous les tests effectués pour les IgG anti-VCA et anti-EBNA étaient positifs. Un des 2 laboratoires, qui ont déterminé les IgG anti-EA, les a trouvés positifs.

Les IgM anti-EBV

72 résultats positifs et 10 résultats borderline ont été trouvés pour les IgM.

La fréquence de la réactivité croisée avec CMV IgM dans cet échantillon sont par ordre croissant : (seules les troupes avec plus de 10 utilisateurs sont mentionnées): Meridian premier EBV: 0%; Euroimmun: 5%; Meridian Merifluor: 13%; Dade Behring 85%; Diasorin (Liaison): 97%.

L'interprétation des utilisateurs de Dade Behring est à noter: si nous examinons les données brutes, nous constatons qu'il n'y a pas d'uniformité dans les critères pour considérer un échantillon positif ou négatif: un échantillon avec une valeur de 0.150 est considéré négatif par les uns et positif par les autres (tableau 6.2.9). Un contrôle approfondi du manuel est certainement nécessaire.

En septembre Dade Behring a mis une nouvelle version du test d'EBV IgM sur le marché, l'« Enzygnost anti EBV IgM II ». Etant donné que notre enquête date du 3 octobre, nous pouvons conclure qu'au moment de l'enquête il n'y avait qu'un nombre limité des labo's qui utilisait déjà la nouvelle trousse (probablement seul le labo qui a mentionné cette trousse sous « autres »).

Les laboratoires qui utilisent un test où la possibilité de réaction croisée est élevée devraient utiliser un test de confirmation pour chaque IgM positive. Une réaction croisée n'est pas un problème infranchissable si on contrôle chaque test positif.

La confirmation peut être effectuée par un autre test d'IgM, plus spécifique ou par la détermination d'un autre paramètre sérologique. La détermination des EBNA-IgG peut être utilisée en cas d'IgM anti-EBV positifs. Il faut néanmoins faire attention pour les échantillons dont les VCA-IgM sont positives et les IgG-VCA négatives.

Ce type de sérologie est suggestif pour une infection très récente, mais une réaction croisée n'est pas exclue. Une confirmation par EBNA IgG est impossible (elle sera toujours négative, vu les VCA-IgG négatives); la confirmation doit donc être effectuée par d'autres techniques d'IgM ou à l'aide d'un nouveau prélèvement pour rechercher une séroconversion VCA IgG.

Réponses correctes pour la sérologie d'EBV

Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV (91 labo's)
Sérologie positive dans l'essai IgM pour EBV; afin d'exclure une infection primaire une confirmation est nécessaire (48 labo's)
Stimulation polyclonale par/réaction croisée avec/réactivation par CMV (9 labo's)
Pas d'infection primaire par EBV (1 labo)

Réponses incorrectes pour la sérologie d'EBV

Infection primaire par EBV (14 labo's)

2 des 14 labo's avaient effectué une confirmation des IgM, à savoir les EBNA IgG. Tous les 2 ont obtenu une réaction positive, qui exclut donc une infection primaire par EBV. La raison pour laquelle ces 2 laboratoires ont répondu « infection primaire » n'est pas claire.

12 labo's n'avaient pas effectué un test de confirmation et ont donc fourni une réponse incorrecte

Séronégatif (2 labo's)

Fin de l'infection primaire (phase transitoire) (1 labo)

Infection récente mais pouvant remonter à plus de 3 mois vu le titre en EBNA (1 labo)

Prélèvement tardif par rapport aux symptômes. Apparition d'anti EBNA possible mais peut être plus ancienne (1 labo)

Anne Naessens, AZ VUB, Brussel

6.5 VIH

6.5.1. Les participants

L'enquête a été envoyée à 205 participants et 194 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Plusieurs laboratoires ont effectué plus d'un test par échantillon.

193 laboratoires ont effectués 228 tests sur l'échantillon S/2608 : 219 tests « anticorps » (tests de dépistage), 6 tests d'antigène p24 et 3 tests de confirmation. Un laboratoire n'a pas effectué de tests sur cet échantillon (mais a répondu que l'échantillon contenait des caillots).

Tableau 6.5.1. Nombre de tests effectués par laboratoire sur l'échantillon S/2608

Types de test	Nombre
1 « test anticorps »	163
2 « tests anticorps »	20
3 « tests anticorps »	2
1 « test anticorps » + 1 test Ag p24	2
2 « tests anticorps » + 1 test Ag p24	2
1 « test anticorps » + 1 test de confirmation	1
2 « tests anticorps » + 1 test de confirmation	1
1 « test anticorps » + 1 test Ag p24 + 1 test de confirmation	1
Antigène p24 seul*	1

* 1 laboratoire n'a réalisé que la détermination de l'Ag p24 et n'a pas effectué de test de dépistage.

En conclusion : 167 labos ont effectué 1 test de dépistage, 23 en ont effectué 2 et 2 en ont réalisé 3.

194 laboratoires ont effectués 214 tests sur l'échantillon S/6333 : 211 tests « anticorps » (tests de dépistage), 2 tests d'antigène p24 et 1 test de confirmation.

Tableau 6.5.2. Nombre de tests effectués par laboratoire sur l'échantillon S/6333

Types de test	Nombre
1 «test anticorps»	176
2 «tests anticorps»	13
3 «tests anticorps»	2
1 «test anticorps» + 1 test Ag p24	1
2 «tests anticorps» + 1 test de confirmation	1
Antigène p24 seul*	1

* 1 laboratoire n'a réalisé que la détermination de l'Ag p24 et n'a pas effectué de test de dépistage.

En conclusion : 177 labos ont effectué 1 test de dépistage, 14 en ont effectué 2 et 2 en ont réalisé 3.

6.5.2. Réactifs utilisés

Le tableau suivant 6.5.3. reprend le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs utilisées pour les tests de dépistage:

Tableau 6.5.3. Réactifs utilisés pour les tests de dépistage du VIH.

Fabricant	Réactif	S/2608	S/6333
Abbott	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	41	41
	AxSYM HIV-1/2gO	33	33
	Architect HIV Ag/Ab Combo	12	12
	DETERMINE HIV 1/2	4	4
	Murex HIV-1.2.0.	3	3
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	3	3
	Murex HIV Ag/Ab	2	2
	PRISM HIV O Plus	1	1
Bayer	Centaur HIV	9	9
	Centaur EHIV	3	3
	Non spécifié	1	1
Behring	Enzygnost HIV Integral	4	4
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	30	26
	VIDAS HIV DUO QUICK	18	15
	VIDAS HIV DUO	5	4
	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	1	1
	Vironostika HIV Uni-Form II Plus O	1	1
BioRad	Access HIV 1/2 New ¹	23	23
	Genscreen HIV 1/2 Version 2	1	1
Biotest	HIV Tetra Kit	4	4
Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	13	13
	HIV-1/HIV-2 Ab-Capture		
	Elisa test	1	1
Roche	HIV Combi	5	5
Total		219	211

¹ La trousse Access HIV 1/2 New est produite par BioRad ; ces trousse sont néanmoins utilisées sur les appareils produits par Analis : pour chacun des échantillons 21 tests ont été effectués sur Access et 2 sur UniCel.

La détermination de l'antigène p24 sur les 2 échantillons a été effectuée toujours avec la trousse VIDAS HIV p24 II. Il reste à mentionner que pour l'échantillon S/2608 2 laboratoires et pour l'échantillon S/6333 1 laboratoire ont utilisé le GENELABS HIV 2.2 BLOT. Un laboratoire a utilisé la trousse Inno LIA HIV Confirmation pour l'échantillon S/2608.

6.5.3. Résultats

6.5.3.1 Echantillon S/2608 : Positif

Résultats des tests de dépistage :

- 201 positif
- 9 douteux
- 8 négatif
- 1 laboratoire n'a pas donné de résultat étant donné que l'appareil Prism n'en a pas donné.

Tableau 6.5.4. Résultats pour les laboratoires n'effectuant qu'un seul test de dépistage.

Résultat	Nombre de labos
Positif	157
Douteux	7
Négatif*	2
NT	1

* Un de ces 2 laboratoires n'effectuant qu'un test et ayant répondu un résultat négatif, a probablement inversé les 2 échantillons (le résultat de l'échantillon S/6333 étant répondu comme positif).

Tableau 6.5.5. Résultats pour les laboratoires effectuant deux tests de dépistage.

Résultat	Nombre de labos
Pos/Pos	19
Douteux /Douteux	1
Pos/Nég	3

Tableau 6.5.6. Résultats pour les laboratoires effectuant trois tests de dépistage.

Résultat	Nombre de labos
Pos/Pos/Nég	1
Pos/Nég/Nég	1

Nous constatons que quelques laboratoires ont effectué un «rapid test»; nous devons mentionner que ces tests ne peuvent pas être confondus avec les tests de dépistage proprement dit et qu'ils ne peuvent remplacer ces tests en aucun cas; ils peuvent être utilisés uniquement pour une détermination rapide dans des cas urgents (et dont les résultats doivent être confirmés par un test de dépistage « normal »). Il n'est donc absolument pas conseillé d'utiliser ces tests rapides comme unique test de dépistage du VIH.

L'antigène p24 a été trouvé négatif par 4 laboratoires effectuant cette analyse et positif par les 2 autres (y compris le laboratoire n'effectuant que ce test). Le test GENELABS HIV 2.2 BLOT a été répondu positif par un laboratoire et borderline par un autre. L'Inno LIA HIV Confirmation était positif.

184 laboratoires enverraient l'échantillon en routine au laboratoire de référence, 7 laboratoires ne le feraient pas. Or que les laboratoires ayant trouvé ce test positif ou douteux et qui ne sont pas laboratoire de référence, devraient envoyer l'échantillon dans un laboratoire de référence pour confirmation. Deux des laboratoires qui ont obtenu 2 résultats différents (positif et négatif) répondent « oui » pour le résultat positif et « non » pour le résultat négatif ; néanmoins, lorsque deux tests donnent des résultats discordants, un troisième devrait être effectué et une confirmation demandée. Les 7 laboratoires qui n'enverraient pas l'échantillon sont :

- 1 laboratoire qui a effectué le GENELABS HIV 2.2 BLOT
- le laboratoire qui a effectué L'Inno LIA HIV Confirmation
- un laboratoire qui est centre de référence
- un laboratoire qui a mentionné qu'en routine ils effectuent sur les échantillons positifs des tests de blot et la détermination de l'Ag p24
- les 2 laboratoires ayant envoyé un résultat positif pour le seul test de dépistage qu'ils ont effectué
- le laboratoire qui n'a pas obtenu de résultat de son appareil

Il reste à mentionner qu'un laboratoire a conseillé de demander un deuxième échantillon en outre d'envoyer l'échantillon existant au laboratoire de référence (étant donné que la réactivité de l'échantillon a été considérée comme (trop) faible).

6.5.3.1. Echantillon S/6333: négatif

210 des 211 tests de dépistage ont été répondu comme négatifs ; le seul résultat positif est probablement, comme déjà décrit plus haut, dû à un inversement des échantillons.

L'antigène p24 et le GENELABS HIV 2.2 BLOT ont été trouvé négatif par les laboratoires effectuant ces analyses.

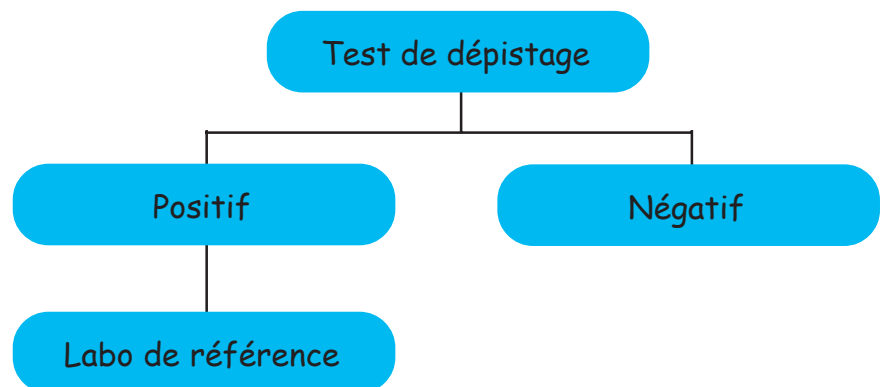
193 laboratoires n'enverraient pas l'échantillon en routine au laboratoire de référence ; seul le laboratoire ayant répondu un résultat positif enverrait l'échantillon au laboratoire de référence.

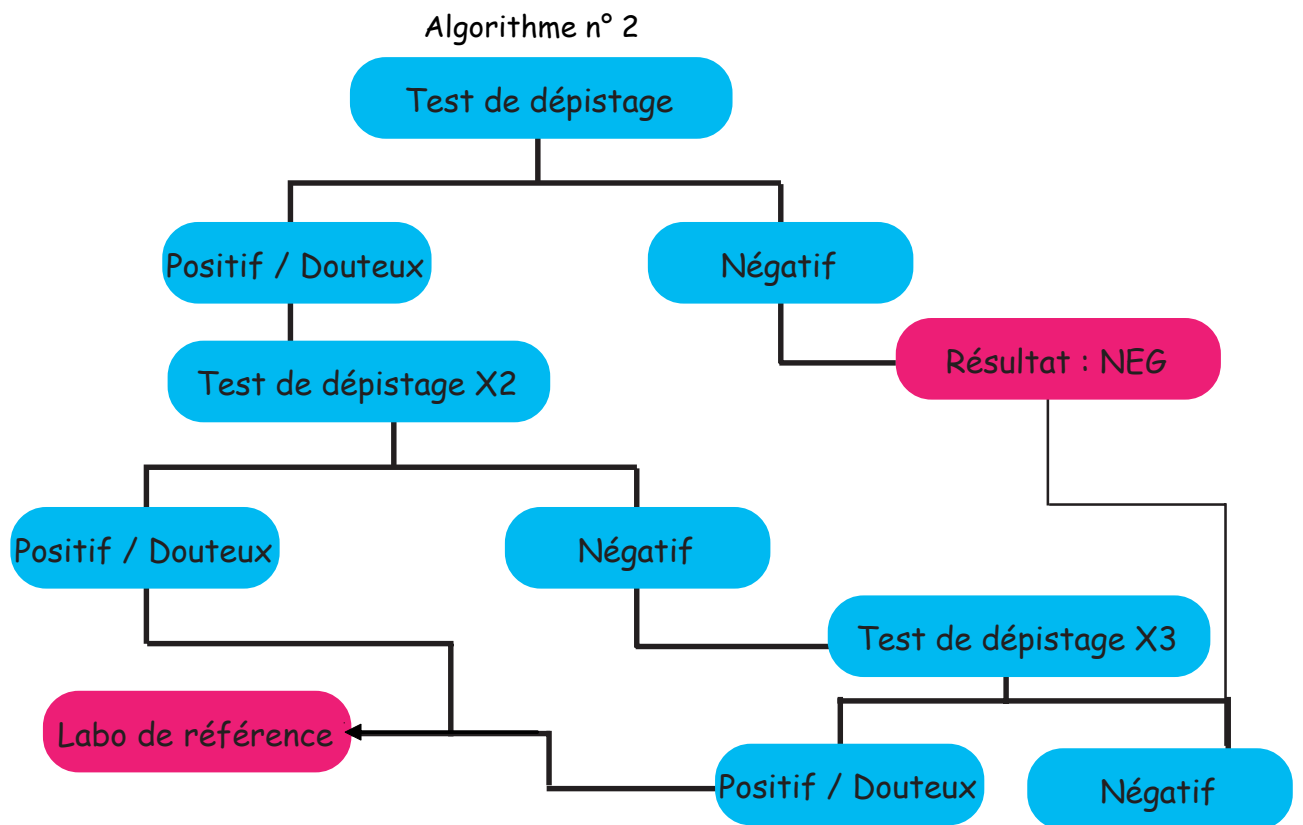
6.5.3. Discussion des résultats de l'enquête

Tous les tests utilisés doivent faire l'objet d'un dossier de validation au sein même du laboratoire qui les utilise. Dans ce dossier doit figurer l'algorithme utilisé pour prendre la décision et donc donner une réponse au prescripteur.

Des exemples d'algorithmes sont donnés ci-après.

Algorithme n° 1





Le test antigène seul ne peut être utilisé comme un test de dépistage.

Les tests de recherche d'anticorps sont considérés comme des tests de dépistage de l'infection; associé à ceux-ci un test «antigène» augmente la sensibilité en réduisant la fenêtre entre le moment de l'infection et la positivité d'un marqueur.

D. Sondag-Thull, Centre de Transfusion, Liège