

ISP
Rue J. Wytsman, 14
B-1050 BRUXELLES

SERVICE PUBLIC FEDERAL, SANTE PUBLIQUE, SECURITE DE LA CHAINE
ALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT
COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE

SERVICE DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS

RAPPORT GLOBAL

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

MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE

ENQUETE 02/2006

Microbiologie

Streptococcus pneumoniae
Neisseria gonorrhoeae
Yersinia enterocolitica

Parasitologie

Ascaris lumbricoides
Blastocystis hominis
Entamoeba hartmanni
Taenia species

Sérologie

HBV
HCV

Tous les rapports sont également à consulter sur notre site web :
http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_fr/rapports_annee.htm

ISP/02/06/Micro./Sero./Para. 63

COMITE DES EXPERTS EN MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

ISP (secrétariat) : 02/642.55.21 - FAX : 02/642.56.45
(Dr. K. VERNELEN) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coordinateur) : e-mail : k.vernelen@iph.fgov.be
Dr. BODEUS Monique : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59
: e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. CROKAERT Françoise : 02/541.37.00 – FAX : 02/541.32.95
: e-mail : fcrokaer@ulb.ac.be et nathalie.cardinal@bordet.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42
: e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. HAYETTE Marie-Pierre : 043/66.24.54 – FAX : 043/66.24.40
: e-mail : mphayette@chu.ulg.ac.be
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Pharm. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88
: e-mail : victor.luyasu@skynet.be
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@az.vub.ac.be
Dr. VAN ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
: e-mail : mvesbroeck@itg.be
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be
Dr. WOESTYN Sophie : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
: e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

I. REMARQUES GENERALES

Pour la 2^e enquête du cycle 2006 (enquête 2006/2), le matériel suivant a été expédié le 24 avril 2006.

- 1.1. Deux échantillons cliniques et deux échantillons lyophilisés pour identification.
Pour deux échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés.
- 1.2. Deux échantillons de selles formolées pour la recherche de parasites.
- 1.3. Deux échantillons de plasma pour les tests de HBV et HCV.

NOMBRE DES PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

- | | | | |
|----|--|---|-----|
| 1. | Pour les identifications et antibiogrammes | : | 192 |
| 2. | Pour la parasitologie | : | 185 |
| 3. | Pour la sérologie | | |
| | HBV | : | 188 |
| | HCV | : | 177 |

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

Nous aimerions attirer votre attention sur le fait que l'atlas développé par Marc Lontie (montrant des photos de bactériologie, de mycologie et de parasitologie) se trouve sur notre site Web à l'adresse suivante :

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/ATLAS/ATLAS_FR.htm

II. IDENTIFICATIONS

2.1. Culture M6697 et culture 6785

Ces deux souches ont été identifiées correctement comme *Streptococcus pneumoniae* par plus de 95% des laboratoires. Après croissance sur une gélose au sang, on remarquait des petites colonies α -hémolytiques, catalase (-). La souche M/6697 était sensible à l'optochine. La souche M/6785 par contre a été envoyée pour montrer que quelques rares pneumocoques peuvent avoir un résultat intermédiaire à l'optochine. Les disques en papier disponibles commercialement (bioMérieux, Becton Dickinson...) ont une charge de 5 μ g d'optochine (ou chlorhydrate d'éthylhydrocupréine) et un diamètre de 6mm. Après incubation de 24h dans une étuve avec 5 à 10% de CO₂, une zone d'inhibition d'au moins 14 mm correspond à la sensibilité pour ces disques. Les zones d'inhibition plus petites correspondent à une sensibilité intermédiaire et quand il existe une croissance jusqu'au bord du disque la souche est résistante. Seuls de rares pneumocoques résistants à l'optochine ont été décrits (1). Pour les tablettes Rosco une zone d'inhibition \geq 18 mm après incubation dans une étuve à CO₂ est considérée comme positive.

Avec la souche M/6785 on ne remarquait que quelques colonies résistantes dans la zone d'inhibition si bien qu'elle a été considérée comme « intermédiaire » à l'optochine. Le test de sensibilité à la bile était néanmoins positif et selon le test de gonflement capsulaire ce pneumocoque appartenait au groupe capsulaire 6.

L'American Society of Microbiology conseille en cas d'application de disques d'optochine sur gélose au sang ensemencée avec un échantillon respiratoire ou des hémocultures positives, de compléter l'identification par un examen microscopique. Au moindre doute une nouvelle culture pure des colonies suspectes doit être effectuée sur gélose au sang avec application d'un disque d'optochine.

Globalement le disque d'optochine est, et reste, une méthode simple et excellente pour différencier les pneumocoques des autres streptocoques viridans. La sensibilité est presque de 99% et la spécificité de plus de 98% (2).

Les deux souches avaient également une réaction positive nette dans le test d'agglutination avec le Slidex® pneumo-kit (bioMérieux). Ce test est fiable à condition qu'il soit effectué correctement et donc que seule une agglutination nette est prise en compte. Un autre moyen pour confirmer l'identification des pneumocoques avec un test à l'optochine douteux consiste à effectuer un test de sensibilité à la bile. Le principe de ce test est basé sur la lyse des pneumocoques quand ils rentrent en contact avec une solution de 10% Na-désoxycholate. Le détergent Dreft peut également être utilisé à cet effet. Dans 1 ml d'eau physiologique stérile, on prépare une suspension du streptocoque de MacFarland 1. Ensuite la suspension est divisée en 2 tubes étroits. On ajoute 3 à 4 gouttes de Na-désoxycholate ou de Dreft au tube test. Au tube de contrôle sont ajoutées 3 à 4 gouttes d'eau physiologique. Après une incubation de 2h à 36°, un éclaircissement de la suspension dans le tube test est considéré comme positif.

Une autre manière de procéder consiste à appliquer le réactif directement sur des colonies qui ont poussé sur une gélose au sang (3).

Tous les laboratoires considèrent la souche M/6697 comme sensible à la pénicilline et aux céphalosporines de troisième génération et résistante à l'érythromycine. Dans le groupe des céphalosporines de troisième génération, les deux antibiotiques de choix sont la céfotaxime et la ceftriaxone. Quelques laboratoires ont testé d'autres céphalosporines et mentionné le résultat (voir tableau 2.1.): la ceftazidime (14x), la

ceftizoxime (5 x) et une céphalosporine (4 x). Ces antibiotiques ne constituent pas un bon choix pour le traitement des infections à pneumocoques et ne peuvent donc pas être rapportés.

Tableau 2.1.: Résultats des laboratoires pour les antibiogrammes avec l'échantillon M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R
Pénicilline	S	190	189	1	-
Erythromycine	R	187	1	8	178
Clarithromycine	R	3	-	-	3
Tétracycline	R	150	30	27	93
Doxycycline		25	22	-	3
Minocycline		3	1	1	1
Céphalosporine 3 ^e génération					
Céfotaxime	S	88	88	-	-
Ceftazidime	S	14	14	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone	S	55	55	-	-
Céfépime	S	2	2	-	-
«Céphalosporine»	S	4	4	-	-
Quinolones					
Ciprofloxacine		28	12	6	10
Lévofloxacine		59	54	4	1
Moxifloxacine		58	58	-	-
Norfloxacine		6	-	-	6
Ofloxacine		35	13	18	4
Gatifloxacine		1	1	-	-
Sparfloxacine		1	1	-	-
Oxolinezuur		1	-	-	1
«Quinolone»		4	4	-	-

Pour la tétracycline nous avons observé des résultats différents selon la technique utilisée.

Tableau 2.2. :

	Nombre d'utilisateurs	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Nombre de participants avec résultat		
					S	I	R
Tétracycline (CLSI)	35	30	19	14-22	2	18	15
ROSCO	44	80	28	17-31	27	11	6
VITEK 2	43	-	-	-	-	-	43

En conclusion, les résultats pour la tétracycline ne sont pas fiables. Plus de 61% et 25% des utilisateurs Rosco catégorisent la souche comme respectivement sensible ou intermédiaire. Vu les mauvais résultats obtenus avec les Rosco Neosensitabs, la souche a été envoyée pour contrôle à Rosco Diagnostica A/S. Ce producteur a testé la souche et après croissance sur Mueller-Hinton agar et incubation pendant 20 à 24 h dans un atmosphère enrichie de CO₂, il a obtenu une zone d'inhibition de 21 mm (intermédiaire/résistant). Le producteur explique le grand nombre de résultats faussement sensibles

par le fait que ces participants n'ont pas tenu compte de la présence de petites colonies, qui n'apparaissent qu'après une incubation de 20 - 24 h. Selon les directives il faut également tenir compte de ces petites colonies.

En dépit de cette clarification et explication de la compagnie Rosco, nous pouvons constater que plus de 90% des utilisateurs des disques en papier ont interprété la souche correctement. Les 43 utilisateurs du Vitek 2 ont également rapporté la souche comme résistante à la tétracycline.

Selon la fluoroquinolone choisie, des réponses différentes ont été obtenues pour cette souche.

Tableau 2.3. :

	Disques en papier				ROSCO				Vitek 2			
	Nbre	S	I	R	Nbre	S	I	R	Nbre	S	I	R
Ciprofloxacine	7	2	1	4	16	10	3	3	-	-	-	-
Lévofloxacine	5	4	1	-	17	16	0	1	16	16	0	0
Ofloxacine	9	3	6	-	17	7	8	2	8	3	4	1
Moxifloxacine	10	10	-	-	18	18	-	-	23	23	0	0

Avec l'E-test les valeurs de CMI suivantes ont été obtenues dans le laboratoire de référence: ciprofloxacine (16 mg/L), lévofloxacine (3 mg/L), ofloxacine (6 mg/L) et moxifloxacine (0.38 mg/L). Ces résultats illustrent bien l'activité des fluoroquinolones contre le *Streptococcus pneumoniae*. La ciprofloxacine et l'ofloxacine sont les produits les moins actifs, tandis que la moxifloxacine est la fluoroquinolone la plus active actuellement disponible pour le traitement des infections à pneumocoques. La Société Française de Microbiologie (SFM) conseille de rechercher en routine une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones à l'aide d'un disque de norfloxacine (5µg). Si on retrouve une zone d'inhibition <10 mm (ou une CMI > 16 mg/L) il existe: «un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique». Dans les mêmes directives se trouvent également les critères pour la lévofloxacine et la moxifloxacine. Les autres fluoroquinolones ne sont pas mentionnées dans ce document (4).

Les directives du CLSI de 2006 mentionnent des critères pour les fluoroquinolones suivantes: la gatifloxacine, la gémifloxacine, la lévofloxacine, la moxifloxacine, l'ofloxacine et la sparfloxacine; mais pas pour la norfloxacine et la ciprofloxacine. Selon le CLSI toutes les fluoroquinolones appartiennent à la catégorie B dont la définition est comme suit: «Group B represents agents that may warrant primary testing but which should be reported only selectively, such as when the organism is resistant to penicillin, erythromycin and trimethoprim-sulfamethoxazole.» (5).

L'exécution de l'antibiogramme pour la souche M/6785 n'a pas posé de problème spécifique. Cette souche a été considérée sans exception comme sensible à la pénicilline, à l'amoxicilline, aux céphalosporines de la troisième génération et aux macrolides. La résistance aux fluoroquinolones (y inclus la moxifloxacine) a également été rapportée sans exception.

L'activité antibactérienne d'une fluoroquinolone est déterminée par sa capacité de neutraliser la DNA-gyrase et/ou la topoisomérase IV. La DNA-gyrase est le plus souvent l'enzyme ciblée chez les Gram négatifs et la topoisomérase IV chez les Gram positifs. Des mutations spontanées apparaissent dans les sous-unités de la DNA-gyrase (*gyrA* et *gyrB*) et/ou de la topoisomérase IV (*parC* et/ou *parE*). Chez les pneumocoques les mutations dans le *parC* aboutissent à une résistance intermédiaire à la norfloxacine, la ciprofloxacine, l'ofloxacine et la lévofloxacine. Les mutations dans le *gyrA* se traduisent

par une résistance intermédiaire à la gatifloxacine et à la sparfloxacine. Ces deux antibiotiques ne sont cependant pas commercialisés en Belgique (à cause des effets secondaires). La résistance complète aux fluoroquinolones est le plus souvent la suite de mutations dans les deux enzymes cibles. L'activité supérieure de la moxifloxacine repose sur la donnée que cette fluoroquinolone s'attaque aussi bien à la DNA-gyrase qu'à la topoisomérase IV (6, 7). La résistance basée sur l'efflux est également décrite mais est jusqu'à présent rarement rapportée pour les pneumocoques résistants aux fluoroquinolones (6). Pour le moment la résistance aux fluoroquinolones ne pose pas de grand problème en Belgique. Selon les données du laboratoire de référence en 2006 environ 1% des pneumocoques originaires d'hémocultures étaient résistants à l'ofloxacine. Une publication italienne récente montre néanmoins un pourcentage de résistance de 5.6% à la lévofloxacine (8).

La souche M/6785 a été isolée d'une expectoration d'un homme âgé souffrant d'une problématique BPCO qui a été traité par son généraliste avec la moxifloxacine. Selon les directives actuelles belges la moxifloxacine n'est indiquée que pour le traitement des infections pneumococciques sévères des voies respiratoires inférieures en cas de: (i) une souche résistante à la pénicilline avec des valeurs CMI > 4 mg/L et/ou (ii) allergie documentée à la pénicilline.

La présence en Belgique de telles souches résistantes à la moxifloxacine est une stimulation pour les laboratoires à effectuer un antibiogramme pour les fluoroquinolones. Le plus souvent les souches résistantes à la lévofloxacine, seront sensibles à la moxifloxacine. Mais si on envisage de traiter une infection sérieuse à pneumocoques qui sont résistants à la lévofloxacine avec la moxifloxacine, l'activité de cet antibiotique doit être confirmée. Cette souche était cependant sensible à la pénicilline et à l'amoxicilline. Ce dernier antibiotique aurait été un meilleur choix pour ce patient. En cas d'allergie à la pénicilline la vancomycine et le linézolide appartiennent aux alternatives utilisables.

J. Verhaegen, UZ Gasthuisberg et K. Vernelen, ISP, Bruxelles

REFERENCES

1. Pikis A, Campos JM, Rodriguez WJ, Keith JM. Optochin resistance in *Streptococcus pneumoniae*: mechanisms, significance and clinical implications. *J Infect Dis*, 2001, 184: 582-590.
2. *Clinical Microbiology Procedures Handbook* ASM, Isenberg second edition, 2004: 3.17.38.
3. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Isenberg, 1992, volume 1: p 1.20.19.
4. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, Communiqué 2006 (janvier), Pr. C.J. Soussy, Créteil.
5. CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement, 2006, volume 26, n°3.
6. Schurek KN, Adam HJ, Siemens CG, Hoban CJ, Hoban DJ, Zhanel GG. Are fluoroquinolone-susceptible isolates of *Streptococcus pneumoniae* really susceptible? A comparison of resistance mechanisms in Canadian isolates from 1997 and 2003. *JAC* 2005, 56: 769-772.
7. Pletz MWR, Shergill AP, McGee L, Beall B, Whitney CG, Klugman KP. Prevalence of first-step mutants among levofloxacin-susceptible invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50: 1561-1563.
8. Deshpande LM, Sader HS, Debbio E, Nicoletti G, Fadda G, Jones RN. Emergence and epidemiology of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains from Italy: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2001-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* 54, 2006: 157-164.

2.2. Culture M/6832 *Yersinia enterocolitica* biotype 2 sérotype O: 9

Le genre *Yersinia* fait partie des *Enterobacteriaceae* et comprend essentiellement trois espèces pathogènes : *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* (ces deux ne formant qu'une seule espèce sur le plan taxonomique) et *Y. enterocolitica*. A côté de cette dernière, plusieurs espèces apparentées, initialement appelées «*Y. enterocolitica*-like organisms» ont été décrites : *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. aldovae* et *Y. rohdei*. Elles doivent être distinguées de *Y. enterocolitica* car elles n'ont pas la même signification pathologique et ont un caractère ubiquiste. *Y. enterocolitica* est impliquée dans des entérites, principalement chez les jeunes enfants, ainsi que dans des syndromes pseudo-appendiculaires traduisant une adénite mésentérique ou une iléite terminale. Dans de rares cas, le germe peut causer une septicémie chez des patients cirrhotiques ou en surcharge de fer ; un nombre non négligeable de septicémies post-transfusionnelles a également été signalé. Enfin, des complications non-invasives telles qu'une arthrite réactionnelle ou un érythème noueux peuvent parfois être observées.

Y. enterocolitica comporte 6 biotypes et de nombreux sérotypes. Comme les espèces apparentées le biotype 1^A est ubiquiste et non-pathogène. Les biotypes 1^B à 5 possèdent des facteurs de virulence, dont le plasmide pYV qui contribue à l'invasivité, et sont donc potentiellement pathogènes. En Belgique les biotypes 4 / sérotype O: 3 et 2 / sérotype O: 9 sont les plus fréquemment rencontrés. Le sérotype O: 3 étant largement dominant. Le biotype 2 / sérotype O: 5,27 est très rarement isolé. Le biotype 1^B qui comporte essentiellement des souches du sérotype O: 8 est surtout présent en Amérique du Nord mais a été rencontré ailleurs depuis.

Depuis la fin des années 80 le nombre de souches pathogènes répertoriées en Belgique a diminué de manière spectaculaire, passant de plus de 1000 souches par an à ± 300 actuellement. Un réservoir bien documenté des souches du biotype 4/O:3 est le porc de boucherie et une corrélation a été établie par Tauxe et coll. entre la survenue d'infection à *Y. enterocolitica* et la consommation de viande hachée crue de porc.

Examen bactériologique.

Y. enterocolitica a la particularité de présenter une meilleure croissance à 30°C qu'à 37°C et d'avoir une plus grande activité biochimique en dessous de 30°C, particulièrement en ce qui concerne la réaction de Voges Proskauer qui est négative à 37°C et, dans une moindre mesure, d'autres réactions qui sont plus lentes à 37°C.

Si l'isolement à partir des selles ne peut pas se faire idéalement à 30°C, il est possible, après une incubation classique à 37°C de garder les ensemencements un jour supplémentaire à température du laboratoire. Le milieu d'isolement sélectif le plus utilisé est le milieu CIN, mais le germe peut être retrouvé sur les milieux plus classiques de coproculture tels que SS ou DCL. Il faut proscrire les milieux contenant du saccharose comme la gélose Hektoen, le germe étant saccharose positif.

L'identification par les systèmes commerciaux est en général satisfaisante mais les espèces apparentées peuvent poser quelques problèmes. En particulier *Y. bercovieri*, la deuxième plus fréquente après *Y. frederiksenii* dans les selles humaines, est systématiquement identifiée comme *Y. enterocolitica*. En utilisant des tests conventionnels, l'uréase, l'absence de désaminase, la fermentation du saccharose et la décarboxylation de l'ornithine sont des éléments importants.

Il est nécessaire de distinguer les souches non-pathogènes (espèces apparentées et *Y. enterocolitica* biotype 1^A) des biotypes pathogènes, chez nous principalement les biotypes 2 et 4. Deux tests ont été proposés à cet égard : les souches qui sont esculine et/ou pyrazinamidase + sont non-pathogènes, celles qui sont esculine et pyrazinamidase négative appartiennent aux biotypes pathogènes. En pratique, la recherche de la pyrazinamidase

est rarement effectuée en routine. De ce fait l'esculine reste un moyen simple d'écarter, à coté de quelques espèces apparentées, les souches du biotype 1^A qui sont les plus nombreuses parmi les non-pathogènes à être rencontrées dans les coprocultures. La souche de l'enquête appartenait au biotype 2 conformément aux caractères décrits dans le tableau: elle était esculine négative, produisait de l'indole, surtout en dessous de 30°C et fermentait le xylose.

La détermination du sérotype a essentiellement un but épidémiologique. Cependant, l'appartenance à un des sérotypes O: 3, O: 9 ou O: 8 est souvent utilisée comme confirmation de l'identification. Ceci na toutefois qu'une valeur relative car ces facteurs antigéniques peuvent se rencontrer dans le biotype 1^A ou dans les espèces voisines. Cette réserve s'impose surtout en bactériologie alimentaire où les souches non-pathogènes se retrouvent avec une grande fréquence.

Les *Y. enterocolitica* élaborent deux β -lactamases qui les rendent résistantes aux différentes pénicillines (ampicilline, ticarcilline, ...) et aux céphalosporines de 1^{ère} génération. Elles sont cependant sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération, aux tétracyclines, aux aminosides et aux fluoroquinolones.

Biotypes de *Yersinia enterocolitica*.

	1 ^A	1 ^B	2	3	4	5
Esculine	+	-	-	-	-	-
Pyrazinamidase	+	-	-	-	-	-
Tween 80	+	+	-	-	-	-
Indole	+	+	(+)	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	-	V
Tréhalose	+	+	+	+	+	-

Prof. G. Wauters, UCL, Bruxelles

2.3. Culture M/6899 *Neisseria gonorrhoeae*

Les gonocoques sont des diplocoques à Gram négatif; de tous les Neisseriae, les gonocoques sont les plus difficiles à faire pousser: pour l'isolation il faut un milieu de culture riche exigeant une base de sang ou d'hémoglobine et des suppléments tels le glucose, les enzymes, les vitamines, et les acides aminés (présents par exemple dans l'IsoVitalex ou le Vitox). La température peut varier modérément entre 35 et 37°C, l'atmosphère doit être suffisamment humide et enrichie en CO₂.

Pour le prélèvement d'échantillons chez le patient on utilise un écouvillon qui est soit transporté immédiatement au laboratoire, soit envoyé au laboratoire dans un milieu de transport. Un milieu de transport sur base de carbone actif (par exemple Amies) est le plus approprié: après 6 heures presque tous les germes survivent, après un transport de 12 heures la perte de sensibilité du test est minimale, une durée de transport de plus de 24 heures donne une perte de sensibilité importante et peut aboutir à une culture faussement négative.

Chez l'homme, pour l'urétrite une coloration de Gram peut suffire à un diagnostic correct: la spécificité d'un examen microscopique directe est tellement grande qu'une identification supplémentaire n'est pas strictement nécessaire; la sensibilité d'une culture est à peine plus élevée chez les hommes qui ont des symptômes. Pour la recherche des gonocoques chez les hommes sans symptômes la culture est indiquée; la recherche de gonocoques dans les échantillons extra-génitaux nécessite également la culture.

Le diagnostic d'une gonorrhée chez la femme est plus difficile. Une coloration de Gram ne peut certainement pas être conseillée à cause de sa sensibilité extrêmement faible. On peut en outre également observer un résultat faux positif. On est donc obligé d'effectuer une culture sur des milieux de cultures frais, rendus sélectifs grâce à l'addition de certains produits antimicrobiens (les géloses plus vieilles que 2 semaines perdent beaucoup de leur sensibilité). Si les colonies « typiques » sont confirmées par la coloration de Gram, l'oxidase et/ou la catalase une telle identification est suffisamment fiable pour les échantillons génitaux.

L'identification provisoire des échantillons extra-génitaux (hommes et femmes) doit être confirmée par des tests supplémentaires (sucres, enzymes, anticorps monoclonaux). Des trousse commerciales d'identification biochimique sont disponibles sur le marché. Malheureusement, on observe de plus en plus de souches de *N. gonorrhoeae* non identifiables avec ces galeries commerciales. Dès lors, le test le plus spécifique est le test d'agglutination par des anticorps monoclonaux, qui peut être effectué comme test de confirmation de *Neisseria gonorrhoeae*.

Il est délicat de donner un conseil au sujet de l'antibiogramme. L'exécution fiable d'un antibiogramme par disque est très difficile, presque impossible dans un laboratoire diagnostique, surtout pour des patients individuels; il peut peut-être être effectué dans des centres de MST plus grands où on voit chaque jour plusieurs cas de gonorrhée. Pour satisfaire aux critères du 'Clinical and Laboratory Standards Institute' (CLSI) ou du 'Comité de l'antibiogramme' (CA-SFM) pour l'exécution d'un antibiogramme par disque on doit utiliser des géloses GC fraîchement préparées contenant un supplément de croissance (qui est par exemple présent dans l'IsoVitalex) sans addition de sang ou d'hémoglobine. Une gélose chocolat donne des zones d'inhibitions incorrectes et est donc déconseillée.

Pour chaque lot il faut effectuer une validation et tester plusieurs souches de contrôle. Les directives de la 'Société Française de Microbiologie' se trouvent sur le site: <http://www.sfm.asso.fr>

Les directives du CLSI sont décrites dans un document du CDC à l'adresse suivante : <http://www.cdc.gov/std/Gonorrhea/arg/B88-Feb-2005.pdf>. Le même document décrit

l'utilisation du panel de contrôle pour tests de sensibilité; le panel lui-même peut être commandé au CDC.

Il semble plus pertinent et conseillé de suivre les directives nationales ou internationales dans le traitement d'une gonorrhée ; quelques directives sont reprises dans l'annexe 2. La détermination de la sensibilité des gonocoques est dans beaucoup de pays une tâche typique du centre de référence national où il existe plus de possibilités d'utiliser des techniques de référence standard pour tester un grand nombre d'isolats représentatifs de gonocoques. Ce n'est que de cette façon que les tendances de résistance peuvent être suivies de manière fiable. Un feedback des résultats obtenus conduira à de meilleures directives de traitement que l'information d'antibiogrammes individuels moins fiables.

En 2005 tous les gonocoques, qui ont été testés dans le centre de référence, étaient sensibles aux céphalosporines de troisième génération et à la spectinomycine. Plus de 50% d'isolats étaient résistants à la ciprofloxacine, plus de 40% à la tétracycline et environ 20% à la pénicilline. Selon les recommandations de l'OMS et du CDC l'utilisation d'un antibiotique est déconseillée quand plus de 5% des isolats sont résistants.

La résistance à la pénicilline était principalement due à la présence d'un plasmide produisant une β -lactamase (test de nitrocéphine positif), mais pour 1/3 des souches cette résistance était d'origine chromosomique (test de nitrocéphine négatif). La céphinase n'est donc pas un test suffisant pour affirmer la sensibilité à la pénicilline en cas de négativité du test.

Le gonocoque envoyé dans l'enquête était intermédiaire sensible à la pénicilline (CMI: 0.5 mg/l), résistant à la tétracycline (CMI: 2.0 mg/l), la ciprofloxacine (CMI: 32.0 mg/l) et l'azithromycine (CMI: \geq 1.0 mg/l) et sensible à la spectinomycine (CMI: 16.0 mg/l) et la ceftriaxone (CMI: 0.015 mg/l). La souche ne contient pas de plasmide producteur de β -lactamase.

La souche ne contient non plus de plasmide Tet M, la résistance à la tétracycline est donc chromosomique. Les souches qui ont une résistance à la tétracycline médiée par un plasmide ont d'habitude une valeur CMI plus élevée (\geq 8 mg/l). La résistance élevée à la ciprofloxacine est due à 2 mutations ponctuelles dans la sous-unité A de la DNA gyrase (GyrA) et 2 mutations ponctuelles dans la sous-unité ParC de la topoisomérase IV.

Les souches ayant des mutations dans les 2 sous-unités ont une plus grande résistance aux fluoroquinolones.

Ce gonocoque contient le plasmide cryptique 2.6 Mda. Normalement tous les gonocoques contiennent le plasmide cryptique, mais actuellement de plus en plus de gonocoques dépourvus de ce plasmide sont rapportés. Cette donnée est importante dans le choix d'une technique d'amplification éventuelle pour les gonocoques; il n'est pas conseillé d'utiliser une technique d'amplification qui a le plasmide cryptique comme cible.

Plusieurs techniques d'amplification moléculaires pour la recherche de *N. gonorrhoeae*, souvent en combinaison avec la détection de *C. trachomatis*, sont disponibles sur le marché. Ces techniques sont moins sensibles sur les urines que sur les frottis urétraux.

Le plus grand problème est la spécificité, chaque trousse commerciale détecte également d'autres Neisseriae. Il est donc conseillé de confirmer chaque résultat positif par une deuxième amplification avec une autre cible; ceci n'est pas possible pour la plupart des laboratoires.

Annexe 1 : Aperçu des breakpoints des valeurs CMI (mg/l)

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Pénicilline	≤ 0.06	(0.125-1)	≥ 2
Ciprofloxacine	≤ 0.06	(0.125-0.5)	≥ 1
Tétracycline	≤ 0.25	(0.5-1)	≥ 2
Ceftriaxone	≤ 0.25	-	-
Spectinomycine	≤ 32	64	≥ 128
Azithromycine		≤ 0.5	≥ 1

Annexe 2: Aperçu des directives pour le traitement

- CDC STD guidelines, 2006
PAS DE QUINOLONES pour le traitement de patients avec gonorrhée en Hawaï, en Californie, pour les patients venant d'Asie et du Pacifique. Pas pour le traitement des homosexuels de sexe masculin.

Pour le traitement d'une gonorrhée génitale sans complication les antibiotiques suivants sont proposés:
 Ceftriaxone 125 mg IM, en 1 seule dose
 Céfixime 400 mg oral, en 1 seule dose
 Ciprofloxacine 500mg oral, en 1 seule dose
 Ofloxacine 400 mg oral, en 1 seule dose
 Lévofloxacine 2 g IM, en 1 seule dose
- European STD Guidelines, 2001
 Pour le traitement d'une gonorrhée génitale sans complication les antibiotiques suivants sont proposés:
 Ceftriaxone 250 mg IM, en 1 seule dose
 Ciprofloxacine 500mg oral, en 1 seule dose
 Ofloxacine 400 mg oral, en 1 seule dose
 Céfixime 400 mg oral, en 1 seule dose
 Spectinomycin 2 g IM, en 1 seule dose
- Directives néerlandaises, 2006
 Pour le traitement d'une gonorrhée génitale sans complication les antibiotiques suivants sont proposés:
 Ceftriaxone 250-500 mg IM, en 1 seule dose
 Céfoxime 1 g IM, en 1 seule dose
 Céfixime 400 mg oral, en 1 seule dose
 Céfuraxime axetil 2 x 1000 mg oral
- Sanford guidelines, 2005- 2006
 Pour le traitement d'une gonorrhée génitale sans complication les antibiotiques suivants sont proposés:
 Ciprofloxacine 500 mg oral, en 1 seule dose
 Spectinomycine 2 g IM, en 1 seule dose
 Ceftriaxone jusque 1 g IM, en 1 seule dose

5. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 2005
Pour le traitement d'une gonorrhée génitale sans complication les antibiotiques suivants sont proposés:
Ceftriaxone 250-500 mg IM, en 1 seule dose
Céfixime 400 mg oral, en 1 seule dose
Spectinomycine 2 g IM, en 1 seule dose
Ciprofloxacine 500 mg oral, en 1 seule dose

Annexe 3 : Envoi des gonocoques au laboratoire de référence

Nous conseillons pour l'envoi des gonocoques au laboratoire de référence d'ensemencer une sous-culture de l'isolat sur une gélose au sang le dimanche ou le lundi et de l'envoyer après une croissance d'au maximum 20h (on ne peut les mettre à la poste que le lundi ou mardi; en cas de jour férié dans les 1 ou 2 jours qui suivent, il vaut mieux attendre la semaine suivante). Quand ce conseil est suivi 100% des isolats survivent ; les chances de survie diminuent fortement si on utilise une gélose chocolat et après une durée de transport de plus d'un jour.

Les gonocoques sont le plus souvent mis en culture sur des milieux spécifiques et sélectifs. Régulièrement d'autres bactéries, qui sont présentes dans l'échantillon, survivent sur ces milieux (il ne faut pas forcément la présence de colonies). Il est donc conseillé d'ensemencer une sous-culture sur une gélose au sang ou gélose chocolat non-sélective avant d'effectuer une identification et de tester éventuellement la β -lactamase. Les gonocoques poussent plus lentement sur gélose au sang que sur gélose chocolat, mais pour cette raison ils survivent plus longtemps sur cette gélose au sang.

Eddy Van Dyck, Tania Crucitti, Laboratoire de Référence *Neisseria gonorrhoeae*
Département Microbiologie, Institut de Médecine Tropicale Anvers

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N = 192)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées

3.1. Culture M/6697 *Streptococcus pneumoniae* (abcès paravertébral)

<u><i>Streptococcus pneumoniae</i></u>	190 (99.0%)
<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Streptococcus sanguis</i>	1

3.2. Culture M/6785 *Streptococcus pneumoniae* (expectoration)

<u><i>Streptococcus pneumoniae</i></u>	184 (95.8%)
<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1
<i>Streptococcus oralis</i>	1
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1
Pas de pathogènes	2
Pas de pathogènes (<i>Streptococcus mitis</i>)	1
Sous-traité	1

Remarque: 9 laboratoires ont explicitement mentionné la résistance à l'optochine de ce germe

3.3. Culture M/6832 *Yersinia enterocolitica* (selles)

Cet échantillon contenait également des *E. coli* comme commensaux

<u><i>Yersinia enterocolitica</i></u>	132 (68.8%)
<u><i>Yersinia enterocolitica</i> groupe</u>	10 (5.2%)
<u><i>Yersinia enterocolitica</i> sérotype 09</u>	23 (12.0%)
<u><i>Yersinia enterocolitica</i> biotype 2 sérotype 09</u>	2 (1.0%)
<u><i>Yersinia species</i></u>	21 (10.9%)
<i>Yersinia enterocolitica</i> + <i>E.coli</i>	1
<i>Yersinia enterocolitica</i> + <i>E.coli</i> O157 H7	1
Sous-traité	1
Pas de réponse	1

3.4 Culture M/6899 *Neisseria gonorrhoeae* (écouvillon génital)

Remarque: cet échantillon contenait également des lactobacilles comme commensaux. Les résultats ont montré que (en dépit des contrôles effectués et précautions prises) le transport a eu un effet nocif sur ce germe; ceci a eu pour conséquence qu'un grand nombre de laboratoires n'ont pas réussi à cultiver le germe en question. Les résultats de cet échantillon ne seront pas pris en compte pour l'évaluation des laboratoires

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	15
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> + <i>Lactobacillus species</i>	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> + <i>Gemella morbillorum</i>	1
Absence de pathogènes/flore commensale	60
Absence de pathogènes/flore commensale (<i>Lactobacillus sp.</i>)	30
Absence de pathogènes/flore commensale (<i>L. acidophilus</i>)	9
Absence de pathogènes/flore commensale (<i>L. vaginalis</i>)	1
Absence de pathogènes/flore commensale (Bacilles Gram +)	1
<i>Lactobacillus species</i>	17
<i>Lactobacillus species</i> , pathogène incertain	1
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	12
<i>Lactobacillus species</i> + <i>C. albicans</i>	1
<i>Lactobacillus species</i> + <i>S. alactolyticus</i>	1
<i>Neisseria subflava</i> + <i>Lactobacillus species</i>	1
Bacilles Gram positif en chaînettes	1
Bacilles Gram positif, sensibles à la vancomycine	1
Bacilles Gram positif, pas de lactobacilles	1
Bacilles Gram positif	3
Diplocoques Gram positif, pas de croissance	1
<i>Actinomyces israelii</i>	4
<i>Actinomyces species</i>	3
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1
<i>Actinomyces turicensis</i>	1
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2
<i>Clostridium perfringens</i>	1
<i>Corynebacterium rénale</i> groupe	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1
<i>Gemella morbillorum</i>	2
<i>Lactococcus garvieae</i>	3
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i>	1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2
<i>Streptococcus cristatus</i>	1
<i>Streptococcus equinus</i>	1
Sous-traité	2
Pas de réponse	8

Remarque: 1 laboratoire a identifié le *N. gonorrhoeae* par PCR

IV. ANTIBIOGRAMME

Un aperçu général des résultats est présenté au début de la discussion. Dans le traitement ultérieur les résultats sont analysés selon les méthodes utilisées. L'antibiogramme type a été réalisé par plusieurs experts.

4.1. Culture M/6697 (*S. pneumoniae*)

Nombre de participants = 192

Tous les laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques. Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs quinolones et/ou céphalosporines. Un laboratoire n'a pas fourni de résultats pour les céphalosporines de la 3^e génération: il a mentionné que les tests de diffusion ne sont pas conseillés pour cette détermination (et le labo ne dispose pas des tests pour déterminer la CMI de ces 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 le plus résistant.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R
Pénicilline ¹	S	190	189	1	-
Erythromycine	R	187	1	8	178
Clarithromycine ²	R	3	-	-	3
Tétracycline	R	150	30	27	93
Doxycycline ³		25	22	-	3
Minocycline ³		3	1	1	1
Céphalosporines 3 ^e génération					
Céfotaxime ⁴	S	88	88	-	-
Ceftazidime ⁴	S	14	14	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone ⁴	S	55	55	-	-
Céfépime	S	2	2	-	-
«Céphalosporine» ⁵	S	4	4	-	-
Quinolones					
Ciprofloxacin		28	12	6	10
Lévofoxacin		59	54	4 ⁷	1
Moxifloxacin		58	58	-	-
Norfloxacin		6	-	-	6
Ofloxacin		35	13	18	4
Gatifloxacin		1	1	-	-
Sparfloxacin		1	1	-	-
Acide oxolinique		1	-	-	1
«Quinolone» ⁶		4	4	-	-

¹ Un grand nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide d'un disque d'oxacilline.

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.

³ Un certain nombre de laboratoires ont testé la doxycycline ou la minocycline au lieu de la tétracycline.

⁴ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à une de ces céphalosporines à l'aide d'un disque d'oxacilline.

⁵ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine utilisée.

⁶ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

⁷ Un laboratoire a répondu « I » pour la lévofoxacin même s'il a obtenu avec la méthode ATB un résultat « S »; étant donné qu'avec le disque de la norfloxacin un résultat « R » a été obtenu le résultat de la lévofoxacin a été changé en « I ».

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 n'ont 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/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline ¹	10 (18)	10	39.5	29 - 44	18	-	-
Oxacilline/Pénicilline ²	21 (22)	1	26	20 - 34	22	-	-
Erythromycine	34 (39)	15	6	6 - 10	-	-	39
Clarithromycine	3 (3)	15	6	6 - 7	-	-	3
Tétracycline	31 (35)	30	19	14 - 22	2	18	15
Doxycycline	2 (2)	30	16	16 - 16	-	-	2
Minocycline	1 (1)	30	15	15 - 15	-	-	1
Céphalosporines							
Céfotaxime ³	10 (11)	30	42.5	35 - 50	11	-	-
Ceftazidime ⁴	1 (1)	30	32	32 - 32	1	-	-
Ceftizoxime	- (1)	-	-	-	1	-	-
Ceftriaxone ⁵	7 (9)	30	36.5	31 - 40	9	-	-
Céfépime	1 (2)	30	41	41 - 41	2	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	6 (7)	5	13.5	6 - 15	2	1	4
Lévofloxacine	5 (5)	5	18	16 - 24	4	1	-
Moxifloxacine	8 (10)	5	24.3	21 - 30	10	-	-
Norfloxacine ⁶	- (2)	-	-	-	-	-	2
Ofloxacine	8 (9)	5	15	13 - 18	3	6	-
«Quinolone»	1 (1)	5	19	19 - 19	1	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline pour mesurer la sensibilité à la pénicilline. Trois de ces laboratoires ont également pris en compte le résultat des disques d'oxacilline pour évaluer la sensibilité à la pénicilline.

² La majorité des laboratoires ayant déterminé la sensibilité à la pénicilline avec des disques en papier l'ont effectué à l'aide des disques d'oxacilline. Dans la ligne « oxacilline/pénicilline » les diamètres représentent les diamètres mesurés autour des disques d'oxacilline; les résultats représentent les résultats finaux ayant été répondu pour la pénicilline. Les diamètres obtenus par les 3 laboratoires mentionnés ci-dessus (qui ont utilisé des disques de pénicilline et d'oxacilline) ont également été pris en compte.

³ En outre un laboratoire a répondu la céfotaxime comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

⁴ En outre un laboratoire a répondu la ceftazidime comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

⁵ En outre 2 laboratoires ont répondu la ceftriaxone comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

⁶ Les deux laboratoires qui ont déterminé la sensibilité à la norfloxacine avec les disques en papier, ont chacun rapporté une charge différente; ceci rend une évaluation adéquate des diamètres impossible.

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline ¹	31 (41)	5	40	30 - 50	41	-	-
Oxacilline/Pénicilline ²	32 (36)	1	28	16 - 34	36	-	-
Erythromycine ³	65 (77)	78	9	9 - 10	-	-	77
Tétracycline ⁴	33 (44)	80	28	17 - 31	27	11	6
Doxycycline	19 (23)	80	28	25 - 36	22	-	1
Minocycline	1 (1)	80	28	28 - 28	1	-	-
Céphalosporines							
Céfotaxime ⁵	19 (24)	30	42	30 - 48	24	-	-
Ceftazidime	10 (12)	30	35.5	28 - 40	12	-	-
Ceftizoxime	4 (4)	30	42.5	34 - 48	4	-	-
Ceftriaxone ⁶	10 (10)	30	39.5	35 - 48	10	-	-
«Céphalosporine»	1 (1)	30	48	48 - 48	1	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacin	11 (16)	10	20	17 - 32	10	3	3
Lévofoxacin	16 (17)	5	20.5	18 - 26	16	-	1
Moxifloxacin	13 (18)	5	24	16 - 28	18	-	-
Norfloxacin	4 (4)	10	9.5	9 - 10	-	-	4
Ofloxacin	10 (17)	10	20	14 - 21	7	8	2
Acide oxolinique	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1
«Quinolone»	2 (2)	5	22	22 - 22	2	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline de Rosco pour mesurer la sensibilité à la pénicilline. Dix de ces laboratoires ont également pris en compte le résultat des disques d'oxacilline pour évaluer la sensibilité à la pénicilline.

² La majorité des laboratoires ayant déterminé la sensibilité à la pénicilline avec des disques Rosco l'ont effectué à l'aide des disques d'oxacilline. Dans la ligne « oxacilline/pénicilline » les diamètres représentent les diamètres mesurés autour des disques d'oxacilline; les résultats représentent les résultats finaux ayant été répondeurs pour la pénicilline. Les diamètres obtenus par les 10 laboratoires mentionnés ci-dessus (qui ont utilisé des disques de pénicilline et d'oxacilline) ont également été pris en compte.

³ En outre un laboratoire a répondu un diamètre <9.

⁴ En outre un laboratoire a répondu un diamètre >30.

⁵ En outre 2 laboratoires ont répondu la céfotaxime comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline. Un laboratoire a répondu un diamètre >30.

⁶ En outre 2 laboratoires ont répondu la ceftriaxone comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

La compagnie International Medical (distributeur des disques Rosco) a été contactée au sujet du grand nombre de réponses « sensibles » pour la tétracycline. Les résultats de leur examen sont repris ci-dessous.

MIC value

MICs were performed using the agar dilution method, following the CLSI recommendations. *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 and *S. pneumoniae* ATCC 49619 were used as control. *S. pneumoniae* strain M/6697 showed no change in growth (same as control without antibiotic) up to MIC 1 µg/ml. At MIC 2 µg/ml there was a strong reduction of growth, and at MIC 4 µg/ml the growth reduction was even stronger. At MIC 8 µg/ml there was no growth.

Tetracycline being a bacteriostatic antimicrobial, the MIC value must be placed around 4 µg/ml (intermediate result according to CLSI breakpoints).

Presence of CO₂

Testing of the strain on a CO₂ atmosphere showed an increase of the zone size of 4 to 5 mm compared to testing on a normal atmosphere.

This is due to the fact that CO₂ reduces the pH value of the medium, resulting in an increase of activity of tetracycline.

Incubation time

CLSI recommends an incubation time of 20-24 hours with pneumococci. This is rather critical with the present strain. Shorter incubation times result in larger inhibition zones, because growth of smaller colonies is not detected at shorter incubation times. It may result in false susceptibility.

Reading of the inhibition zone

Our studies showed that the zone of inhibition is difficult to read, because there is a gradient of growth going from no growth to colonies of normal size (compared to the reduction of growth from 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ up to 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$). The CLSI recommends reading of the clear zone. Reading of other zones may result in false susceptible results.

Our results, using the recommendations of the CLSI i.e. incubation 20-24 hours, CO_2 atmosphere, and reading of the clear zone, showed a mean inhibition zone of 21 mm (range 20-22 mm) with Tetracyclines (80 μg) Neo-Sensitabs, classifying the strain as intermediate/resistant.

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau 4.1.4.

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/6697 (*S. pneumoniae*).

	CMI (mg/l)											Résultats							
	Nombre de résultats	< 0,016	0,016	0,032	0,064	0,125	0,256	0,512	1	2	4	8	16	32	64	128	256	S	I
Pénicilline	48	2	5	28	13												47	1	-
Erythromycine ¹	4	1															-	-	4
Tétracycline	3	1															-	1	2
Céphalosporines																			
Céfotaxime	17			10	3												17	-	-
Ceftriaxone	19	3	3	10	3												19	-	-
«Céphalosporine»	1			1													1	-	-
Quinolones																			
Ciprofloxacine	1																-	1	-
Lévofloxacine	3								2	1							2	1	-
Moxifloxacine	2						1	1									2	-	-

* Valeur CMI non mentionnée.

¹ Un laboratoire a répondu une valeur CMI ≥ 1mg/l.

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/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Vitek 2				Vitek 2 compact					
	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'utilisateurs)		
	S	I	R		S	I	R			
Pénicilline	39	-	-	≤ 0.06	37 (39)	8	-	-	≤ 0.06	7 (8)
Erythromycine	1	9	30	≥ 1	28 (40)	-	2	6	≥ 1	4 (8)
Tétracycline	-	-	43	8	29 (43)	-	-	8	8	4 (8)
Céphalosporines										
Céfotaxime	21	-	-	≤ 0.06	19 (21)	3	-	-	≤ 0.06	3 (3)
Ceftriaxone	18	-	-	≤ 0.06	18 (18)	3	-	-	≤ 0.06	3 (3)
«Céphalosporine»	2	-	-	≤ 0.06	2 (2)	-	-	-	-	-
Quinolones										
Lévofoxacine	16	-	-	2	8 (16)	3	-	-	1	2 (3)
Moxifloxacine	23	-	-	≤ 0.25	20 (23)	5	-	-	≤ 0.25	5 (5)
Ofloxacine	3	4	1	4	5 (8)	-	-	-	-	-
Gatifloxacine	1	-	-	≤ 0.5	1 (1)	-	-	-	-	-
Sparfloxacine	1	-	-	≤ 0.12	1 (1)	-	-	-	-	-
«Quinolone»	1	-	-	≤ 0.25	1 (1)	-	-	-	-	-

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 l'érythromycine, 8 laboratoires ont mentionné une dilution de 0.5 mg/l et un laboratoire une dilution ≤ 0.06 mg/l pour Vitek 2; pour Vitek 2 compact, 3 laboratoires ont mentionné une dilution de 0.5 mg/l
- pour la tétracycline, 7 laboratoires ont retrouvé une dilution ≥ 16 mg/l pour Vitek 2
- pour la lévofoxacine un laboratoire a mentionné une dilution ≤ 0.05 mg/l et un autre une dilution ≤ 0.25 mg/l pour Vitek 2

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/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	15	-	-
Erythromycine	-	-	16
Tétracycline	1	-	14
Céphalosporines			
Céfotaxime	13	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	1	-
Lévofoxacine ¹	12	1 ¹	-

¹ Un laboratoire a répondu « I » pour la lévofoxacine même s'il a obtenu avec la méthode ATB un résultat « S »; étant donné qu'avec le disque de la norfloxacine un résultat « R » a été obtenu le résultat de la lévofoxacine a été changé en « I ».

Les résultats obtenus avec les appareils Phoenix, Osiris 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 Phoenix pour l'échantillon M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	4	-	-
Erythromycine	-	-	4
Tétracycline	-	-	4
Céphalosporines			
Céfotaxime	3	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Lévofoxacine	1	-	-
Moxifloxacine	3	-	-

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	2	-	-
Erythromycine	-	-	5
Tétracycline	2	1	1
Céphalosporines			
Céfotaxime	1	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	2
Lévofoxacine	1	1	-
Norfloxacine	-	-	1
Ofloxacine	-	-	1

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/6697 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	2	-	-
Erythromycine	-	-	4
Tétracycline	1	-	-
Doxycycline	2	-	-
Minocycline	-	1	-
Céphalosporines			
Céfotaxime	2	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	1
Lévofoxacine	2	-	-
Moxifloxacine	1	-	-

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. Toutefois quelques laboratoires ont changé ce résultat brut, sur base ou non de règles d'expertise:

- l'érythromycine:
 - o I/R->R
 - Vitek 2 : 2 labos
 - Vitek 2 compact : 1 labo
- la tétracycline:
 - o S->I
 - Rosco : 1 labo
 - o I->R
 - Vitek 2 : 6 labos
 - Vitek 2 compact : 1 labo
 - Rosco : 1 labo
- la ciprofloxacine:
 - o I->R
 - Rosco : 1 labo
- la lévofloxacine:
 - o S->I
 - E test : 1 labo
 - ATB : 1 labo (il s'agit du laboratoire ayant changé un résultat S en I pour la lévofloxacine, basé sur les résultats des disques pour la norfloxacine)
 - o S->R
 - Rosco : 1 labo
- l'ofloxacine:
 - o I->R
 - Osiris : 1 labo

4.2. Culture M/6785 (*S. pneumoniae*)

Nombre de participants = 187

Tous les laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques. Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs quinolones et/ou céphalosporines. Un laboratoire n'a pas fourni de résultats pour les céphalosporines de la 3^e génération: il a mentionné que les tests de diffusion ne sont pas conseillés pour cette détermination (et le labo ne dispose pas des tests pour déterminer la CMI de ces 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 le plus résistant.

Cinq laboratoires n'ont pas déterminé une antibiogramme pour l'échantillon M/6785: il s'agit des 3 laboratoires ayant répondu « Pas de pathogènes » et le laboratoire qui soustraite de tels échantillons, mais également d'un laboratoire ayant répondu « *S. pneumoniae* ».

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R
Pénicilline ¹	S	184	184	-	-
Amoxicilline ²	S	135	135	-	-
Ampicilline ³	S	12	12	-	-
Erythromycine	S	180	177	-	3
Clarithromycine ⁴	S	4	4	-	-
Céphalosporines 3 ^e génération					
Céfotaxime ⁵	S	37	37	-	-
Ceftazidime ⁵	S	13	13	-	-
Ceftizoxime	S	5	5	-	-
Ceftriaxone ⁵	S	54	54	-	-
Céfépime	S	1	1	-	-
Cefsulodine	S	1	-	-	1
«Céphalosporine» ⁶	S	4	4	-	-
Quinolones					
Ciprofloxacine	R	29	1	-	28
Lévofloxacine	R	56	3	-	53
Moxifloxacine	R	59	2	2	55
Norfloxacine	R	6	-	-	6
Ofloxacine	R	33	-	-	33
Gatifloxacine	R	1	-	-	1
Sparfloxacine	R	1	-	-	1
Acide oxolinique	R	1	-	-	1
«Quinolone» ⁷	R	4	-	-	4

¹ Un grand nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide d'un disque d'oxacilline.

² Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amoxicilline à l'aide d'un disque d'oxacilline.

³ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'ampicilline au lieu de l'amoxicilline.

⁴ Un certain nombre de laboratoires ont testé la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.

⁵ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à une de ces céphalosporines à l'aide d'un disque d'oxacilline

⁶ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine utilisée.

⁷ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

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/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline ¹	8 (15)	10	34.2	25 - 42	15	-	-
Oxacilline/Pénicilline ²	19 (22)	1	25	20 - 35	22	-	-
Amoxicilline ³	4 (9)	25	31	29 - 43	9	-	-
Ampicilline	4 (5)	10	35.2	22 - 45	5	-	-
Erythromycine	30 (35)	15	27	22 - 34	35	-	-
Clarithromycine	3 (3)	15	28	26 - 29	3	-	-
Céphalosporines							
Céfotaxime ⁴	9 (11)	30	38	29 - 50	11	-	-
Ceftazidime ⁵	1 (1)	30	30	30 - 30	1	-	-
Ceftizoxime	- (1)	-	-	-	1	-	-
Ceftriaxone ⁶	6 (6)	30	34.5	30 - 40	6	-	-
Céfépime	- (1)	-	-	-	1	-	-
Cefsulodine	1 (1)	30	14	14 - 14	-	-	1
Quinolones							
Ciprofloxacin ⁷	5 (7)	5	6	6 - 31	1	-	6
Lévofoxacin	4 (5)	5	6	6 - 6	-	-	5
Moxifloxacin	9 (11)	5	8	6 - 10.4	1	-	10
Norfloxacin	1 (2)	5	6	6 - 6	-	-	2
Ofloxacin	8 (10)	5	6	6 - 7	-	-	10
«Quinolone»	1 (1)	5	7	7 - 7	-	-	1

¹ Un certain nombre de laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline pour mesurer la sensibilité à la pénicilline. Trois de ces laboratoires ont également pris en compte le résultat des disques d'oxacilline pour évaluer la sensibilité à la pénicilline.

² La majorité des laboratoires ayant déterminé la sensibilité à la pénicilline avec des disques en papier l'ont effectué à l'aide des disques d'oxacilline. Dans la ligne « oxacilline/pénicilline » les diamètres représentent les diamètres mesurés autour des disques d'oxacilline; les résultats représentent les résultats finaux ayant été répondus pour la pénicilline. Les diamètres obtenus par les 3 laboratoires mentionnés ci-dessus (qui ont utilisé des disques de pénicilline et d'oxacilline) ont également été pris en compte.

³ En outre 16 laboratoires ont répondu l'amoxicilline comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

⁴ En outre un laboratoire a répondu la céfotaxime comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

⁵ En outre 2 laboratoires ont répondu la ceftazidime comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

⁶ En outre 4 laboratoires ont répondu la ceftriaxone comme sensible, basé sur le résultat du disque d'oxacilline.

⁷ En outre un laboratoire a répondu un diamètre <6.

Tableau 4.2.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline ¹	28 (39)	5	35.5	29 - 50	39	-	-
Oxacilline/Pénicilline ²	33 (36)	1	26	20 - 41	36	-	-
Amoxicilline ³	27 (37)	30	39	30 - 50	37	-	-
Ampicilline	5 (5)	33	39	28 - 47	5	-	-
Erythromycine ⁴	59 (72)	78	32	28 - 40	72	-	-
Clarithromycine	1 (1)	30	30	30 - 30	1	-	-
Céphalosporines							
Céfotaxime ⁵	18 (24)	30	38.5	28 - 50	24	-	-
Ceftazidime ⁶	8 (10)	30	32.5	30 - 36	10	-	-
Ceftizoxime	4 (4)	30	36	32 - 45	4	-	-
Ceftriaxone	10 (11)	30	36	30 - 42	11	-	-
«Céphalosporine»	1 (1)	30	39	39 - 39	1	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacin	12 (17)	10	10	9 - 14	-	-	17
Lévofoxacin	15 (16)	5	9	9 - 20	2	-	14
Moxifloxacin	14 (20)	5	9	6 - 11	-	-	20
Norfloxacin	4 (4)	10	9.5	9 - 10	-	-	4
Ofloxacin ⁷	13 (16)	10	10	9 - 10	-	-	16
Acide oxolinique	1 (1)	10	10	10 - 10	-	-	1
«Quinolone»	2 (2)	5	9.5	9 - 10	-	-	2

- ¹ Un certain nombre de laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline de Rosco pour mesurer la sensibilité à la pénicilline. Neuf de ces laboratoires ont également pris en compte le résultat des disques d'oxacilline pour évaluer la sensibilité à la pénicilline.
- ² La majorité des laboratoires ayant déterminé la sensibilité à la pénicilline avec des disques Rosco l'ont effectué à l'aide des disques d'oxacilline. Dans la ligne « oxacilline/pénicilline » les diamètres représentent les diamètres mesurés autour des disques d'oxacilline; les résultats représentent les résultats finaux ayant été répondus pour la pénicilline. Les diamètres obtenus par les 9 laboratoires mentionnés ci-dessus (qui ont utilisé des disques de pénicilline et d'oxacilline) ont également été pris en compte. En plus 2 laboratoires ont répondu un diamètre >20.
- ³ En outre 2 laboratoires ont répondu un diamètre >30.
- ⁴ En outre 2 laboratoires ont répondu un diamètre >30.
- ⁵ En outre un laboratoire a répondu un diamètre >30.
- ⁶ En outre un laboratoire a répondu un diamètre >30.
- ⁷ En outre un laboratoire a répondu un diamètre <9.

Les résultats obtenus avec le E test sont repris dans le tableau 4.2.4.

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec le E test pour l'échantillon M/6785 (*S. pneumoniae*).

	Nombre de résultats	*	CMI (mg/l)											Résultat		
			> 0,016	0,016	0,032	0,064	0,128	0,256	1	4	8	16	S	I	R	
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				>
			0,032	0,064	0,128	0,256	1	4	8	16	32	32				
Pénicilline ¹	48	3	8	26	10								48	-	-	
Amoxicilline	9	1	3	4				1					9	-	-	
Erythromycine	4	1			1	1	1						4	-	-	
Céphalosporines																
Céfotaxime	17		4	11	1	1							17	-	-	
Ceftriaxone	17	3	1	9	4								17	-	-	
«Céphalosporine»	1			1									1	-	-	
Quinolones																
Ciprofloxacin	1											1	-	-	1	
Lévofoxacin	2											2	-	-	2	
Moxifloxacin	2												2	-	2	
Ofloxacin	1											1	-	-	1	

* Valeur CMI non mentionnée.

¹ Un laboratoire a répondu la valeur de la CMI < 0.06 mg/l.

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/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	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'utilisateurs)		
	S	I	R			S	I	R				
Pénicilline	34	-	-	≤ 0.06	33 (34)	8	-	-	≤ 0.06	7 (8)		
Amoxicilline	36	-	-	≤ 0.06	33 (36)	7	-	-	≤ 0.06	6 (7)		
Erythromycine	37	-	2	≤ 0.06	35 (37)	8	-	-	≤ 0.06	6 (8)		
Céphalosporines												
Céfotaxime	20	-	-	≤ 0.06	18 (20)	3	-	-	≤ 0.06	3 (3)		
Ceftriaxone	16	-	-	≤ 0.06	16 (16)	3	-	-	≤ 0.06	3 (3)		
«Céphalosporine»	2	-	-	≤ 0.06	2 (2)	-	-	-	-	-		
Quinolones												
Lévofoxacin	-	-	12	≥ 8	12 (12)	-	-	3	≥ 8	2 (3)		
Moxifloxacin	1	2	19	≥ 4	16 (22)	-	-	5	≥ 4	5 (5)		
Ofloxacin	-	-	8	≥ 8	7 (7)	-	-	-	-	-		
Gatifloxacin	-	-	1	4	1 (1)	-	-	-	-	-		
Sparfloxacin	-	-	1	≥ 4	1 (1)	-	-	-	-	-		
«Quinolone»	-	-	1	≥ 8	1 (1)	-	-	-	-	-		

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 l'érythromycine, un laboratoire a mentionné une dilution ≥ 1 mg/l et un autre une dilution ≥ 8 mg/l pour Vitek 2; pour Vitek 2 compact, 1 laboratoire a mentionné une dilution de 0.25 mg/l
- pour la céfotaxime, un laboratoire a retrouvé une dilution de 0.25 mg/l pour Vitek 2
- pour la moxifloxacin 2 laboratoires ont mentionné une dilution de 2 mg/l, un laboratoire une dilution de 4 et un troisième une dilution ≤ 0.25 mg/l pour Vitek 2

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/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	17	-	-
Amoxicilline	15	-	-
Ampicilline	1	-	-
Erythromycine	17	-	-
Céphalosporines			
Céfotaxime	15	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	1
Lévofloxacine	-	-	15

Les résultats obtenus avec les appareils Phoenix, Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.2.7. 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 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	4	-	-
Amoxicilline	4	-	-
Erythromycine	4	-	-
Céphalosporines			
Céfotaxime	3	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Lévofloxacine	-	-	1
Moxifloxacine	-	-	3

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	2	-	-
Amoxicilline	1	-	-
Ampicilline	2	-	-
Erythromycine	4	-	1
Céphalosporines			
Céfotaxime	1	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	3
Lévofloxacine	-	-	2
Norfloxacine	-	-	1
Ofloxacine	-	-	1

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/6785 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	2	-	-
Amoxicilline	2	-	-
Erythromycine	4	-	-
Céphalosporines			
Céfotaxime	2	-	-
Ceftriaxone	1	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	1
Lévofloxacine	-	-	2
Moxifloxacine	-	-	1

Il reste à mentionner que :

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

Aucun laboratoire n'a changé un résultat brut pour répondre le résultat final.

V. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles formolées ont été envoyés.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/5499 :

« Un homme de 54 ans a de vagues plaintes abdominales quelques semaines après son retour d'un voyage en Amérique du Sud. »

P/6393 :

« Une femme de 21 ans a de vagues plaintes abdominales quelques semaines après son retour d'un voyage en Amérique du Sud. »

L'échantillon P/5499 contenait des oeufs d'*Ascaris lumbricoides*.

L'échantillon P/6393 contenait des oeufs de *Taenia species*, kystes de *Blastocystis hominis*, kystes d'*Entamoeba hartmanni*.

185 laboratoires ont renvoyé leurs réponses.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 38%. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre 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,...

5.2. Les résultats

5.2.1 L'échantillon P/5499

Les 185 laboratoires ont fourni 199 réponses. 23 laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 149 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 12 ont répondu la présence de 2 parasites et 1 laboratoire a répondu la présence de 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1.1. Résultats pour l'échantillon P/5499

Résultat	Nombre
<i>Ascaris lumbricoides</i>	152
Absence de parasites	23
<i>Blastocystis hominis</i>	6
<i>Endolimax nana</i>	3
<i>Chilomastix mesnili</i>	2
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Fasciola hepatica</i>	2
<i>Capillaria hepatica</i>	1
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1
<i>Paragonimus westermani</i>	1
<i>Taenia saginata</i>	1
<i>Taenia species</i>	1
Total	199

Les deux laboratoires ayant répondu *Taenia saginata* ou *Taenia species*, ont probablement inversé les 2 échantillons.

Nous avons réexaminé les échantillons des laboratoires ayant répondu "Absence de parasites" dont il y avait encore assez d'échantillon disponible pour effectuer une analyse. Cet examen a montré que ces échantillons contenaient des œufs d'*Ascaris*, mais qu'ils étaient souvent atypiques. Dans le commentaire nous publions quelques photos pour éclaircissement.

Les stades dévolutions répondus par les laboratoires pour *Ascaris lumbricoides* sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.1.2. Stades d'évolution d'*Ascaris lumbricoides* pour l'échantillon P/5499

Stade d'évolution	Nombre de laboratoire
Oeuf	145
Oeuf atypique	6
Embryophore	1
Total	152

11 laboratoires ont mentionné qu'il s'agissait d'oeuf(s) non fécondé(s); 1 laboratoire a mentionné qu'il s'agissait d'un oeuf fécondé.

5.2.2 L'échantillon P/6393

Les 185 laboratoires ont fourni 369 réponses. 53 ont répondu la présence d'un parasite, 82 ont répondu la présence de 2 parasites, 48 ont répondu la présence de 3 parasites et 2 ont répondu la présence de 4 parasites. Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.2.1. Réponses pour l'échantillon P/6393

Parasite	Nombre
<i>Taenia species</i>	153
<i>Taenia saginata</i>	22
<i>Blastocystis hominis</i>	51
<i>Entamoeba hartmanni</i>	75
<i>Entamoeba histolytica</i>	16
<i>Entamoeba coli</i>	4
<i>Entamoeba species</i>	3
<i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	21
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	10
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4
<i>Cryptosporidium parvum</i>	4
<i>Enteromonas hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia, G.intestinalis</i>	1
<i>Trichinella spiralis</i>	1
Kyste d'un parasite non identifiable	1
Total	369

Deux des laboratoires ayant répondu *Ascaris lumbricoides*, ont probablement inversé les deux échantillons.

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

Tableau 5.2.2.2. Combinaisons de 2 parasites répondus pour l'échantillon P/6393

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	37
<i>Taenia species</i> + <i>Endolimax nana</i>	12
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	8
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	5
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba coli</i>	2
<i>Taenia species</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Taenia species</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	4
<i>Taenia saginata</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Endolimax nana</i> + <i>Trichinella spiralis</i>	1
Total	82

Tableau 5.2.2.3. Combinaisons de 3 parasites répondus pour l'échantillon P/6393

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	21
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>G. lamblia</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba species</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i>	3
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Taenia species</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + Parasite non identifiable	1
<i>Taenia species</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Taenia saginata</i> + <i>Entamoeba polecki</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
Total	48

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Taenia species*, *B. hominis* et *E. hartmanni* sont repris dans les tableaux suivants. Les 22 laboratoires ayant donné la réponse *T. saginata*, ont tous répondu comme stade d'évolution « oeuf ». Les 16 laboratoires ayant répondu *E. histolytica* et les 3 ayant répondu *Entamoeba species*, ont tous répondu comme stade d'évolution « kyste ».

Tableau 5.2.2.4. Stades d'évolution de *Taenia species* pour l'échantillon P/6393

Stade d'évolution	Nombre de laboratoire
Oeuf	148
Embryophore	4
Kyste	1
Total	153

Tableau 5.2.2.5. Stades d'évolution de *Blastocystis hominis* pour l'échantillon P/6393

Stade d'évolution	Nombre de laboratoire
Kyste	40
Non précisé	4
Oocyste	3
Forme végétative	2
Oeuf	1
Pseudocyste	1
Total	51

Tableau 5.2.2.6. Stades d'évolution de *entamoeba hartmanni* pour l'échantillon P/6393

Stade d'évolution	Nombre de laboratoire
Kyste	72
Oocyste	1
Trofozoïte	1
Oeuf	1
Total	75

5.3. Commentaire sur les résultats de l'enquête 2006/2 parasitologie

L'échantillon P/5499 contenait des oeufs non-fécondés d'*Ascaris lumbricoides*. Ces oeufs non fécondés sont plus longs et plus étroits (85-95 sur 43-47 μm) (figure 1 et 2) que les oeufs fécondés typiques (55-75 sur 35-50 μm). L'intérieur est rempli de granulations grossières (cellules vitellines) (3). En cas d'ingestion, ces oeufs non-fécondés ne sont pas contagieux (2). Tous les oeufs d'*A. lumbricoides* ont un aspect typique, ovale, brun (à cause de la présence de sels biliaires), entouré d'une coque mamelonnée et irrégulière et, s'ils sont fécondés, contiennent un zygote. En micrométrant l'on peut visualiser l'œuf par le haut et observer la coque irrégulière. Si on ne retrouve que des oeufs non-fécondés, on peut estimer qu'il s'agit principalement ou uniquement de vers femelles. Dans la plupart des cas l'inconfort dû à l'infestation parasitaire sera donc relativement limité. Ceci ne signifie cependant pas que l'infection est moins sévère (les vers *Ascaris* femelles sont d'ailleurs plus grands que les vers mâles). On estime que chaque oeuf retrouvé dans une préparation standard (environ 2 mg de selles; à savoir le contenu d'une préparation standard d'une lamelle de 22 x 22 mm) correspond à la présence d'un ver *Ascaris* adulte. Il est possible que les oeufs ne soient pas retrouvés s'il n'y a que des vers mâles (3). En cas de fièvre, ainsi que dans d'autres circonstances, les vers peuvent sortir du corps (par la bouche, le nez ou l'anus). Ceci serait davantage le cas avec les vers mâles; il n'est donc pas rare chez les enfants de ne retrouver que des vers femelles après un épisode de fièvre (1).

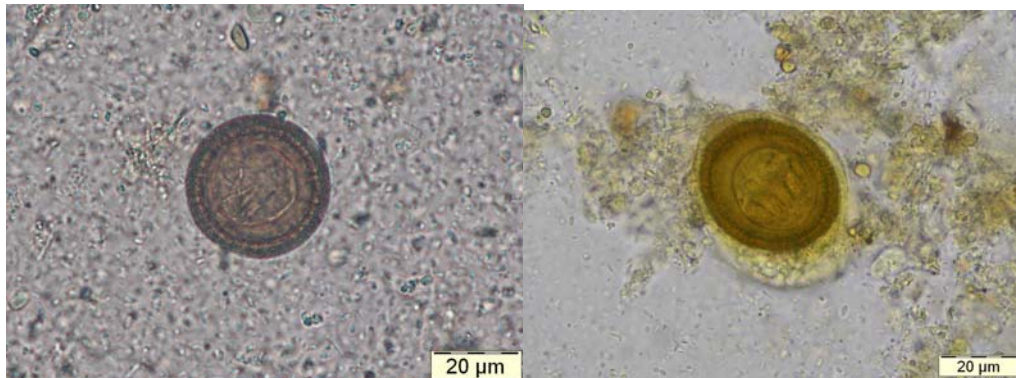
La prépatence d'*Ascaris* (période parasitaire allant de la migration à travers les tissus jusqu'au moment où les oeufs sont retrouvés dans les selles) est de 2 à 3 mois (2, 3). On estime que la durée de vie d'un ver *Ascaris* adulte dans l'intestin est de 1 à 2 ans (1, 2, 3). Pour une série complète d'illustrations nous renvoyons au rapport 2004/1 (disponible sur le site web à la page

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm).



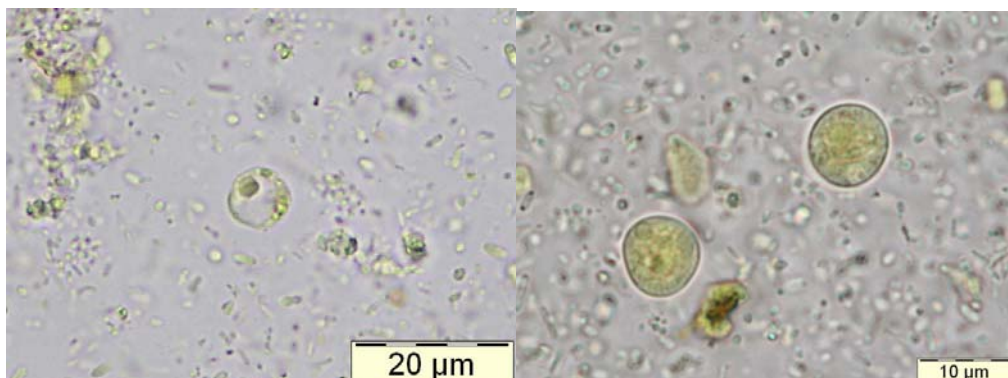
Figures 1 et 2: oeufs non-fécondés d'*Ascaris lumbricoides* dans l'échantillon P/5499.

L'échantillon **P/6393** contenait des oeufs de *Taenia* sp. Ils n'étaient plus aussi beaux que dans un échantillon frais mais pouvaient néanmoins être reconnus clairement. Un micrométrage précis permet de visualiser la larve hexacante (figure 3 et 4). Ces oeufs sont ronds avec un diamètre d'environ 31-43 μm , ils contiennent une larve avec 6 crochets (la larve hexacante ou oncosphère) et ils sont entourés d'une capsule épaisse, brune avec des stries radiales (3). Pour une description plus ample nous renvoyons au rapport 2004/2 (disponible sur le site web à la page http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm). Dans les selles on retrouve rarement les oeufs de *Taenia saginata* mais plus souvent les proglottis, qui quittent l'intestin un à un même entre les défécations (1, 3). Ils restent actifs pendant une courte période après l'émission et peuvent être retrouvés sur le linge (3). Un proglottis contient environ 100000 oeufs (3).



Figures 3 et 4: oeufs de *Taenia* sp. dans l'échantillon P/6393.

On pouvait retrouver également des kystes de *Blastocystis hominis* (figure 5) et d'*Entamoeba hartmanni* (figure 6) dans l'échantillon P/6393. Les kystes d'*E. hartmanni* pouvaient être identifiés sur base de leur taille (jusqu'à 10 μm). La structure du noyau n'était néanmoins pas clairement visible. Les PCR pour *Entamoeba histolytica*, et pour *Entamoeba dispar*, effectuées à l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers étaient négatives. Pour une description détaillée des protozoaires nous renvoyons aux rapports 2005/3 et 2006/1 (disponible sur le site web à la page http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm).



Figures 5 et 6: *Blastocystis hominis* et *Entamoeba hartmanni* dans l'échantillon P/6393.

M. Lontie, MCH, Leuven, M. Van Esbroeck, ITG et K. Vernelen, ISP, Bruxelles

REFERENCES

1. Beaver P., Jung R., Cupp E. 1984. *Clinical Parasitology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
2. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Ascariasis.htm>
3. Vandepitte J. 1988. *Helminthologie Médicale*, Acco SV, Leuven

VI. SEROLOGIE

6.1 Description des échantillons

Deux échantillons ont été envoyés : un échantillon lyophilisé (S/4661) et un échantillon «prêt-à-l'emploi»(S/4670).

Les tests de l'hépatite B (HBV) et de l'hépatite C (HCV) devaient être effectués sur les deux échantillons.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :
« Patients souffrant de jaunisse »

S/4661:

HBsAg: positif

HBsAc: négatif

HBcAc: positif

HBeAg: négatif

HBeAc: positif

Interprétation:

Infection par le HBV

HCV: négatif

S/4670:

HBsAg: négatif

HBsAc: négatif

HBcAc: négatif

HBeAg: négatif

HBeAc: négatif

Interprétation:

Sérologie négative

HCV: positif

6.2 HBV

6.2.1. Les participants

188 Laboratoires ont renvoyé leur formulaire.

Echantillon S/4661 807 tests effectués	S/4670 762 tests effectués
- HBs Ag: 190 tests	- HBs Ag: 190 tests
- anti-HBs Ac: 186 tests	- anti-HBs Ac: 187 tests
- anti-HBc Ac: 181 tests	- anti-HBc Ac: 181 tests
- HBe Ag: 115 tests	- HBe Ag: 97 tests
- anti-HBe Ac: 111 tests	- anti-HBe Ac: 93 tests
- HBs Ag confirmation: 15 tests	- HBs Ag confirmation: 8 tests
- IgM anti-HBc: 9 tests	- IgM anti-HBc: 6 tests

Les combinaisons de tests réalisés sont représentées dans les tableaux suivants.

Tableau 6.2.1. Combinaison de 2 paramètres pour la sérologie HBV.

Paramètres effectués	Nombre de laboratoires	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + Ac HBs	3	3
Ag HBs + Ac HBc	1	1
Total	4	4

Tableau 6.2.2. Combinaison de 3 paramètres de la sérologie HBV.

Paramètres effectués	Nombre de laboratoires	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc	55	74
Ag HBs + Ac HBs + IgM HBc	1	2
Ag HBs + Ac HBs + Ag HBe	1	1
Total	57	76

Tableau 6.2.3. Combinaison de 4 paramètres pour la sérologie HBV.

Paramètres effectués	Nombre de laboratoires	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe	7	6
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ac HBe	4	3
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBs confirmation	5	5
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + HBc IgM	1	1
Ag HBs + Ac HBs + HBc IgM + Ag HBs confirmation	1	-
2 x Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc	2	2
Total	20	17

Tableau 6.2.4. Combinaison de 5 paramètres pour la sérologie HBV.

Paramètres effectués	Nombre de laboratoires	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	93	85
Ag HBs + Ac HBs + HBc IgM + Ag HBe + Ac HBe	2	2
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ag HBs confirmation	-	1
Total	95	88

Tableau 6.2.5. Combinaison de 6 paramètres pour la sérologie HBV.

Paramètres effectués	Nombre de laboratoires	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + Ag HBs confirmation	8	2
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + IgM HBc	3	1
Total	11	3

Tableau 6.2.6. Combinaison de 7 paramètres pour la sérologie HBV.

Paramètres effectués	Nombre de laboratoires	
	S/4661	S/4670
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + IgM HBc + Ag HBs confirmation	1	-
Total	1	-

Quelques faits remarquables qui suivent des données précédentes:

- tous les laboratoires ont déterminé l'Ag HBs, 2 l'ont fait avec 2 méthodes
- 187 laboratoires ont déterminé les Ac HBs sur l'échantillon S/4670 et 186 sur l'échantillon S/4661 (le laboratoire qui n'a seulement sur l'échantillon S/4661 pas déterminé les Ac HBs la expliqué par cause de manque d'échantillon)
- 4 laboratoires ont déterminé les Hbc IgM sans détermination des Ac HBc totaux

6.2.2. Réactifs utilisés

Les tableaux 6.2.7 à 6.2.13 illustrent le nombre d'utilisateurs des différentes trousse pour les différents paramètres. Tous les laboratoires n'ont pas analysé tous les paramètres. Certains ont analysé un paramètre avec plusieurs réactifs.

Tableau 6.2.7. Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBs

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HBsAg	56	56
	Architect HBsAg	25	24
	Prism HBsAg	2	2
Bayer	Centaur HBsAg	11	11
Beckman (distributeur Analis)	Access HBsAg	27	27
bioMérieux	VIDAS HBs Ag	17	18
Dade Behring	Enzygnost HBsAg 5.0	1	1
Diasorin	LIAISON HBsAg	11	11
	ETI-MAK-4 (HBsAg)	4	4
DPC	Immulate HBs Ag	8	8
Ortho Diagnostics	Vitros ECi HBsAg	15	15
Roche	Modular HBsAg	7	7
	Elecsys HBsAg	6	6
Total		190	190

Tableau 6.2.8. Réactifs utilisés pour la confirmation de l'antigène HBs

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HBsAg confirmatory	4	4
	Architect HBsAg confirmatory	2	-
Beckman (distributeur Analis)	Access HBsAg confirmatory	2	2
bioMérieux	VIDAS HBs Ag confirmatory	2	-
DPC	Immulate HBs Ag confirmatory	1	-
Ortho Diagnostics	Vitros ECi HBsAg confirmatory	4	2
Total		15	8

Tableau 6.2.9. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBs

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM AUSAB	55	55
	Architect AUSAB	23	23
	IMX AUSAB	1	1
Bayer	Centaur anti-HBs	12	12
Beckman (distributeur Analis)	Access HBsAb	19	19
bioMérieux	VIDAS anti-HBs Total	20	21
Diasorin	LIAISON anti-HBs	12	12
	ETI-AB-AUK-3 (anti-HBs)	3	3
	AB-AUK-3 (anti-HBs)	1	1
DPC	Immulite anti-HBs	10	10
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBs	16	16
Roche	Modular anti-HBs	8	8
	Elecsys anti-HBs	6	6
Total		186	187

Tableau 6.2.10. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps totaux anti-HBc

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM CORE	58	58
	Architect CORE	22	22
Bayer	Centaur HBc Total	12	12
Beckman (distributeur Analis)	Access HBcAb	25	25
bioMérieux	VIDAS anti-HBc Total II	19	19
Dade Behring	Enzygnost anti-HBc Monoclonal	1	1
Diasorin	LIAISON anti-HBc	13	13
	ETI-AB-COREK-2 (anti-HBc)	2	2
	ETI-AB-COREK PLUS	1	1
DPC	Immulite anti-HBc	6	6
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBc	10	10
Roche	Modular anti-HBc	7	7
	Elecsys anti-HBc	5	5
Total		181	181

Tableau 6.2.11. Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-HBc

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM CORE-M	3	2
bioMérieux	VIDAS HBc IgM II	2	2
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBc IgM	2	2
Non précisé	Non précisé	2	-
Total		11	6

Tableau 6.2.12. Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBe

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HBe 2.0	26	25
	Architect HBeAg	11	9
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	57	43
Diasorin	LIAISON HBeAg	11	10
	ETI-EBK (HBeAg/anti-HBe)	4	4
Ortho Diagnostics	Vitros ECi HBeAg	2	2
Roche	Modular HBeAg	4	4
Total		115	97

Tableau 6.2.13. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBe

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM anti-HBe 2.0	30	25
	Architect anti-HBe	11	11
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	49	37
Diasorin	LIAISON anti-HBe	11	10
	ETI-EBK (HBeAg/anti-HBe)	3	3
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBe	3	3
Roche	Modular anti-HBe	4	4
Total		111	93

6.2.3. Résultats

6.2.3.1 Echantillon S/4661

Les résultats pour les différents paramètres sont présentés dans le tableau 6.2.14.

Tableau 6.2.14. Résultats pour l'échantillon S/4661

	HBs Ag ¹	HBs Ag conf	HBs Ac	HBc tot Ac	HBc IgM	HBe Ag	HBe Ac
Positif	187	15	1	179	-	-	111
Négatif	-	-	184	2	8	115	-
Pas de réponse	1	-	1	-	1	-	-
Total	188	15	186	181	9	115	111

¹ Les laboratoires qui ont déterminé l'Ag HBs avec 2 techniques, ont obtenu 2 résultats positifs.

Pour les trousse les plus utilisées nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand un résultat quantitatif était mentionné) (tableaux 6.2.15. à 6.2.17).

Pour les autres trousse, le nombre d'utilisateurs ou de résultats quantitatifs étaient insuffisants pour effectuer des analyses statistiques adéquates.

Tableau 6.2.15. Médiane, minimum et maximum pour l'Ag HBs (échantillon S/4661)

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum
AxSYM HbsAg (index s/co)	55	378,54	161,6	527,8
Acces HbsAg (index s/co) ¹	23	652	541,25	893
VIDAS HBs Ag (index)	11	15,6	7,83	21,93
Vitros ECI HBsAg (index)	14	6055	5190	6700

¹ En outre un laboratoire a répondu 133,95.

Il reste à mentionner que 21 laboratoires ont répondu un résultat > 250 iu/ml pour l'Architect HBsAg, 10 laboratoires ont répondu un résultat > 1000 (index) pour le Centaur HBsAg et 11 laboratoires ont répondu un résultat > 240 (index) pour le Liaison HBsAg.

Tableau 6.2.16. Médiane, minimum et maximum pour les Ac totaux anti-HBc (échantillon S/4661)

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum
Architect CORE (index s/co)	18	11,17	6	28,27
AxSYM CORE (index s/co) ¹	63	0,062	0,03	0,137
Acces HbcAb (index s/co) ²	21	141,75	101,28	166
Vitros ECI HBsAg (index)	7	0,01	0,01	0,03

¹ En outre quelques laboratoires ont fourni des réponses dans d'autres unités. Le laboratoire ayant fourni la réponse négative, a répondu un index de 0.36.

² En outre un laboratoire a répondu 683.54.

Il reste à mentionner que 11 laboratoires ont répondu un résultat > 8 (index) pour le Centaur HBc Total, 15 laboratoires ont répondu un résultat 0 (index) pour le VIDAS anti-HBc Total II (autres réponses pour cette trousse étaient -1 et 1.75) et 13 laboratoires ont répondu un résultat < 0.10 (index) pour le Liaison anti-HBc.

Tableau 6.2.17. Médiane, minimum et maximum pour les Ac anti-HBe (échantillon S/4661)

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum
Architect Anti-HBe	10	0,01	0,008	0,02
AxSYM anti-HBe 2.0 (index s/co)	28	0,076	0,045	0,164

Il reste à mentionner que 27 laboratoires ont répondu un résultat 0 (index), 14 une réponse 0.01, 1 une réponse 0.02, 2 une réponse 0.03 et 1 une réponse 0.04 pour le VIDAS HBe/anti-HBe ; pour le Liaison anti-HBe 10 laboratoires ont répondu un résultat < 0.1 (index) et un laboratoire 0.1.

Les interprétations proposées sont présentées dans le tableau 6.2.18.

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation «Infection par le virus HBV» (code 02); un laboratoire a choisi « Immunité vaccinale pour le virus de l'hépatite B » (code 03) et deux ont choisi «Immunité par infection naturelle par le virus HBV» (code 04) ; un laboratoire a proposé « Immunité ou infection chronique »; d'autres ont fourni leurs propres interprétations (dans le plupart des cas il s'agit d'infection chronique ou portage).

Tableau 6.2.18. Interprétations pour l'échantillon S/4661

Interprétation	Nombre de laboratoires
Infection par le virus HBV	169
Infection par le virus HBV sous réserve; trop peu d'échantillon pour confirmation	1
Immunité par infection naturelle par le virus HBV	2
Immunité vaccinale pour le virus de l'hépatite B	1
Infection chronique par le virus HBV (porteur sans anticorps) ou Immunité par infection naturelle par le virus HBV	1
Infection chronique par le virus HBV	2
Infection chronique par le virus HBV de bon pronostic	1
Infection chronique par le virus HBV (ou hépatite B récente: voir anti Hbc IgM)	1
Infection chronique par le virus HBV (porteur)	1
Porteur chronique qui ne produit pas d'Ac anti-HBs ou infection très précoce	1
Portage	2
Portage ou infection par le virus HBV	2
Portage ou infection aiguë par le virus HBV	1
1) possible porteur chronique ou 2) possibilité de test HBs Ag faux positif chez un patient immune: HBV PCR, transaminases et consulter un hépatologue	1
Pas d'interprétation possible vu que la sérologie est incomplète ¹	2
Total	188

¹ Il s'agit d'un laboratoire qui a déterminé les Ag HBs, Ac HBs et Ac Hbc et un laboratoire qui a déterminé les Ag HBs et Ac Hbc.

En cas d'interprétation «Infection par le virus HBV», les remarques et les tests complémentaires suivants ont été suggérés :

Tableau 6.2.19. Remarques proposées pour l'échantillon S/4661 par les laboratoires ayant répondu «Infection par le virus HBV»

Remarques	Nombre de laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	80
Tests complémentaires	52
Un nouveau prélèvement après 3 semaines	18
Tests complémentaires + Un nouveau sérum après 3 semaines	2
Un nouveau sérum après 3 semaines et Une confirmation n'est pas nécessaire ¹	1
Soit fenêtre: à contrôler dans 3 mois; soit porteur chronique: si transaminases normales : «sain» (pas de réplicants), si transaminases perturbés: ADN HBV (mutant précocore)	1
Suivi dans le temps pour objectiver ou pas la chronicité; si tel est le cas, PCR pour exclure mutant précocore	1
Total	155

¹ Répondu en tant que tel.

Tableau 6.2.20. Tests complémentaires proposés par les laboratoires, ayant répondu pour l'échantillon S/4661 «Infection par le virus HBV».

Tests complémentaires	Nombre de laboratoire
PCR HBV /ADN virale	11
ADN virale et transaminases	1
ADN virale et échantillon de contrôle	1
ADN virale sur échantillon de contrôle	1
HBc IgM	3
HBc IgM et HBV PCR HBV /ADN virale	4
HBc IgM et Ag HBs confirmation	3
HBc IgM et HBV PCR HBV /ADN virale et Ag HBs confirmation	1
Ag HBs confirmation	6
Ag HBs confirmation et ADN virale	1
Ag HBe et Ac HBe	6
Ag HBe et Ac HBe et HBc IgM	2
Ag HBe et Ac HBe et HBc IgM et PCR HBV	1
Ag HBe et Ac HBe et Ag HBs confirmation	1
Ag HBe et Ac HBe et échantillon de contrôle	1
Ag HBe	2
Ag HBe et Ag HBs confirmation	1
Ag HBe et Ac HBc	1
Ag HBe et Ac HBc et ADN virale	1
Ag HBe et PCR HBV	2
Ag HBe et échantillon de contrôle	1
ELISA test firme Behring	1
Dans 3 mois répéter les 5 tests (Ag HBs, Ac HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe)	1
Non précisé	1
Total	54

6.2.3.1 Echantillon S/4670

Les résultats pour les différents paramètres sont présentés dans le tableau 6.2.21.

Tableau 6.2.21. Résultats pour l'échantillon S/4670

	HBs Ag ¹	HBs Ag conf	HBs Ac	HBc tot Ac	HBc IgM	HBe Ag	HBe Ac
Positif	46	-	-	4	-	-	-
Positif/Borderline ¹	1	-	-	-	-	-	-
Positif/Négatif ¹	1	-	-	-	-	-	-
Borderline	10	-	-	1	-	-	-
Négatif	129	8	186	176	5	97	93
Pas de réponse	1	-	1	-	1	-	-
Total	188	8	187	181	6	97	93

¹ Il s'agit de laboratoires ayant effectué la détermination avec 2 trousse et ayant obtenu des résultats différents avec ces 2 trousse

Les résultats faux positifs ont été obtenus avec les trousse suivantes:

- Pour l'Ag HBs: 49 AxSYM HBsAg, 2 Liaison HBsAg, 1 Access HBsAg, 1 Modular HBsAg, 1 Centaur HBsAg, 1 VIDAS HBsAg, 1 Prism HBsAg, 1 Immulite HBs Ag, 1 Elecsys HBsAg en 1 ETI-MAK-4
- Pour les Ac HBc: 2 AxSYM CORE, 1 Modular anti-HBc, 1 ETI-AB-COREK-2 en 1 Centaur HBc Total

Les combinaisons des résultats faux positifs par laboratoire:

- 52 laboratoires: Ag HBs
- 5 laboratoires : Ag HBs + Ac HBc
- 1 laboratoire: 2 Ag HBs

La compagnie Abbott a été contactée pour examiner cet échantillon.

Leur examen a donné les résultats suivants:

- HBsAg
 - o Le résultat faux positif avec l'AxSYM HBsAg a été confirmé
 - o La confirmation avec l'AxSYM HBsAg Confirmatory doit être considérée comme négative
 - o Le mode d'emploi mentionne que les échantillons réactifs doivent être testés en double et qu'ils doivent être confirmés en cas de répétitivité de la réactivité; uniquement la positivité du test de confirmation permet de conclure qu'il s'agit d'un échantillon réactif; les échantillons dont le test de confirmation est négatif, doivent être considérés comme des échantillons provoquant des réactions aspécifiques

- HBcAc
 - o Le résultat faux positif avec l'AxSYM CORE n'a pas été confirmé
 - o Le mode d'emploi mentionne que les échantillons réactifs doivent être testés en doubles; si ces deux tests sont négatifs, l'échantillon doit être considéré comme négatif; si un des deux tests est positif, l'échantillon doit être considéré comme réactif; les résultats doivent toujours être corrélés aux symptômes et aux autres paramètres sérologiques; les réactions faux positives sont possibles avec chaque test diagnostique

Nous aimerions mettre l'accent sur le fait que tous les échantillons utilisés dans les enquêtes de sérologie infectieuse sont d'origine humaine; de cette façon la « commutabilité » entre les échantillons d'EEQ et les échantillons de routine est augmentée. Avec certaines trousse, une centrifugation supplémentaire peut donc être nécessaire en cas d'échantillons troubles (comme vous le faites avec les échantillons de routine).

En outre, vous pouvez toujours demander un deuxième échantillon au cours de l'enquête ou même après l'enquête, indépendamment de cette raison.

Les interprétations proposées sont présentées dans le tableau 6.2.22. La plupart des laboratoires ont choisi «Sérologie négative» (code 01). Un certain nombre des laboratoires ayant obtenu un résultat faux positif ou borderline ont choisi «Infection par le virus HBV» (code 02); certains d'entre eux ont déjà effectué le test de confirmation de l'Ag HBs et on pu conclure sur base de ces données à une sérologie négative. D'autres laboratoires ont fourni leurs propres interprétations dont certains ont mentionné explicitement (la possibilité de) fausse positivité.

La plupart des laboratoires ayant répondu «Infection par le virus HBV» ou une variante de cette proposition, ont conseillé d'effectuer des tests supplémentaires et/ou un nouveau prélèvement. Seuls 4 laboratoires ont estimé qu'une confirmation n'est pas nécessaire.

Tableau 6.2.22. Interprétations pour l'échantillon S/4670

Interprétation	Nombre de laboratoires
Sérologie négative	137
Infection par le virus HBV	23
Infection par le virus HBV ou Sérologie négative	1
Faux positif Ag HBs probable	3
Le faible résultat de l'Ag HBs doit être confirmé par un test de neutralisation	1
Confirmation nécessaire	7
Résultat douteux: confirmation nécessaire	4
Répétitivement réactif, impossible de le confirmer	1
Réaction faux positive; infection par le virus HCV	2
Etant donné que le patient souffre de jaunisse, il existe probablement une autre raison pour la jaunisse	1
Envoi au laboratoire de l'ISP	1
Possibilité de phase aiguë très précoce (exclure aussi un faux +)	1
Ag Australia isolement positif, faux positif ou fin de l'incubation aiguë précoce, analyse complémentaire PCR nécessaire	1
Infection par le virus HBV, confirmation nécessaire	1
Image atypique; infection par le virus HBV mais Ag ou Ac HBe devraient être positifs	1
Début d'infection	1
Quid infection récente avec seul Ag HBs +	1
Pas d'interprétation possible vu que la sérologie est incomplète ¹	1
Total	188

¹ Ce laboratoire n'a déterminé que les Ag HBs et Ac HBc.

En cas d'interprétation «Sérologie négative», les remarques suivantes ont été suggérées.

Les deux laboratoires ayant proposé des tests complémentaires, ont tous les 2 proposé d'effectuer un test de confirmation de l'Ag HBs (dont un a déjà effectué ce test).

Tableau 6.2.23. Remarques proposées pour l'échantillon S/4670 par les laboratoires ayant répondu «Sérologie négative»

Remarques	Nombre de laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	92
Un nouveau prélèvement après 3 semaines	7
Tests complémentaires	2
Total	101

6.3 HCV

6.3.1. Les participants

177 laboratoires ont renvoyé leurs réponses pour les deux échantillons.

Un laboratoire a déclaré de n'avoir pas assez d'échantillon pour effectuer ces tests.

Nous rappelons que si la quantité d'échantillon est insuffisante, un supplément peut-être demandé à IISP (quelle que soit la raison du manque d'échantillon) ; après la clôture de l'enquête il est d'ailleurs également possible de demander des échantillons supplémentaires (pour contrôle, pour raisons didactiques,...).

Plusieurs laboratoires ont effectué plus d'un test par échantillon. Le tableau 6.3.1 représente le nombre de tests effectués par échantillon.

Tableau 6.3.1. Nombre de tests HCV effectués par échantillon

Echantillon	1 test	2 tests	3 tests	Total
S/4661	170	7	-	177
S/4670	160	16	1	177

184 tests ont donc été effectués sur l'échantillon S/4661 et 195 tests sur l'échantillon S/4670. La nature de ces tests est représentée dans le tableau 6.3.2.

Tableau 6.3.2. Nature de tests HCV effectués par échantillon

	Echantillon	
	S/4661	S/4670
1 test		
Elisa	170	160
2 tests		
Elisa + Elisa ¹	5	7
Elisa + Blot	1	4
Elisa + LIA ²	1	5
3 tests		
Elisa + Blot + PCR	-	1
Total	177	177

¹ Un de ces 2 laboratoires a utilisé deux fois la même trousse d'ELISA pour les 2 échantillons

² LIA = Line ImmunoAssay

6.3.2. Réactifs utilisés

Les tableaux 6.3.3 reprend le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs :

Tableau 6.3.3. Réactifs utilisés pour la détermination des Ac anti-HCV

Fabricant	Réactif	S/4661	S/4670
Abbott	AxSYM HCV 3.0	64	64
	Architect HCV	26	26
	IMx HCV 3.0	4	4
	PRISM HCV	3	3
	HCV 3rd génération	1	2
Bayer	Centaur HCV	18	18
BioRad	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Access ¹	19	19
	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel Dxl 800 ¹	9	9
	Monolisa Anti-HCV Plus Version 2	4	5
	DeciScan HCV Plus	-	1
	Innogenetics	Innotest HCV Ab IV	5
	Innolia HCV Ab IIII update	-	1
	Innolia HCV score	1	4
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomBlot HCV IgG	-	1
Ortho Diagnostics	Vitros ECI anti-HCV	15	15
	HCV version 3.0 Elisa	14	14
	Chiron RIBA HCV 3.0 SIA	1	3
Non précisé	HCV RNA RT PCR (Taqman)	-	1
Total		184	195

6.3.3. Résultats

6.3.3.1 Echantillon S/4661

L'interprétation qualitative des résultats est présentée dans le tableau 6.3.4.

Tableau 6.3.4. Résultats qualitatifs pour HCV (échantillon S/4661)

Résultat	Nombre de laboratoires
Positif	1
Négatif	176
Total	177

Les laboratoires ayant effectué 2 déterminations ont obtenu le même résultat (négatif) avec les 2 méthodes (indépendant de la nature des techniques utilisées). Le laboratoire ayant donné le résultat positif, a probablement inversé les 2 échantillons.

A la question de savoir si en routine ils enverraient l'échantillon à un centre de référence, 176 laboratoires ont répondu «non» et 1 a répondu «oui». Ce dernier est le laboratoire qui a probablement inversé les 2 échantillons.

6.3.3.2 Echantillon S/4670

L'interprétation qualitative des résultats est présentée dans le tableau 6.3.5.

Tableau 6.3.5. Résultats qualitatifs pour HCV (échantillon S/4670)

Résultat	Nombre de laboratoires
Positif	174
Négatif	2
Borderline	1
Total	177

Les laboratoires ayant effectué 2 ou 3 déterminations ont obtenu avec toutes les méthodes un résultat positif. Un des 2 laboratoires ayant donné un résultat négatif, a probablement inversé les 2 échantillons. Dans le deuxième cas, il s'agit vraisemblablement d'une inadvertance au moment de remplir le formulaire (la valeur quantitative répondue par ce laboratoire, correspond clairement à un résultat positif).

Pour les troussees les plus utilisees nous avons calcule la mediane, le minimum et le maximum (quand un resultat quantitatif etait mentionne) (tableau 6.3.6.) Les resultats de la trousse HCV version 3.0 Elisa (Ortho Diagnostics) ont ete rapportes en differentes unitees rendant un traitement statistique impossible. 16 laboratoires ont repondu le resultat > 11.0 pour la trousse Centaur HCV (Bayer).

Tableau 6.3.6. Mediane, minimum et maximum pour l'Ag HBs (echantillon S/4670)

Fabricant + reactifs	N labos	Mediane	Minimum	Maximum
Abbott				
Architect HCV	25	13,23	11	14,5
AxSYM HCV 3.0 ¹	61	90	48,34	130,24
BioRad				
Access HCV Ab Plus sur l'appareil Access ²	18	7,945	6,89	8,6
Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel	9	7,29	6,44	8,81
Ortho Diagnostics				
Vitros ECI anti-HCV ³	15	22,8	21	32,1

¹ Le resultat du laboratoire qui a probablement inverse les echantillons n'a pas ete pris en compte.

² Etant donne que le laboratoire ayant repondu « negatif », a repondu un resultat quantitatif de 7.94, ce resultat a ete pris en compte.

³ Le laboratoire ayant repondu « borderline », a obtenu un resultat quantitatif de 24.2.

A la question de savoir si en routine ils enverraient l'echantillon a un centre de reference, 99 laboratoires ont repondu « oui » et 78 ont repondu « non ». Un laboratoire na pas donne de reponse.

Parmi les laboratoires ayant repondu « non » se trouvent laboratoires ayant realise un test « Blot » (N=4; dont un a egalement effectue un test PCR) ou un test LIA (N=5). Trois laboratoires ayant repondu « non » ont mentionne qu'une confirmation par PCR serait conseillee (1 laboratoire a mentionne effectuer le PCR au laboratoire meme ; un autre a mentionne, qu'outre le test de PCR, une confirmation par un deuxieme test serologique serait conseillee); deux laboratoires ont conseille d'effectuer la determination de l'ARN viral et deux autres ont mentionne qu'en cas de resultats quantitatifs eleves, une confirmation n'est pas necessaire (un laboratoire refere aux directives existantes).

Parmi les laboratoires ayant repondu « non », deux ont mentionne de ne l'envoyer que s'il s'agit d'un patient non-connu. Quelques autres laboratoires ont mentionne de l'envoyer pour determination de la charge virale, PCR, genotypage ou Western Blot. Un laboratoire a mentionne que l'echantillon actuel serait controle avec un deuxieme test serologique et qu'un nouvel echantillon serait demande pour exclure une inversion d'echantillon et pour l'execution d'un PCR.

6.4 Discussion des résultats de l'enquête

Deux échantillons, accompagnés du renseignement clinique « jaunisse », ont été envoyés. Il s'agissait donc de mettre en évidence ou d'exclure une infection par le virus de l'hépatite B et/ou de l'hépatite C.

Echantillon S/4661

Hépatite B

Des combinaisons de tests très différentes ont été réalisées, situation probablement liée en partie aux tests disponibles dans les laboratoires ; mais dans tous les cas, le test principal, l'antigène HBs, a été réalisé.

A l'exception d'un laboratoire qui n'a pas fourni de réponse, tous ont obtenu un résultat positif pour l'Ag Hbs.

Dans le cadre de la mise au point d'une jaunisse en présence d'anti-HBc totaux et d'Ag HBs, il est utile de réaliser de l'Ag Hbe, des anti-Hbe, ainsi que la détermination des IgM anti-HBc afin de confirmer ou non une hépatite B aiguë.

Ces tests ont été soit proposés dans les tests complémentaires, soit réalisés par certains laboratoires. Concernant l'anti-Hbe et l'Ag Hbe, les résultats sont tous corrects. Concernant les IgM anti-HBc, les 8 laboratoires qui l'ont réalisé ont obtenu un résultat négatif.

La recherche de l'ADN viral par PCR n'a généralement pas sa place dans le diagnostic d'une hépatite aiguë, elle peut être utile dans les hépatites chroniques lorsque la sérologie n'est pas claire (anti-HBc isolé, hépatite chronique séronégative,...). La détermination quantitative de l'ADN viral est indiquée avant l'instauration d'un traitement antiviral et dans le suivi d'un traitement d'hépatite B chronique

La majorité des laboratoires a donc obtenu les résultats attendus et a fourni l'interprétation correcte « Infection par le virus HBV ».

Concernant les autres interprétations :

« Immunité » : l'immunité est liée à la présence d'anticorps anti-HBs. L'immunisation est vaccinale si la présence d'anti-HBs est isolée ; elle est liée à une infection naturelle antérieure si les anti-HBs sont accompagnés d'anti-HBc. Dans les 2 cas, l'Ag HBs est négatif.

« Infection chronique » : elle se définit par la persistance d'Ag HBs 6 mois après l'épisode aigu. Même si l'absence d'IgM anti-HBc peut orienter vers cette possibilité, seule la persistance de l'Ag HBs sur un second sérum prélevé minimum 6 mois après le premier permettrait de conclure à cette interprétation.

Hépatite C

Le résultat attendu, négatif, a été fourni par tous les laboratoires sauf un. Celui-ci a probablement inversé les échantillons.

Echantillon S/4670

Hépatite B

Il s'agissait d'un échantillon négatif pour tous les paramètres de l'hépatite B. 58 laboratoires sur 188 ont obtenu un résultat positif ou borderline pour l'antigène HBs.

Ce résultat a été obtenu avec plusieurs trousse, mais il est à noter que la majorité des utilisateurs AxSYM ont eu ce problème. La société Abbott a été contactée et a répondu que les échantillons réactifs doivent être retestés en double et confirmés en cas de répétitivité de la réactivité.

Dans la pratique courante, il n'est pas habituel d'envisager cette procédure pour tout échantillon positif. En effet, lorsque l'Ag HBs est nettement positif et s'accompagne de la présence d'anti-HBc, il s'agit clairement d'une infection par HBV.

Par contre, la présence d'Ag HBs en l'absence d'anti-HBc est une situation très rare. Ce profil sérologique peut être observé pendant la période d'incubation de l'hépatite B, avant les symptômes cliniques et les altérations hépatiques, c'est donc généralement une découverte de hasard. En présence de tels résultats, il est donc nécessaire de réaliser un test de confirmation, et/ou de retester ces paramètres sur un second échantillon.

Cette démarche doit également être proposée en présence d'anti-Hbcore, lorsque l'Ag HBs est faiblement positif.

Les laboratoires qui ont réalisé le test de confirmation, ont tous trouvé un résultat final négatif pour l'Ag Hbs, et ont fourni une interprétation correcte. Plusieurs laboratoires, ne réalisant probablement pas le test de confirmation, l'ont proposé dans leur interprétation.

Les autres paramètres n'ont pas posé de problème, à l'exception de l'anti-HBc, trouvé positif ou borderline par 5 laboratoires.

Hépatite C

La quasi totalité des laboratoires a fourni le résultat attendu, positif.

Un laboratoire qui a rendu un résultat négatif a signalé par la suite avoir inversé les échantillons. Quant aux 2 autres réponses incorrectes, il s'agit probablement d'erreur de transcription puisque la valeur d'index fournie ne correspond pas à un résultat négatif ou borderline. Rappelons que le contrôle de qualité externe concerne l'exécution de l'analyse, mais également l'interprétation des résultats et leur transcription correcte.

Concernant l'envoi à un laboratoire de référence, les avis sont très partagés puisque 56 % des participants ont répondu « oui » et 44 % « non ».

Même si les tests de dépistage de 3^{ème} génération ont une sensibilité et une spécificité améliorée par rapport aux générations précédentes, il subsiste un pourcentage important de faux positifs, en particulier dans les populations à faible prévalence.

Donc en l'absence d'un facteur de risque, d'un contexte clinique ou biologique suggestif, la confirmation d'un résultat positif est souhaitable, et peut être réalisée en utilisant un autre réactif de dépistage ou un immunoblot, en fonction des disponibilités au laboratoire et des possibilités d'envoi à un laboratoire de référence. Comme la présence d'anticorps ne permet pas la distinction entre une infection active et une infection ancienne guérie, les tests sérologiques pourront être complétés par une recherche du génome viral par PCR. Il est préférable de ne pas réaliser cette analyse sur le sérum qui a déjà été manipulé pour la recherche

des anticorps et donc de demander un second prélèvement. La réalisation des analyses sur un deuxième échantillon permettra en même temps d'exclure les erreurs d'identité ou de prélèvement du premier.

Dans un contexte d'hépatite, aiguë ou chronique, la détection d'anticorps anti-HCV par un test de dépistage rend le diagnostic d'hépatite C fort probable et celui-ci pourra être confirmé par la recherche du génome viral par PCR. A noter quelques cas particuliers : la recherche des anticorps peut être négative dans la phase précoce de l'hépatite aiguë C, de même les anticorps peuvent être négatif ou faiblement positifs chez le patient immunodéprimé porteur chronique du virus.

ML Delforge, ULB Hôpital ERASME, Bruxelles