

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 03/2006

**Microbiologie**

Non pathogènes (H. parainfluenzae + S. viridans)  
Microsporium canis  
Enterococcus faecium  
Acinetobacter baumannii

**Parasitologie**

Loa loa  
Plasmodium vivax

**Sérologie**

VIH  
Mycoplasma

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

**ISP/03/06/Micro./Sero./Para. 64**

## 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 3<sup>e</sup> enquête du cycle 2006 (enquête 2006/3), le matériel suivant a été expédié le 2 octobre 2006

1.1. Un échantillon clinique et 3 échantillons lyophilisés pour identification.  
Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés.

1.2. Deux frottis de sang pour la recherche de parasites.

1.3. Trois échantillons de plasma pour les tests de Mycoplasma et HIV.

### NOMBRE DES PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

1.	Pour les identifications et antibiogrammes	: 191
2.	Pour la parasitologie	: 190
3.	Pour la sérologie	
	Mycoplasme	: 163
	HIV	: 186

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

## II. IDENTIFICATIONS

### 2.1. Culture M/2090 était un *Enterococcus faecium*

Lors de la mise sous presse du rapport, le texte concernant l'*Enterococcus faecium* ne nous était malheureusement pas encore parvenu.

Il sera repris comme annexe dans le rapport global 2007/1.

Avec toutes nos excuses.

## 2.2. Culture M/4371 *Acinetobacter baumannii*

Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est difficile et a été amplement décrite dans le rapport de l'enquête 2000/1. Dans l'enquête 2006/3 nous avons demandé une identification jusqu'au niveau du genre. Presque tous les laboratoires ont fourni une réponse correcte pour l'identification.

*Acinetobacter baumannii* a une résistance naturelle à l'ampicilline, aux céphalosporines de 1<sup>e</sup> et 2<sup>e</sup> génération et à la témocilline. La céfotaxime et l'aztréonam ont une activité intrinsèque limitée. La résistance acquise à la ceftazidime et aux carbapénèmes est un problème croissant.

En France il y a eu une épidémie importante en 2003-2004 d'*Acinetobacter baumannii*, producteurs d'une « extended-spectrum beta-lactamase (BLSE) ». Une enquête effectuée par l'ISP en 2004 a démontré que la souche en question, productrice de VEB-1 était présente de façon limitée en Belgique chez des patients résidant dans des maisons de repos ou des hôpitaux près de la frontière française ou ayant beaucoup de contacts en France. La souche peut être reconnue phénotypiquement parce qu'elle n'est sensible qu'au méropénème ou à l'imipénème et à la colistine. La confirmation du VEB-1 ne peut être effectuée que dans le laboratoire de référence (recherche de la BLSE sur des milieux contenant de l'oxacilline, PCR).

PER-1 est une autre BLSE qui est amplement répandu chez l'*Acinetobacter baumannii* en Turquie et également en d'autres pays tels que la France et la Corée. En Belgique de telles souches apparaissent de façon sporadique chez des patients ayant séjournés dans ces pays.

Chez les *Acinetobacter baumannii* différents mécanismes de résistance au méropénème/imipénème peuvent être présents. Les  $\beta$ -lactamases qui hydrolysent les carbapénèmes appartiennent aux  $\beta$ -lactamases de type OXA. Récemment une épidémie a été décrite dans un hôpital belge. Le cas index avait séjourné dans un hôpital grec. La souche était très facilement transmise entre les patients malgré les mesures d'hygiène supplémentaires. Elle était uniquement sensible à la tigécycline et intermédiaire à la colistine. A cause de l'expression hétérogène de la résistance, la détection de la résistance n'est pas facile. Avec la méthode de diffusion par disque on voit une croissance (microcolonies) dans la zone d'inhibition de l'imipénème, du méropénème et de l'aztréonam.

Depuis janvier 2006 le CLSI fournit des diamètres d'inhibition et des valeurs de CMI pour l'*Acinetobacter spp.* qui sont différents de ceux de *Pseudomonas aeruginosa*. Pour l'*Acinetobacter spp.* l'ampicilline-sulbactam (non disponible en Belgique) et la triméthoprime-sulfaméthoxazole sont mentionnées. Pour l'amoxicilline-acide clavulanique ils n'ont pas déterminé de critères. Il existe maintenant également des critères pour la colistine: S si  $\leq 2$  et R si  $\geq 4$  mg/l.

La souche envoyée était modérément sensible à la ceftazidime. Les valeurs de CMI rapportées se trouvaient entre 4 et 16 mg/l. Les critères du CLSI sont : S si  $\leq 8$  mg/l, I si égal à 16 mg/l et R si  $\geq 32$  mg/l. Pour les infections sérieuses on conseille de déterminer la CMI. Si les carbapénèmes ont une bonne activité, ils représentent une thérapie alternative.

La confirmation de la résistance à la ceftazidime et aux carbapénèmes est possible dans le laboratoire de référence (service de microbiologie, Cliniques Universitaires - UCL, Mont-Godinne). Pour la résistance à la ceftazidime ils demandent de n'envoyer que les souches qui ont une croissance jusqu'au bord du disque si vous utilisez la diffusion par disque ou qui ont une CMI  $\geq 32$  mg/l.

K. Magerman, Virga Jesseziekenhuis, Hasselt

## REFERENCES

1. G. Claeys, M. Vaneechoutte. rapport microbiologie 2000/1: 6-10 [http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external\\_quality/rapports/nl/rapports\\_2000.htm](http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/nl/rapports_2000.htm)
2. Y. Glupczynski, P. Bogaerts, C. Bauraing. *Acinetobacter baumannii* : une bactérie qui fait de la résistance. *Noso-info*, vol. X, nr. 2, 2006  
<http://www.md.ucl.ac.be/nosoinfo/Noso-info-0206.pdf>
3. B. Jans, Y. Glupczynski, C. Suetens, E. Van Cleemput. Epidemiologische enquête in verband met ESBL-producerende ACINETOBACTER BAUMANNII (type VEB-1) in België. IPH/IPE REPORTS Nr. 2004 - 18  
<http://www.iph.fgov.be/epidemiology/epinl/nsihnl/acinetobacter.pdf>
4. T. Naas, P. Bogaerts, C. Bauraing, Y. Degeheldre, Y. Glupczynski and P Nordmann. Emergence of PER and VEB extended-spectrum beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2006) 58, 178-182
5. P. Bogaerts, T. Naas, I. Wybo, C. Bauraing, O. Soetens, D. Piérard, P. Normann and Y. Glupczynski. Outbreak of Infection by Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing the Carbapenemase OXA-58 in Belgium. *Journal of Clinical Microbiology*, Nov. 2006, Vol. 44, No 11, p. 4189-4192
6. F.S. Taccone, H. Rodriguez-Villalobos, D. De Backer, V. De Moor, J. Deviere, J.-L. Vincent, F. Jacobs. Successful treatment of septic shock due to pan-resistant *Acinetobacter baumannii* using combined antimicrobial therapy including tigecycline. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* (2006) 25: 257-260
7. CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. M100-S16, Vol. 26 No. 3, Jan. 2006

## 2.2. Culture M/6699 *Microsporium canis*

Cet échantillon était constitué de desquamations simulées auxquelles le dermatophyte *Microsporium canis* a été ajouté. La culture de ce champignon ne s'est pas passée sans problèmes. Même après envoi d'un deuxième échantillon à un certain nombre de laboratoires, la culture est restée négative chez 22% des laboratoires participants. L'origine de ce problème n'est pas claire.

Le tinea corporis commence par une lésion prurigineuse, circulaire ou ovale, érythémateuse qui desquame. Quand la lésion s'agrandit, nous voyons une clarification centrale tandis que le bord (large de quelques millimètres) progresse activement et reste rouge. C'est ainsi que se forment les lésions typiques en cercles. Pour l'examen mycologique (l'examen direct et la culture), il est important que les desquamations soient prises à la circonférence de la lésion.

Un certain nombre des laboratoires ont effectué un examen direct sur l'échantillon et ont répondu que le mycélium était présent mais qu'ils n'arrivaient pas à mettre la moisissure en culture. L'examen microscopique des « desquamations » montrait en effet la présence d'hyphes et de macroconidies (cfr. infra). A cet égard, cet échantillon de contrôle de qualité diffère des échantillons cliniques. En effet, *in vivo* seuls les hyphes et les arthroconidies (« éléments » rectangulaires formés à partir des hyphes par fragmentation) sont présents et non les macroconidies (Fig.1).

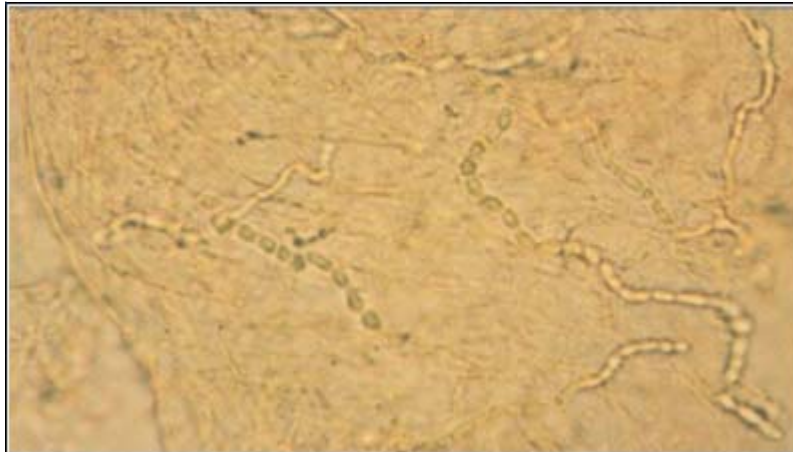


Fig. 1. L'examen direct des desquamations montre la présence des hyphes et des arthroconidies.

L'utilisation d'une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) (10-30% w/v) est conseillée pour l'examen direct des desquamations. La kératine se dissout dans la solution de KOH tandis que les éléments fongiques restent intacts. On peut préférer l'utilisation de bleu de lactophénol qui permet une dissolution plus douce de la kératine et donc une altération moins rapide de la préparation. La sensibilité de l'examen microscopique direct peut être augmentée par l'addition d'une solution Calcofluor white (0,1%) à la solution de KOH (1:1, v/v) et l'examen des échantillons au microscope à fluorescence avec filtre adapté à la bonne longueur d'onde (1).






Les dermatophytes ont une croissance lente et la « surcroissance » des moisissures présentes dans l'environnement (entre autres *Aspergillus species*) pose donc un problème réel pour la culture sur milieu Sabouraud. Pour cette raison il est préférable d'ensemencer les desquamations sur des milieux sélectifs tel qu'un milieu Sabouraud auquel le cycloheximide (0,5%) a été ajouté. Il faut néanmoins tenir compte du fait que la croissance de certaines espèces de *Candida* est supprimée sur ce milieu.



Le diagnostic entre les trois genres de dermatophytes (*Microsporum spp.*, *Trichophyton spp.* et *Epidermophyton sp.*) peut être effectué sur base d'une combinaison des examens macroscopiques et microscopiques. Le schéma simple, montré dans le tableau 1, permet d'identifier la plupart des dermatophytes les plus répandus jusqu'au niveau du genre. Pour une identification définitive, il est important de comparer les caractéristiques micro- en macroscopiques avec les caractéristiques qui sont décrites dans les livres de microbiologie ou les atlas de mycologie (2,3).

Tableau 1. Caractéristiques microscopiques des genres auxquels appartiennent les dermatophytes.

M. E. Kern and K. S. Blevins. *Medical Mycology: a self-instructional text. Second Edition.*, F.A. Davis Company, Philadelphia, 1997.

MICROSCOPIC CHARACTERISTICS OF DERMATOPHYTE GENERA			
	<i>Microsporum</i>	<i>Epidermophyton</i>	<i>Trichophyton</i>
<b>Macroconidia:</b>			
Quantity	Numerous	Numerous	Usually rare
Rough- /smooth-walled	Rough	Smooth	Smooth
Shape	Elliptical/spindle	Club	Pencil
Thick- /thin-walled	Thick or thin	Thin	Thin
Number of cells inside	Usually 3–7	Usually 2–4	Usually 3–8
			
<b>Microconidia:</b>			
Quantity	Few	Absent	Numerous or few
Shape	Club	—	Round, oval, or club
How borne	Singly	—	Singly/grapelike clusters
			

Les colonies de *M. canis* sont de fines colonies blanches à jaunâtres duveteuses ayant une croissance radiale typique (Fig. 2a). La couleur du revers de la culture fait apparaître un pigment orangé (Fig. 2b).



Fig. 2. Aspect macroscopique des colonies de *Microsporum canis*. a) coté recto, b) coté opposé.

Afin d'observer les structures de la reproduction végétative (micro- et macroconidies) il faut le plus souvent réensemencer la moisissure sur un milieu pauvre. En Belgique beaucoup de laboratoires utilisent à cette fin le « Sabouraud dilué » nommé également milieu de Takashio. Ce milieu ne contient que 1/10<sup>e</sup> de la concentration de glucose (2 g) et de peptone (1 g) que nous retrouvons d'habitude dans les milieux Sabouraud (4). Les colonies de *M. canis* produisent des macroconidies facilement reconnaissables, qui sont fusiformes et ont une paroi épaisse et rugueuse (Fig. 3). Les microconidies, qui sont moins nombreuses que les macroconidies, sont piriformes et implantées alternativement à gauche et à droite sur le mycélium (« acladium »). Les macroconidies rugueuses à paroi épaisse de *M. canis* peuvent facilement être différenciées des macroconidies lisses à paroi mince que nous retrouvons chez *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* et *Trichophyton mentagrophytes*. (*Trichophyton schoenleinii* ne produit normalement ni micro- ni de macroconidies mais des structures « en forme de chandeliers ».) Toutefois 12% des participants ont identifié la moisissure dans cet échantillon comme un *Trichophyton species*. Un laboratoire a répondu *Cladosporium species*. Cette moisissure diffère cependant totalement de *M. canis*, aussi bien macroscopiquement que microscopiquement. Il s'agit probablement d'un contaminant.



Fig. 3 Aspect microscopique des macroconidies de *Microsporium canis*.

Origine du dessin: D. Larone. *Medically important fungi. A guide to identification*. 4<sup>th</sup> Edition. ASM Press, Washington, D.C, 2002.

Une identification correcte de l'espèce des dermatophytes a son intérêt, non seulement pour des raisons épidémiologiques mais également parce qu'une connaissance de l'espèce fournit une information sur la source de l'infection. Nous distinguons des espèces géophiles (qu'on retrouve dans le sol et qui ne causent que rarement un tinea chez l'homme, par exemple *Microsporium gypseum*), des espèces zoophiles (qu'on retrouve chez les animaux mais qui peuvent infecter l'homme) et des espèces anthropophiles (qu'on ne retrouve que chez l'homme, par exemple *T. rubrum* en *T. interdigitale*) (5). *M. canis* est une espèce zoophile universelle, qu'on retrouve surtout chez les chats, mais aussi chez le chien, les singes et occasionnellement chez d'autres animaux. Ce dermatophyte peut être retrouvé sur la peau d'animaux asymptomatiques (porteur sain). La transmission d'un porteur sain vers l'homme peut causer une tinea capitis ou tinea corporis (qu'on retrouve surtout chez les enfants). La maladie peut également être transmise par contact avec un objet contaminé (par exemple un coussin).

A l'UZ Leuven (en 2001), la distribution des espèces des différents dermatophytes cultivés à partir de desquamations originaires de patients avec tinea corporis était la

suivante: l'agent causale le plus fréquent était *T. rubrum* (53%) suivi de *T. interdigitale* (40%). *M. canis* a été cultivé à partir de 4% des desquamations. *M. canis* est et reste l'agent causal le plus important de tinea capitis au sein de l'UZ Leuven.

Katrien Lagrou, UZ Gasthuisberg, Leuven

## REFERENCES

1. E.C. Hamer, C.B. Moore and D.W. Denning. Comparison of two fluorescent whiteners, Calcofluor and Blankophor, for the detection of fungal elements in clinical specimens in the diagnostic laboratory. *Clinical Microbiology and Infection*, 2006, 12: 1181-184.
2. M E. Kern and K. S. Blevins. *Medical Mycology: a self-instructional text. Second Edition.*, F.A. Davis Company, Philadelphia, 1997.
3. G.S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené and M.J. Figueras. *Atlas of clinical fungi. Second Edition*, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 2000.
4. M. Takashio. Sexual reproduction of some *Arthroderma* and *Nannizzia* on diluted Sabouraud agar with or without salts. *Mykosen*, 1972, 15: 11-17.
5. I. Weitzman, R.C. Summerbell. The dermatophytes. *Clinical microbiology reviews*, 1995, 8: 240-259

## 2.4. Culture M/6830 *H. parainfluenzae* + *S. viridans* (non pathogènes)

L'envoi M/6830 était un exercice intéressant pour étudier la façon dont les laboratoires traitent les échantillons ou souches de contrôle de qualité dont le moins qu'on puisse dire est que le résultat soulève un sentiment d'incertitude ou de doute. L'échantillon contenait un mélange de streptocoques viridans et d'*Haemophilus parainfluenzae* dans une relation 1/1.

Comme c'est toujours le cas dans les enquêtes EEQ de bactériologie, il était demandé aux laboratoires de ne répondre que les souches pathogènes.

L'échantillon était prélevé en mars 2006 et était accompagné des informations cliniques suivantes: *expectoration provenant d'un patient de 42 ans, retardé mental, avec fièvre, toux et maux de tête 3 jours après un voyage à Paris avec des amis d'un atelier pour handicapés.*

La coloration de Gram montrait un échantillon avec un grand nombre de neutrophiles (25 /hpf) et flore commensale +++.

Le contact téléphonique a appris qu'un grand nombre de ces collègues avaient du rester à la maison avec également la fièvre, une toux et des maux de tête.

La culture virale était positive pour le virus de l'Influenza B.

Si nous examinons les résultats, nous pouvons les classer grosso modo dans trois groupes plus ou moins égaux:

- 66 participants (35%) ont choisi de manière univoque « pas de pathogènes »
- 57 participants (30%) ont également mentionné qu'ils « n'ont pas trouvé de pathogènes » mais ils se sentent toutefois mal à l'aise et ils précisent quels « non pathogènes » ils ont trouvés, et ce jusqu'au niveau de l'espèce! Une telle réponse soulève évidemment immédiatement la question comment ces labos répondraient-ils cet échantillon en routine?
- 67 participants (35 %) ont résolument répondu le nom d'au moins un germe, signalant qu'ils estiment que ce germe joue un rôle important dans l'échantillon. Dans ce groupe, 55 labos (29%) mentionnent *Haemophilus parainfluenzae*, accompagné ou non de streptocoques comme 'pathogène'; 5 participants estiment que les streptocoques sont importants mais ne mentionnent pas l'*Haemophilus*. Sept labos ont répondu une identification tout à fait incorrecte.

Le fait que beaucoup de participants se sentent mal à l'aise avec cet envoi est déduit du grand nombre de commentaires supplémentaires qui accompagnaient leur réponse.

À propos du traitement et du rapportage qui en suit, il est tout à fait justifié que l'on renvoie à la coloration de Gram (absente) étant donné que celle-ci est indicative (ou devrait l'être).

Quasi tous les laboratoires disposent maintenant des procédures écrites (SOPs) où les analyses sont décrites. Dans ces SOPs les différentes phases de l'examen sont développées, avec souvent une remarquable précision en ce qui concerne la phase pré-analytique, l'ensemencement, le rapportage.

Par contre le traitement des échantillons est souvent décrit avec beaucoup moins de précision, alors que celui-ci est un des éléments le plus important de la bactériologie,

qui demeure toutefois le plus difficile à standardiser. On trouve des descriptions vagues, des renvois aux manuels ou des phrases telles que « les pathogènes sont développés plus amplement ». (Dans la pratique ceci veut souvent dire que le traitement dépend du technicien examinant l'échantillon.)

En effet, quand on consulte la littérature pour trouver des procédures de traitement qui sont applicables à l'envoi actuel, le rendement est limité. Seul Isenberg <sup>(1)</sup> fait des catégories et classe les *Haemophilus species* (not *H.influenzae*) et streptocoques viridans clairement dans le groupe des «Isolates consistent with organisms encountered in the upper respiratory tract». Ni la Société Française de Microbiologie (SFM), ni la Nederlandse vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM) n'ont suggéré des directives de traitement.

Si nous continuons notre recherche dans les ouvrages de référence, nous trouvons uniquement dans le Murray <sup>(2)</sup> que *H.influenzae* et *S.pneumoniae* sont repris comme 'usual bacterial etiology of community acquired pneumonia (CAP)'. *Haemophilus species* et streptocoques viridans ne sont mentionnés nul part.

Dans la Bible de l'infectiologie (Mandell) on peut lire: « *Haemophilus species, other than H.influenzae and H.ducreyi, are unusual causes of disease in humans; ... Haemophilus sp. are present as part of the normal bacterial flora of the human upper respiratory tract. H.influenzae is the predominant species accounting for approximately three fourths of the Haemophilus flora of the human upper airway.*» Mais on ne fait nul part mention de *H.parainfluenzae* ou des streptocoques viridans comme agent causal des infections des voies respiratoires inférieures.

Une autre approche peut consister à examiner ce que reprennent les directives récentes comme étiologie de la pneumonie (CAP dans le cas actuel). Ni les directives belges IDAB, américaines IDSA, canadiennes IDS et britanniques BTS ne mentionnent *H.parainfluenzae* ou streptocoques viridans comme agent causal des infections des voies respiratoires inférieures <sup>(4-8)</sup>. (Inversement l'IDSA <sup>(5)</sup> nous apprend que: «Except for *Legionella species* and *Mycobacterium tuberculosis*, growth of virtually all other bacteria, including *Nocardia* and *Actinomyces species*, might be nondiagnostic if recovered from usual respiratory specimen samples».)

Il peut donc être clair qu'il est conseillé d'agrandir l'horizon diagnostique quand on reçoit un échantillon (de QC) qui contient un mélange de 2 germes qui ne sont pas considérés comme faisant partie des pathogènes des voies respiratoires inférieures. Il ne faut pas oublier que, quand le clinicien envoie un échantillon pour analyse microbiologique, il le fait dans le but d'obtenir ou de confirmer un diagnostic. Si la coloration de Gram indique que l'échantillon est d'une bonne qualité, c'est une faute de mettre le clinicien à contre-pied en rapportant des résultats non-significatifs. Penser que le laboratoire doit rapporter tous les germes trouvés et qu'il doit laisser l'interprétation au demandeur est une théorie dépassée! Au contraire, c'est au spécialiste en la matière, à savoir le microbiologiste, d'interpréter la culture par l'utilisation de toutes les données dont il dispose, (type d'échantillons, coloration de Gram, âge du patient, informations cliniques,...) ou qu'il estime nécessaires/utiles (un contact téléphonique peut faire des miracles). Dans un contexte comme dans le cas actuel, il est donc conseillé d'agrandir « son horizon »: est-ce que le patient a déjà reçu des antibiotiques qui peuvent expliquer le résultat « négatif » de la culture, est-ce qu'on a considéré la possibilité d'une cause virale, est-ce que le patient a des problèmes pour déglutir, y-a-t-il perte de conscience, faut-il penser éventuellement à une légionellose ou une tuberculose, etc ...?

Nous sommes donc heureux qu'un si grand nombre de laboratoires aient ajouté des commentaires, ont suggéré une concertation clinique et/ou ont conseillé des tests supplémentaires.

Un certain nombre de laboratoires ont fait l'effort d'expliquer pourquoi ils ont répondu le *H.parainfluenzae* et certains d'entre eux ont renvoyé à un article de Pillai dans

*Thorax*<sup>(11)</sup>. Il reste fascinant de voir que mêmes dans les articles des journaux revus par paires (« peer-reviewed ») il faut rester sur ces gardes, surtout quand un journal (cliniquement orienté dans le cas actuel) publie des articles « dépassant les disciplines » (microbiologiques). Dans l'article en question on discute une pneumonie par *H.parainfluenzae* chez une patiente immunocompétente mais on « oublie » de mentionner comment l'identification a été effectuée!! On décrit également une réaction positive d'IgM anti-*H.parainfluenzae* dans un test 'maison' mais on « oublie » de démontrer la spécificité de ce test.

Il n'existe aucun doute que *H.parainfluenzae* peut être pathogène dans des situations bien définies (échantillons génitaux, endocardite, ...<sup>(3,9,10)</sup>). Que le germe doit être rapporté dans tous les cas est une toute autre question.

On peut dire la même chose des streptocoques viridans même si personne n'a recherché la littérature à ce sujet <sup>(12)</sup>.

On peut conclure que deux tiers des laboratoires n'ont pas retenu de cause bactérienne pour l'infection respiratoire dans le cas actuel. La moitié de ce groupe le fait néanmoins avec une certaine hésitation et il serait intéressant d'apprendre comment leur réponse prend forme dans la routine.

D'un autre côté, il faut accentuer qu'un tiers des laboratoires rapportent un résultat qui peut induire des conclusions fautives tant sur le plan diagnostique que sur le plan thérapeutique.

Hans De Beenhouwer, OLV Ziekenhuis, Alost

## REFERENCES

1. Clinical Microbiology Procedures Handbook. H. Isenberg; 2<sup>nd</sup> edition ASM Press Washington DC. 2004
2. Manual of Clinical Microbiology 8th Edition PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, MA Pfaller, RH Tenenbaum. ASM Press Washington DC. 2003
3. Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell, Douglas, and Bennett's; 6th Edition Elsevier 2005
4. Initiële diagnostische en Therapeutische Benadering van CAP bij de Immuno-competente Volwassene IDAB 2002-2003
5. Practice Guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. Bartlett JG, Dowell SF, Mandell LA, File TM Jr, Musher DM, Fine MJ. *Clin Infect Dis* 2000; 31:347-82.
6. Guidelines of the Management of Community acquired Pneumonia in adults. Macfarlane JT, Boswell T, Douglas G, Finch R, Holmes W, Honeybourne D, Lim WS, Marriott R, Nathwani D, Saul P, Woodhead M, Wyatt J. BTS. *Thorax* 2001; 56, suppl 4: 1-64.
7. Canadian Guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia: an evidence-based update by the Canadian Infectious Diseases Society and the Canadian Thoracic Society. The Canadian Community-Acquired Pneumonia Working Group. Mandell LA, Marrie J, Grossman RF, Chow AW, Hyland RH. *Clin Infect Dis* 2000; 31:383-421.
8. Update of Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompetent Adults. Lionel A. Mandell, John G. Bartlett, Scott F. Dowell, Thomas M. File, Jr., Daniel M. Musher, and Cynthia Whitney, *Clin Infect Dis* 2003; 37:1405-33
9. *Haemophilus parainfluenzae* Sepsis in a Very Low Birth Weight Premature Infant: A Case Report and Review of the Literature. Rosa Victoria Chen, John S Bradley. *J. Perinatology* 1999; 19, 315-317
10. Distribution of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae* biotypes isolated from the human genitourinary tract. E. B. Drouet, G. A. Denoyel, M. M. Boude, G. Boussant H. P. de Montclos. *Eur J. Clin Microb Infect Dis* 1989 ; 8 951-955
11. A case of *Haemophilus parainfluenzae* pneumonia. A Pillai, J L Mitchell, S L Hill and R A Stockley. *Thorax* 2000;55;623-624
12. Primary Streptococcus viridans pneumonia. Sarkar TK, Murarka RS, Gilardi GL. *Chest*. 1989 4 831-4



### III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N = 191)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées

#### 3.1. Culture M/2090 *Enterococcus faecium* (hémoculture)

<u><i>Enterococcus faecium</i></u>	184 (96.3%)
<u><i>Enterococcus species</i></u>	3 (1.6%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1
Non traité au laboratoire	2

Remarque: 2 des 3 laboratoires ayant répondu *Enterococcus species* enverraient en routine la souche pour identification/différentiation.

7 laboratoires ont mentionné explicitement la présence du «Van B»; 5 ont mentionné qu'il s'agit de VRE (Vancomycin Resistant Enterococci); et 1 laboratoire a mentionné «VRE» et «Van B».

#### 3.2. Culture M/4371 *Acinetobacter baumannii* (aspiration pulmonaire)

<u><i>Acinetobacter baumannii</i></u>	159 (83.2%)
<u><i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i></u>	6 (3.1%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1 (0.5%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus var anitratus</i>	1 (0.5%)
<u><i>Acinetobacter species</i></u>	22 (11.5%)
<i>Enterococcus faecium</i>	1
<i>Burkholderia species</i>	1

#### 3.3. Culture M/6699 *Microsporium canis* (desquamation)

<i>Microsporium canis</i>	65 (34.0%)
<i>Microsporium canis var canis</i>	1 (0.5%)
<i>Microsporium species</i>	10 (5.2%)
Croissance positif (est envoyé pour identification)	5 (2.6%)
Non traité en routine (est envoyé à un autre labo)	36 (18.8%)
Pas de croissance	37
Présence de mycélium à l'examen directe mais pas de croissance	5
<i>Trichophyton rubrum</i>	9
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	7
<i>Trichophyton species</i>	5
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	1
<i>Trichophyton interdigitale</i>	1
<i>Cladosporium species</i>	1
Pas de réponse	8

Remarque: un certain nombre de laboratoires n'ont pas obtenu de croissance, même avec un second échantillon; dans d'autres laboratoires la croissance était tellement lente que nous étions malheureusement obligés de clôturer l'enquête avant l'arrivée de leurs résultats. Les derniers jours avant la clôture de l'enquête certains laboratoires ont reçu des milieux Sabouraud où la souche était déjà mise en culture afin de leur permettre de l'identifier (vu le manque de temps pour mettre les desquamations en culture dans leur laboratoire et d'identifier la souche, nous avons préférés d'agir de cette façon).

La souche sera considérée comme didactique et les résultats ne seront pas pris en compte pour l'évaluation des laboratoires.

Nous offrons à tous les laboratoires qui n'ont pas obtenu de croissance la possibilité de nous demander une souche qui a poussé afin qu'ils puissent visualiser la souche.

**3.4 Culture M/6830** Absence de pathogènes (expectoration; contenait *H. parainfluenzae* + streptocoques viridans)

<u>Absence de pathogènes</u>	66	(34.5%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + streptocoques viridans)</u>	19	(9.9%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i>)</u>	16	(8.4%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + streptocoques <math>\alpha</math>-hémolytiques)</u>	2	(1.0%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.alactolyticus</i>)</u>	5	(2.6%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.sanguinis</i>)</u>	5	(2.6%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.salivarius</i>)</u>	2	(1.0%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i>: peut être exceptionnellement pathogène; une concertation avec le clinicien est conseillée)</u>	2	(1.0%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.salivarius salivarius</i>)</u>	1	(0.5%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.milleri</i>)</u>	1	(0.5%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.mitis</i>)</u>	1	(0.5%)
<u>Absence de pathogènes (<i>H. parainfluenzae</i> + <i>Leuconostoc species</i>; vu le contexte, une demande pour PCR de Legionella serait conseillé)</u>	1	(0.5%)
<u>Absence de pathogènes (<i>Haemophilus non influenzae</i> + streptocoques viridans)</u>	1	(0.5%)
<u>Flore salivaire (négatif pour <i>Legionella</i>, <i>Mycobactéries</i> et <i>Aspergillus</i>)</u>	1	(0.5%)
<u><i>H. parainfluenzae</i>: la pathogénicité doit être jugée à l'aide des informations cliniques et de la coloration Gram (expectoration purulente? prédominance de bacilles à Gram négatif?)</u>	1	(0.5%)
<i>H. parainfluenzae</i>	41	
<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S.sanguinis</i>	7	
<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S. alactolyticus</i>	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + <i>S. mitis</i>	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + streptocoques $\alpha$ -hémolytiques	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + groupe Lactococcus/Gemella	1	
<i>H. parainfluenzae</i> + flore commensale	1	
<i>H. influenzae</i>	3	
<i>H. influenzae</i> + <i>S.sanguinis</i>	1	
<i>H. haemolyticus</i>	1	
Streptocoques viridans	2	
<i>S. alactolyticus</i>	1	
<i>S. salivarius</i>	1	
<i>S. sanguis</i>	1	
<i>L. lactis</i>	1	
<i>P. pneumotropica</i>	1	
<i>Pasteurella species</i>	1	
Pas de réponse	1	

Remarque: sous « Absence de pathogènes » sont reprises toutes les réponses ressemblantes: flore commensale, flore normale, flore banale, flore buccale, flore oropharyngée,...

## 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/2090 (*Enterococcus faecium*)

Nombre de participants = 189 (les 2 laboratoires qui ont déclaré envoyer en routine de tels échantillons à un laboratoire de référence, n'ont évidemment pas effectué d'antibiogramme).

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

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

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Ampicilline	R	184	35	5	143 <sup>3</sup>	1 <sup>4</sup>
Amoxicilline <sup>1</sup>	R	4	3		1	
Gentamicine <sup>2</sup>	S	176	137	8	11	20 <sup>5</sup>
Vancomycine	R	189	3	11	173 <sup>3</sup>	2 <sup>6</sup>
Teicoplanine	S	147	144	1	2	

<sup>1</sup> Un certain nombre de laboratoires ont testé l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

<sup>2</sup> Le résultat attendu est le résultat de la « High level gentamicine » (qu'il convient de tester en cas de recherche de la sensibilité des entérocoques à la gentamicine); néanmoins pas tous les laboratoires ont testé la sensibilité « high level ».

<sup>3</sup> Deux laboratoires ont mentionné que, vu la résistance, cette souche serait en routine envoyée à un laboratoire de référence pour confirmation de l'identification et/ou de l'antibiogramme.

<sup>4</sup> 1 laboratoire a fourni la réponse suivante: « Le résultat de la détermination de sensibilité à l'ampicilline est R ou S selon la méthode utilisée; la communication avec le clinicien est nécessaire. Le choix de l'antibiotique dépendra entre autres de la cause de la bactériémie »

<sup>5</sup> Sous "\*" nous avons groupé les réponses suivantes pour la gentamicine:

- 1 laboratoire envoie ce germe pour cet antibiotique
- 1 laboratoire a répondu « low level resistance »
- 2 laboratoires n'ont pas répondu de résultat final
- 3 laboratoires ont mentionné qu'il faut tester la « High level gentamicine » (dont ils ne disposent pas dans leur laboratoire)
- 13 laboratoires ont répondu qu'une synergie avec les pénicillines (ou des antibiotiques qui agissent contre la paroi bactérienne) est possible si ces antibiotiques sont également sensibles (certains laboratoires ont mentionné que ce n'était pas le cas pour la souche actuelle ; 1 laboratoire a mentionné que pour la teicoplanine par contre c'était bien le cas)

<sup>6</sup> Sous "\*" nous avons groupé les réponses suivantes pour la vancomycine:

- 1 laboratoire a répondu que le résultat était « non-interprétable » mais que l'on doit disposer de la « vanco 5 » pour ce test
- 1 laboratoire a obtenu des résultats différents avec la méthode des disques ("I") et le milieu vancoscreen ("R") et a conclu qu'une détermination de la CMI est nécessaire

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.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon CLSI pour l'échantillon M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	33 (36)	10	12	6 - 20	7	-	29
Gentamicine <sup>1</sup>	8 (8)	10	17.5	10 - 24	19	1	7 <sup>2</sup>
	15 (15)	120	23	15 - 29	3	-	5 <sup>3</sup>
Vancomycine	30 (32)	30	12.5	6 - 16	12	1	2
Teicoplanine	8 (9)	30	19	16 - 22	-	2 <sup>2</sup>	30
					8	-	1

<sup>1</sup> Même si pour les entérocoques l'utilisation des disques « High level gentamicine » est conseillée, il y a 8 laboratoires qui ont néanmoins déterminé la résistance avec un disque avec une charge de 10 µg.

<sup>2</sup> 2 laboratoires ont fourni une réponse « R » pour la détermination avec le disque de 10 µg mais ont mentionné que la détermination doit être effectuée avec la « high level gentamicine »; il est à mentionner également qu'un 1 laboratoire a mentionné "R si pas d'association en vivo"

<sup>3</sup> 1 de ces laboratoires est celui qui a obtenu un résultat "I" avec la méthode des disques et "R" avec le milieu vancoscreen et a conclu qu'une détermination de la CMI est nécessaire

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	51 (63)	33	19	9 - 27	24 <sup>3</sup>	4	35	-
Amoxicilline	4 (4)	30	25	23 - 27	3	-	1	-
Gentamicine <sup>1</sup>	(71)				57	2	5	7 <sup>4</sup>
	18 (18)	40	23	17 - 26	12	1	3	2 <sup>5</sup>
	46 (49)	250	28	20 - 40	43	1	1	4 <sup>6</sup>
Vancomycine <sup>2</sup>	(69)				2	3	59	5 <sup>7</sup>
	52 (54)	5	10	9 - 15	-	-	50	4 <sup>8</sup>
	8 (8)	70	15.5	6 - 17	2	2	3	1 <sup>9</sup>
Teicoplanine	39 (47)	60	21	6 - 27	45	1	1	-

<sup>1</sup> Même si pour les entérocoques l'utilisation des disques « High level gentamicine » est conseillée, il y a 18 laboratoires qui ont néanmoins déterminé la résistance avec un disque avec une charge de 40 µg.

<sup>2</sup> Même si pour les entérocoques l'utilisation des disques de vancomycine avec une charge de 5 µg est conseillée, il y a 8 laboratoires qui ont néanmoins déterminé la résistance avec un disque avec une charge de 70 µg.

<sup>3</sup> 1 laboratoire a fourni la réponse suivante: « Le résultat de la détermination de sensibilité à l'ampicilline est R ou S selon la méthode utilisée; la communication avec le clinicien est nécessaire. Le choix de l'antibiotique dépendra entre autres de la cause de la bactériémie »

<sup>4</sup> Sous "\*" nous avons groupé les réponses suivantes pour la gentamicine:  
 - 1 laboratoire a répondu « low level resistance »  
 - 1 laboratoire n'a pas répondu de résultat final  
 - 1 laboratoire a mentionné qu'il faut tester la « High level gentamicine » (dont il ne dispose pas dans le laboratoire)  
 - 4 laboratoires ont répondu qu'une synergie avec les pénicillines (ou des antibiotiques qui agissent contre la paroi bactérienne) est possible si ces antibiotiques sont également sensibles

<sup>5</sup> Il s'agit d'un:  
 - laboratoire qui n'a pas fourni de résultat final  
 - laboratoire qui a mentionné qu'il faut tester la « High level gentamicine » (dont il ne dispose pas dans le laboratoire)

- <sup>6</sup> Il s'agit de 4 laboratoires qui ont répondu qu'une synergie avec les pénicillines (ou des antibiotiques qui agissent contre la paroi bactérienne) est possible si ces antibiotiques sont également sensibles
- <sup>7</sup> Il s'agit de:  
- 4 laboratoires qui ont mentionné que le résultat de l'E-test est primordial  
- 1 laboratoire qui a répondu que le résultat était « non-interprétable » mais que l'on doit disposer de la « vanco 5 » pour ce test
- <sup>8</sup> Il s'agit de 4 laboratoires qui ont mentionné que le résultat de l'E-test est primordial
- <sup>9</sup> Il s'agit d'un laboratoire qui a répondu que le résultat était « non-interprétable » mais que l'on doit disposer de la « vanco 5 » pour ce test

Etant donné que 38% des utilisateurs des disques Rosco ont obtenu un résultat "S", la compagnie International Medical (distributeur belge de ces disques) a demandé quelques exemplaires de cette souche et les a envoyé pour un examen plus approfondi au siège général. La compagnie Rosco nous a fourni la réponse suivante :

"The CLSI recommends MICs to be performed as broth dilution or agar dilution. Due to the poor stability of ampicillin in liquid media (broth), agar dilution methods are preferred for performing MICs with this antimicrobial. Our results using ampicillin agar dilution showed an MIC of 8 µg/ml against ampicillin for strain M/2090. In our test were included strains with known ampicillin MICs as Control Strains.

The normal distribution of enterococci have MIC's in the interval 0.25-2 µg/ml and therefore the tested strain has an elevated MIC, however if the breakpoints from CLSI are followed ( $\leq 8$  µg/ml susceptible/ $\geq 16$  µg/ml resistant) the strain is a borderline strain with MIC= 4-16 µg/ml  $\sim 8$  µg/ml plus/minus one dilution.

Taking into account the mentioned instability of ampicillin in solution, as well as the normal variation of MIC tests (plus/minus one dilution) we may conclude that a method indicating MIC 8 µg/ml as susceptible and 16 µg/ml as resistant, will be difficult to apply, when a borderline strain (such as M2090) is used for testing. We do not understand, why you include borderline strains like M/2090 in your sendings. If the strain is resistant, it has to be demonstrated using official (Reference) MIC tests (such as agar dilution) not using E-test or commercialized machines that give only approximate results. Misinformation may be concluded when using the interpretation result from the majority of participants on a borderline strain.

No matter if the strain is called S or R to ampicillin, MIC= 4-16 µg/ml  $\sim 8$  µg/ml plus/minus one dilution, serious enterococcal infections are not recommended to be treated with ampicillin alone. In our case being a strain isolated from blood, the treatment will be high dosage ampicillin plus gentamicin, because the strain is not HLR to gentamicin. If the clinician receives the result ampicillin R (without MIC value) it is probable, that he will not use ampicillin + gentamicin for treatment that could be unfortunate with strain M/2090 because the strain is vancomycin 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/2090 (*Enterococcus faecium*).

	CMI (mg/l)											Résultats			
	Nombre de résultats	0,125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	>	S	I	R
Ampiciline	15												8	1	6
Gentamicine	4		1	1		2							4	-	-
Vancomycine	46	1	1										-	4	42
Teicoplanine	21	1	9	8	1					1			19	-	2

\* Valeur CMI non mentionnée.

Etant donné que les résultats obtenus avec l'E-test montrent une très grande dispersion, la compagnie Lucron (distributeur belge de ces disques) a été contactée et quelques exemplaires de cette souche ont été envoyés pour un examen plus approfondi à ABBIODISK. Cette dernière firme a déjà effectué quelques tests afin de pouvoir expliquer la différence entre les réponses. Vous trouvez leur réponse ci-dessous :

« Depending on which media and inoculum is used the results varies between the S and R categories. When reading Etest Ampicillin which has a bactericidal mode of action it is very important to select the endpoint at 100% inhibition. Tilting the plate against a good source of light, using transmitted light and/or using a magnifying glass will facilitate reading of hazes and microcolonies. It appears this strain is affected by the MH media brand and inoculum density which gave more or less trailing and this could explain the broad range of MIC results and varying categories. A MIC result could vary by +/- 1 dilution at best on repeated testing which cause category changes between S and R for this particular strain.

The triplicate test result when using the CLSI reference broth microdilution technique was 8 µg/mL, i.e. susceptible which correlate with the Etest results in our laboratory. But again, on repeated testing with other brands of MH broth and other inherent technical variables, the BMD could easily be 16 µg/mL»

Ils effectueront encore plus de tests afin de comprendre le comportement de la souche.

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/2090 (*enterococcus faecium*).

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	*		
Ampiciline	-	-	57	1 <sup>1</sup>	16	43 (58)	-	-	13	-	16	10 (13)
Gentamicine	45	1	-	9 <sup>2</sup>	Voir remarque <sup>3</sup>	26 (55)	12	-	-	1 <sup>6</sup>	Voir remarque <sup>3</sup>	8 (13)
Vancomycine	1	-	54	1 <sup>4</sup>	≥ 32	49 (56)	-	-	13	-	≥ 32	12 (13)
Teicoplanine	56	-	-	1 <sup>5</sup>	≤ 0,5	50 (57)	13	-	-	-	≤ 0,5	12 (13)

<sup>1</sup> 1 laboratoire a mentionné que le résultat de l'E-test est primordial.

<sup>2</sup> 9 laboratoires ont répondu qu'une synergie avec les pénicillines (ou des antibiotiques qui agissent contre la paroi bactérienne) est possible si ces antibiotiques sont également sensibles (1 laboratoire a explicitement mentionné que ceci n'était pas le cas pour la souche actuelle étant donné que les pénicillines sont résistantes)

<sup>3</sup> La majorité des utilisateurs Vitek ont fourni un des commentaires suivants: "HC" (High Concentration), "HL" (High level), SYN ou SYN-S; tous ces commentaires expriment que la synergie est possible.

<sup>4</sup> 1 laboratoire a mentionné que le résultat de l'E-test est primordial.

<sup>5</sup> 1 laboratoire a mentionné que le résultat de l'E-test est primordial.

<sup>6</sup> 1 laboratoire n'a pas fourni de résultat final.

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'ampicilline, 9 laboratoires ont mentionné une dilution  $\geq 32$  mg/l pour Vitek 2 et 1 laboratoire a mentionné la même dilution pour le Vitek 2 compact
- pour la vancomycine un laboratoire a mentionné une dilution  $\leq 1$  mg/l pour Vitek 2
- pour la teicoplanine un laboratoire a mentionné une dilution de 2 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/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	1	-	8
Gentamicine	3	4	1
Vancomycine	-	3	6
Teicoplanine	8	-	-



Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.1.7.

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labs ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	8	>8	8 (8)
Gentamicine	5	-	-	≤ 500	4 (5)
Vancomycine	-	-	7	> 16	7 (7)
Teicoplanine	7	-	-	≤ 1	7 (7)

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.8. à 4.1.9. A ce jour, il n'y a pas assez d'utilisateurs de ces appareils (ou d'utilisateurs qui mentionnent le résultat quantitatif) pour effectuer un traitement statistique utile des résultats quantitatifs. Si le nombre d'utilisateurs augmentait, ce traitement pourrait être effectué.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat			
	S	I	R	*
Ampicilline	-	-	3	1
Gentamicine	2	-	1	-
Vancomycine	-	-	1	2
Teicoplanine	1	-	-	-

\* Dans cette colonne sont repris tous les laboratoires ayant mentionné que le résultat de l'E-test est primordial

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/2090 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	1	-	2
Gentamicine	2	-	1
Vancomycine	-	1	1
Teicoplanine	1	-	-

Il reste à mentionner que:

- 9 laboratoires ont obtenu un résultat « R » avec le milieu Vancoscreen ; 1 de ces 9 est le laboratoire qui avait obtenu un résultat « I » avec la méthode des disques et enverrait la souche pour détermination de la CMI
- 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:

- Ampicilline:
  - ♣ S → I
    - Rosco: 1 labo
  - ♣ I → R
    - Rosco: 1 labo
    - E-test: 1 labo
    - Vitek 2: 1 labo
- Amoxicilline:
  - ♣ S → R
    - Rosco: 1 labo
- Gentamicine
  - ♣ S → I
    - Rosco: 1 labo
    - Vitek 2: 1 labo
  - ♣ S → R
    - Disques en papier: 3 labos
    - Rosco: 1 labo
    - Osiris: 1 labo
    - Sirscan: 1 labo
  - ♣ R → S
    - Rosco: 1 labo
- Vancomycine
  - ♣ S → R
    - E-test: 1 labo
  - ♣ I → R
    - Disques en papier: 2 labos
- Teicoplanine
  - ♣ S → I
    - Rosco: 1 labo
  - ♣ S → R
    - Rosco: 1 labo

Remarque: pour raison de simplification de l'aperçu ci-dessus, nous n'avons repris que les laboratoires ayant répondu un « changement de catégorie » (ex. S → R) et pas ceux qui ont mentionné un changement vers un commentaire (ex. Renvoi à un autre technique, non réponse du résultat final, mention de la synergie,...)

## 4.2. Culture M/4371 (*Acinetobacter baumannii*)

Nombre de participants = 191

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

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	172	1	1	-	169	1 <sup>5</sup>
Amoxicilline <sup>1</sup>	R	6	-	-	-	6	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	177	17	28 <sup>4</sup>	-	127	5 <sup>5,6</sup>
Pipéracilline-tazobactam	I/S	167	54	95	1	16	1 <sup>5</sup>
Céphalosporines 3e génération							
Céfotaxime	R	52	4	10	-	38	-
Cefpodoxime	R	1	-	-	-	1	-
Ceftazidime	S	118	67	47	-	3	1 <sup>5</sup>
Ceftriaxone	I	19	-	13	-	6	-
Céfépime	S/I	8	2	4	-	2	-
"Céphalosporine" <sup>2</sup>		8	2	5	-	1	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	S	132	116	13	-	3	-
Lévofloxacine	S	30	30	-	-	-	-
Moxifloxacine	S	5	5	-	-	-	-
Norfloxacine	S	5	1	3	-	1	-
Ofloxacine	S	21	17	3	-	-	1 <sup>5</sup>
"Quinolone" <sup>3</sup>	S	8	6	1	-	1	-

<sup>1</sup> Un certain nombre de laboratoires ont testé l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

<sup>2</sup> Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine utilisée.

<sup>3</sup> Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

<sup>4</sup> Un laboratoire a fourni la réponse « I » mais a mentionné qu'en routine ce résultat ne serait pas répondu.

<sup>5</sup> Un laboratoire a mentionné la charge, la méthode et le diamètre pour l'échantillon M/4371, mais pas d'interprétation pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la pipéracilline-tazobactam, la ceftazidime et l'ofloxacine.

<sup>6</sup> Il s'agit de:

- le laboratoire mentionné sous le point 5 ci-dessus
- 1 laboratoire qui n'a pas fourni de résultat final
- 1 laboratoire qui a mentionné qu'il n'existe pas de critères du CLSI pour l'amoxicilline-acide clavulanique pour *A. baumannii*
- 1 laboratoire qui a mentionné que l'amoxicilline-acide clavulanique n'est pas un choix thérapeutique pour *A. baumannii*
- 1 laboratoire qui a mentionné que le résultat différait selon la méthode utilisée: « S » avec Rosco et « R » avec Phoenix; en routine ce laboratoire ne fournit pas de résultat de l'amoxicilline-acide clavulanique pour *A. baumannii*; en cas de demande spécifique, le laboratoire répondrait dans le cas actuel « R »

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.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon CLSI pour l'échantillon M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	31 (33)	10	6	6 - 15	-	1	30	2 <sup>1,2</sup>
Amoxicilline-acide clavulanique	16 (27)	20 + 10	12	6 - 16	-	7	19	1 <sup>2</sup>
Pipéracilline-tazobactam	28 (32)	100 + 10	20	7 - 22	14	13	3	2 <sup>2,3</sup>
Céphalosporines 3e génération								
Céfotaxime	11 (12)	30	14	6 - 20	-	5	7	-
Ceftazidime	21 (23)	30	19	17 - 24	19	1	1	2 <sup>2,3</sup>
Ceftriaxone	4 (4)	30	12	6 - 16	-	2	2	-
Céfépime	2 (2)	30	16	13 - 19	1	-	1	-
Quinolones								
Ciprofloxacine	22 (25)	5	23	17 - 33	22	2	-	1 <sup>3</sup>
Lévofloxacine	7 (7)	2	25	23 - 30	7	-	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-	-
Norfloxacine	2 (2)	10	17	16 - 18	-	1	1	-
Ofloxacine	5 (5)	5	22	20 - 26	4	-	-	1 <sup>2</sup>
"Quinolone"								

<sup>1</sup> Un des 2 laboratoires a effectué une détermination avec la méthode des disques mais n'a pas fourni d'interprétation pour cette méthode; il a cependant fourni une interprétation pour le Vitek 2. L'autre laboratoire est celui qui est mentionné ci-dessous sous le point 2.

<sup>2</sup> Un laboratoire a mentionné la charge, la méthode et le diamètre pour l'échantillon M/4371, mais pas d'interprétation pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la pipéracilline-tazobactam, la ceftazidime et l'ofloxacine.

<sup>3</sup> Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'E-test est primordial pour la pipéracilline-tazobactam, la céfotaxime et la ciprofloxacine.

Tableau 4.2.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)				
					S	I	I/R	R	*
Ampicilline	47 (56)	33	11	8 - 30	1	-	-	55	-
Amoxicilline	6 (6)	30	13	11 - 14	-	-	-	6	-
Amoxicilline-acide clavulanique	57 (64)	30 + 15	20	11 - 30	17 <sup>1</sup>	9	-	36	2 <sup>2</sup>
Pipéracilline-tazobactam	45 (48)	100 + 10	22	15 - 28	8	30	1	9	-
Céphalosporines 3e génération									
Céfotaxime	4 (8)	30	20	18 - 21	2	3	-	3	-
Ceftazidime	45 (46)	30	22	15 - 32	36	8	-	2	-
Ceftriaxone	8 (8)	30	16.5	11 - 19	-	5	-	3	-
Céfépime	3 (3)	30	20	17 - 22	1	2	-	-	-
"Céphalosporine"	2 (2)	30	21	20 - 22	1	1	-	-	-
Quinolones									
Ciprofloxacine	33 (37)	10	26	20 - 40	31	3	-	3	-
Lévofloxacine	10 (11)	5	25.6	21 - 31	11	-	-	-	-
Moxifloxacine	3 (4)	5	29	25 - 29	4	-	-	-	-
Norfloxacine	2 (2)	10	15.5	13 - 18	1	1	-	-	-
Ofloxacine	7 (10)	10	24	22 - 27	8	2	-	-	-
"Quinolone"	2 (2)	10	26.5	21 - 32	2	-	-	-	-

<sup>1</sup> 1 laboratoire a mentionné que le résultat différait selon la méthode utilisée: « S » avec Rosco et « R » avec Phoenix; en routine ce laboratoire ne fournit pas de résultat de l'amoxicilline-acide clavulanique pour *A. baumannii*; en cas de demande spécifique, le laboratoire répondrait dans le cas actuel « R »

<sup>2</sup> Il s'agit de:

- 1 laboratoire qui n'a pas fourni de résultat final
- 1 laboratoire qui a mentionné qu'il n'existe pas de critères du CLSI pour l'amoxicilline-acide clavulanique pour *A. baumannii*

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

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

	Nombre de résultats	*	CMI (mg/l)											Résultat						
			> 0,125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 256	S	I	R				
Ampicilline	1										1						-	-	1	
Pipéracilline - tazobactam	3							1	1			1					2	-	1	
Céphalosporines																				
Céftazidime	3				1	1	1										3	-	-	
Ceftriaxone	1										1						-	-	1	
Quinolones																				
Ciprofloxacine	3		1	1		1											2	1	1	

\* Valeur CMI non mentionnée.

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/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

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			*
Ampicilline	-	-	57	≥ 32	51 (57)	-	-	14	-	≥ 32	13 (14)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	3	54	16	31 (57)	-	-	13	1 <sup>1</sup>	16	6 (14)
Pipéracilline-tazobactam	13	41	3	32	22 (57)	3	11	-	-	16,32 et 64	4 (14)
Céphalosporines 3e génération											
Céfotaxime	-	2	20	32 et ≥ 64	10 (22)	-	-	8	-	32	5 (8)
Cefpodoxime	-	-	1	-	- (1)	-	-	-	-	-	-
Ceftazidime	2	33	-	16	31 (35)	-	5	-	-	16	5 (5)
Ceftriaxone	-	-	-	-	-	-	-	1	-	≥ 64	-
Céfépime	-	2	1	16	2 (2)	-	-	-	-	-	1 (1)
«Céphalosporine»	-	4	-	16	3 (4)	-	-	1	-	-	-
Quinolones											
Ciprofloxacine	41	3	-	1	38 (44)	8	4	-	-	1	- (1)
Lévofloxacine	8	-	-	1	8 (8)	1	-	-	-	-	11 (12)
Norfloxacine	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	- (1)
Ofloxacine	3	-	-	1	2 (3)	1	1	-	-	1	1 (2)
«Quinolone»	3	1	1	1	4 (5)	-	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> 1 laboratoire a mentionné que l'amoxicilline-acide clavulanique n'est pas un choix thérapeutique pour *A. baumannii*

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'ampicilline, un laboratoire a mentionné une dilution > 256 mg/l pour le Vitek 2
- pour l'amoxicilline-acide clavulanique, 7 laboratoires ont retrouvé une dilution de 4 mg/l, 12 une dilution de 8 mg/l et 1 une dilution de 32 mg/l avec le Vitek 2 ; pour le Vitek 2 compact 5 laboratoires ont mentionné une dilution de 4 mg/ et 2 une dilution de 8 mg/l
- pour la pipéracilline-tazobactam un laboratoire a mentionné une dilution de 8 mg/l pour le Vitek 2, 15 une dilution de 16 mg/l, 13 une dilution de 64 mg/ et 1 une dilution ≥ 128 mg/l; pour le Vitek 2 compact un laboratoire a mentionné une dilution de 8 mg/l
- pour la céfotaxime un laboratoire a mentionné une dilution de 16 mg/l pour le Vitek 2 et 3 ont mentionné une dilution ≥ 64 mg/l pour le Vitek 2 compact
- pour la ceftazidime 2 participants ont mentionné une dilution de 8 mg/l pour le Vitek 2
- pour la ciprofloxacine 2 participants ont mentionné une dilution de 2 mg/l pour le Vitek 2 ; un laboratoire a mentionné la même dilution pour le Vitek 2 compact

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/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	8
Amoxicilline-acide clavulanique	-	6	4
Pipéracilline-tazobactam	8	1	1
Céphalosporines 3e génération			
Céfotaxime	2	2	-
Ceftazidime	5	-	-
Céfépime	-	-	1
"Céphalosporine"	-	-	1
Quinolones			
Ciprofloxacine	9	1	-
"Quinolone"	1	-	-

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

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labos ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	8	≥16	7 (8)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	1	7 <sup>1</sup>	> 16/8	6 (7)
Pipéracilline-tazobactam	7	1	-	16/4	6 (8)
Céphalosporines 3e génération					
Ceftazidime	5	-	-	8	3 (5)
Ceftriaxone	-	3	-	16	2 (3)
"Céphalosporine"	1	-	-	8	1 (1)
Quinolones					
Ciprofloxacine	4	-	-	≤ 0.5	4 (5)
Lévofloxacine	2	-	-	≤ 1	2 (2)
"Quinolone"	1	-	-	≤ 0.125	1 (1)

<sup>1</sup> 1 laboratoire a mentionné que le résultat différait selon la méthode utilisée: « S » avec Rosco et « R » avec Phoenix; en routine ce laboratoire ne fournit pas de résultat de l'amoxicilline-acide clavulanique pour *A. baumannii*; en cas de demande spécifique, le laboratoire répondrait dans le cas actuel « R ».

En outre 1 laboratoire a mentionné une dilution de 4 mg/l pour la ceftazidime et un autre une valeur de 32 mg/l pour la ceftriaxone.

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

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	6
Amoxicilline-acide clavulanique	-	3	4
Pipéracilline-tazobactam	2	4	1
Céphalosporines 3e génération			
Ceftazidime	4	1	-
Ceftriaxone	-	3	-
Céfépine	1	-	1
Quinolones			
Ciprofloxacine	4	-	-
Lévofloxacine	2	-	-
Norfloxacine	-	-	1
Ofloxacine	2	-	-

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/4371 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	1	1	3
Pipéracilline-tazobactam	2	2	1
Céphalosporines 3e génération			
Ceftazidime	3	2	-
Ceftriaxone	-	2	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	1	1	-
Lévofloxacine	3	-	-

Il reste à mentionner que :

- 1 laboratoire a mentionné que l'*A. baumannii* a une résistance naturelle contre l'ampicilline et l'amoxicilline-acide clavulanique et qu'il n'a donc pas testé ces antibiotiques ; deux autres laboratoires ont fourni la même remarque pour chaque fois une des 2 antibiotiques
- 1 laboratoire n'a pas mentionné la méthode utilisée pour tester la sensibilité.



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:

- Ampicilline:
  - ♣ I→R
    - Vitek 2: 1 labo
- Amoxicilline-acide clavulanique
  - ♣ S→I
    - Vitek 2: 1 labo
  - ♣ S→R
    - Disques en papier: 1 labo
    - Rosco: 8 labos
    - Vitek 2: 20 labos
    - Vitek 2 compact: 5 labos
  - ♣ I→R
    - Disques en papier: 2 labos
    - Rosco: 15 labos
    - Vitek 2: 30 labos
    - Vitek 2 compact: 3 labos
    - ATB: 2 labos
    - Osiris: 1 labo
    - Sirscan: 1 labo
- Pipéracilline-tazobactam:
  - ♣ S→I
    - Rosco: 1 labo
    - Vitek 2: 5 labos
  - ♣ I→I/R
    - Rosco: 1 labo
  - ♣ I→R
    - Rosco: 1 labo
    - Vitek 2: 2 labos
- Céfotaxime
  - ♣ I→R
    - Vitek 2: 9 labos
    - Vitek 2 compact: 2 labos
- Ceftazidime
  - ♣ S→I
    - Rosco: 1 labo
  - ♣ S→R
    - Disques en papier: 1 labo
- "Céphalosporine"
  - ♣ S→I
    - Vitek 2: 1 labo
- Ciprofloxacine
  - ♣ S→I
    - Vitek 2: 1 labo
- Ofloxacine
  - ♣ S→I
    - Vitek 2 compact: 1 labo

- "Quinolone"
  - ♣ S→I
  - Vitek 2: 1 labo

Remarque: pour raison de simplification de l'aperçu ci-dessus, nous n'avons repris que les laboratoires ayant répondu un « changement de catégorie » (ex. S →R) et pas ceux qui ont mentionné un changement vers un commentaire (ex. Renvoi à un autre technique, non réponse du résultat final, mention de la synergie,...)

## V. PARASITOLOGIE

### 5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang ont été envoyés.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/6609 :

« Une réfugiée Camerounaise de 24 ans a l'œil gauche gonflé. »

P/6945 :

« Un homme de 68 ans a effectué un voyage aux Philippines en avril 2005 (sans prise de prophylaxie) et a contracté une malaria à *P. falciparum*. Le diagnostic et le traitement avec la malarone® ont été effectués en Belgique. Maintenant (en 2006) il a de la fièvre une semaine après son retour d'un voyage en Egypte. Pendant son voyage en Egypte il n'a pris aucune prophylaxie. »

L'échantillon P/6609 contenait des microfilaires de *Loa loa*.

L'échantillon P/6945 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium vivax*.

Pour l'échantillon P/6609 190 laboratoires ont renvoyé leur réponse; pour l'échantillon P/6945 189 laboratoires l'ont renvoyé.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 56%. 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,...

Nous voudrions également accentuer que, lorsque vous rencontrez différents stades d'évolution d'un parasite dans un échantillon, vous pouvez remplir ces stades d'évolution dans les cases prévues sur le formulaire de réponse ou dans le toolkit; si vous avez trouvé plus de 3 parasites ou stades d'évolution, vous pouvez les mentionner dans le texte libre.

Nous voudrions également répéter que, en cas de doute ou d'endommagement d'un échantillon, il vous est toujours possible de demander un 2<sup>e</sup> échantillon.

## 5.2. Les résultats

### 5.2.1 L'échantillon P/6609

Les 190 laboratoires ont fourni 190 réponses. 12 laboratoires ont répondu "Absence de parasites" et 178 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1.1. Résultats pour l'échantillon P/6609

Résultat	Nombre
<i>Loa loa</i>	157
Absence de parasites	12
<i>Onchocerca volvulus</i>	7
<i>Mansonella perstans</i>	6
<i>Echinococcus multilocularis</i>	3
<i>Plasmodium vivax</i>	2
<i>Wuchereria bancrofti</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i>	1
Total	190

Les deux laboratoires ayant répondu *P. vivax*, ont probablement interverti les 2 échantillons; quelques autres laboratoires ont probablement utilisé d'anciens codes; nous aimerions accentuer que les laboratoires doivent utiliser toujours les codes les plus récents; au cas où vous n'en disposeriez plus, il vous est toujours possible de demander un exemplaire nouveau; en outre, ces codes se trouvent sur notre site web à l'adresse suivante:

[http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external\\_quality/fr/parasitologie.htm](http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm)

et cliquez ensuite sur « codes ». L'utilisation du toolkit élimine ce problème étant donné que vous pouvez y choisir les noms des parasites et les stades d'évolution à partir de listes déroulantes.

Il est à noter que 5 laboratoires ont mentionné explicitement qu'ils avaient un certain doute au sujet de l'identification et qu'en routine ils enverraient cet échantillon à un expert pour confirmation; trois de ces laboratoires ont répondu *Loa loa*, 1 *Wuchereria bancrofti* et 1 *Onchocerca volvulus*. En outre 3 laboratoires mentionnent de n'avoir retrouvé aucun parasite dans l'échantillon, mais qu'ils suspectent la présence d'une filariase sur base des informations cliniques.

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Loa loa* sont repris dans le tableau suivant. Un laboratoire a répondu 2 stades d'évolution différentes.

Tableau 5.2.1.2. Stades d'évolution de *Loa loa* pour l'échantillon P/6609

Stade d'évolution	Nombre de laboratoire
Microfilaires	142
Forme adulte	10
Larve	5
Non précisé	1
<b>Total</b>	<b>152</b>

Tous les laboratoires n'ont pas mentionné la quantité de parasites trouvés. La quantité des *Loa loa* retrouvés dans l'échantillon P/6609 est reprise dans le tableau 5.2.1.3.

Tableau 5.2.1.3. Médiane, minimum et maximum pour *Loa loa* pour l'échantillon P/6609 (exprimés en nombre par lame)

Nombres de labos	Médiane	Minimum	Maximum
140	2	1	15

En outre 8 laboratoires ont répondu 1 à 2, 4 ont répondu 2 à 3, 4 ont répondu 3 à 4; 1 laboratoire a répondu « nombreux » et 1 laboratoire n'a pas fourni de résultat quantitatif.

## 5.2.2 L'échantillon P/6945

Les 189 laboratoires ont répondu 204 parasites. 174 ont répondu la présence d'un parasite et 15 ont répondu la présence de 2 parasites. Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.2.1. Réponses pour l'échantillon P/6945

Parasite	Nombre
<i>Plasmodium vivax</i>	142
<i>Plasmodium falciparum</i>	23
<i>Plasmodium species</i>	14
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	8
<i>Plasmodium malariae</i>	7
<i>Plasmodium ovale</i>	4
<i>Loa loa</i>	2
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	2
<i>Naegleria fowleri</i>	1
<i>Leishmania tropica</i> complexe	1
Total	204

Les 2 laboratoires ayant répondu *Loa loa*, ont probablement interverti les 2 échantillons; quelques autres laboratoires ont probablement utilisé d'anciens codes.

Sept laboratoires ayant répondu *Plasmodium species* et 4 ayant répondu *P. non-falciparum*, ont mentionné qu'il s'agit probablement d'un *P. vivax*, mais qu'une confirmation est nécessaire; en outre 1 des laboratoires ayant répondu *Plasmodium species* a répondu qu'il s'agit probablement de *P. vivax* + *P. falciparum*, un deuxième qu'il s'agit de *P. ovale* et un troisième qu'il s'agit de *P. malariae*.

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Plasmodium vivax* sont repris dans le tableau 5.2.2.2. 16 laboratoires ont répondu un stade d'évolution, 29 laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution, 81 laboratoires ont répondu 3 stades d'évolution et 16 quatre stades d'évolution.

Tableau 5.2.2.2. Stades d'évolution de *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Trophozoïte	132
Gamétocyte	102
Schizonte âgé ou mûr	72
Schizonte jeune	69
Schizonte *	5
Non précisé	1
Total	381

\* Quelques laboratoires n'ont pas fait la distinction entre schizontes jeunes et âgés mais ont répondu 'schizonte'.

Les combinaisons de stades d'évolutions de *Plasmodium vivax*, répondues par les laboratoires, sont reprises dans les tableaux 5.2.2.3. jusque 5.2.2.6.

Tableau 5.2.2.3. Laboratoires ayant répondu 1 stade d'évolution pour *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945.

Stade d'évolution	Nombre
Trophozoïte	11
Gamétocyte	2
Schizonte âgé ou mûr	2
Non précisé	1
<b>Total</b>	<b>16</b>

Tableau 5.2.2.4. Combinaisons de 2 stades d'évolution pour *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945.

Combinaisons de parasites	Nombre
Gamétocyte + trophozoïte	16
Trophozoïte + schizonte âgé ou mûr	8
Gamétocyte + schizonte jeune	1
Gamétocyte + schizonte âgé ou mûr	1
Schizonte jeune + schizonte âgé ou mûr	1
Schizonte jeune + trophozoïte	1
Schizonte + trophozoïte	1
<b>Total</b>	<b>29</b>

Tableau 5.2.2.5. Combinaisons de 3 stades d'évolution pour *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945.

Combinaisons de parasites	Nombre
Gamétocyte + schizonte jeune + trophozoïte	33
Gamétocyte + schizonte âgé + trophozoïte	27
Schizonte jeune + schizonte âgé + trophozoïte	15
Gamétocyte + schizonte + trophozoïte	4
Gamétocyte + schizonte jeune + schizonte âgé	2
<b>Total</b>	<b>81</b>

Tableau 5.2.2.6. Combinaisons de 4 stades d'évolution pour *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945.

Combinaisons de parasites	Nombre
Gamétocyte + schizonte jeune + schizonte âgé + trophozoïte	16
<b>Total</b>	<b>16</b>

Pour *Plasmodium non-falciparum* 1 laboratoire a répondu 1 stade d'évolution, 2 laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution, 1 laboratoire a répondu 3 stades d'évolution et 4 laboratoires ont répondu 4 stades d'évolution. Pour *Plasmodium species* 3 laboratoires ont répondu 1 stade d'évolution, 2 ont répondu 2 stades d'évolution et 9 ont répondu 3 stades. Un aperçu de ces stades est repris dans les tableaux 5.2.2.7 et 5.2.2.8.

Tableau 5.2.2.7. Stades d'évolution de *Plasmodium non-falciparum* pour l'échantillon P/6945

Stade d'évolution	Nombre de laboratoire
Trophozoïte	7
Gamétocyte	7
Schizonte âgé ou mûr	6
Schizonte jeune	4
Total	24

Tableau 5.2.2.8. Stades d'évolution de *Plasmodium species* pour l'échantillon P/6945

Stade d'évolution	Nombre de laboratoire
Trophozoïte	14
Schizonte jeune	9
Gamétocyte	8
Schizonte âgé ou mûr	3
Total	34

Tous les laboratoires n'ont pas mentionné la quantité de parasites trouvés. Pour *Plasmodium vivax* nous présentons pour chaque stade d'évolution la quantité de l'unité la plus utilisée dans les tableaux 5.2.2.9. jusque 5.2.2.12.

Tableau 5.2.2.9 Médiane, minimum et maximum pour les trophozoïtes de *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945 (exprimés en ‰).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
106	9	1	100

En outre 4 laboratoires ont répondu <1, 2 ont répondu 1 à 2, 2 ont répondu 2 à 3, 3 ont répondu 3 à 4 et 10 ont répondu 5 à 10; 1 laboratoire a répondu « nombreux » et 4 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.

Tableau 5.2.2.10 Médiane, minimum et maximum pour les gamétocytes de *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945 (exprimés en ‰).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
65	3	1	50

En outre 9 laboratoires ont répondu <1, 5 ont répondu 1 à 2, 6 ont répondu 2 à 3, 4 ont répondu 3 à 4 et 1 a répondu 5 à 10; 10 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.

Tableau 5.2.2.11 Médiane, minimum et maximum pour les schizontes jeunes de *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945 (exprimés en ‰).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
39	3	1	30

En outre 14 laboratoires ont répondu <1, 3 ont répondu 1 à 2, 4 ont répondu 2 à 3, 2 ont répondu 3 à 4 et 2 ont répondu 5 à 10; 5 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.



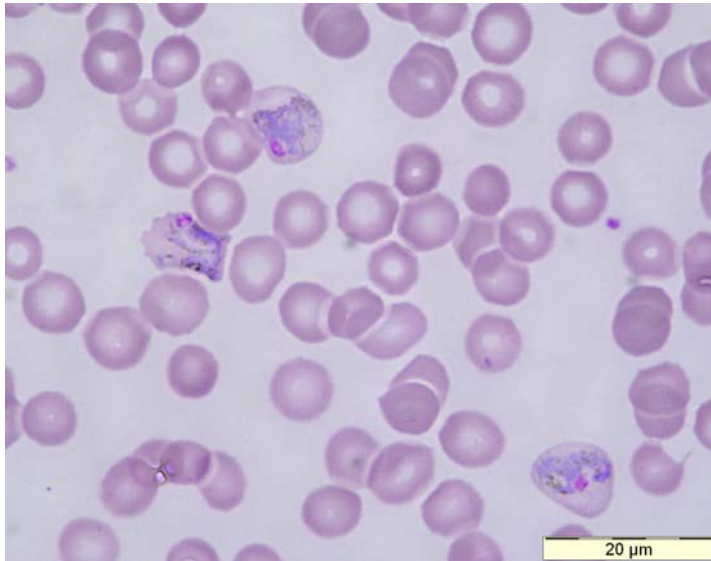
Tableau 5.2.2.12 Médiane, minimum et maximum pour les schizontes âgés de *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/6945 (exprimés en ‰).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
43	5	1	50

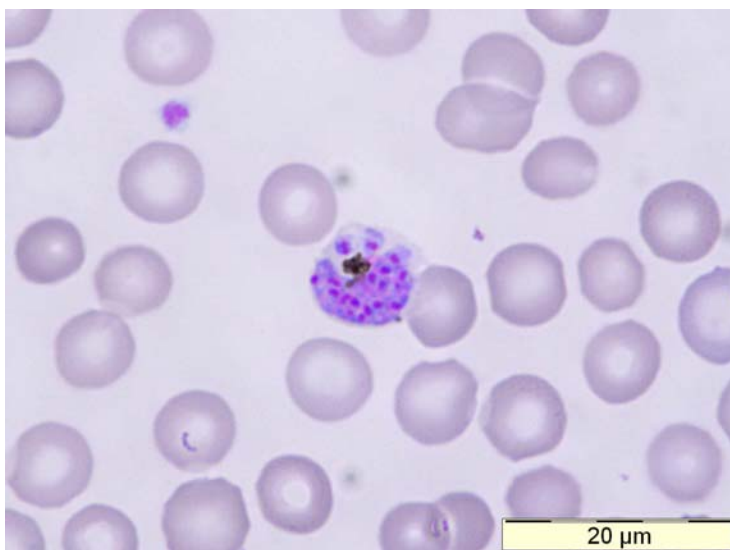
En outre 13 laboratoires ont répondu <1, 1 a répondu 1 à 2, 3 ont répondu 2 à 3 et 3 ont répondu 5 à 10; 9 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.

### 5.3. Commentaire sur les résultats de l'enquête 2006/3 parasitologie

Nous référons également aux rapports globaux 2003/1 (*Loa loa*) et 2005/2 (*Plasmodium vivax*).

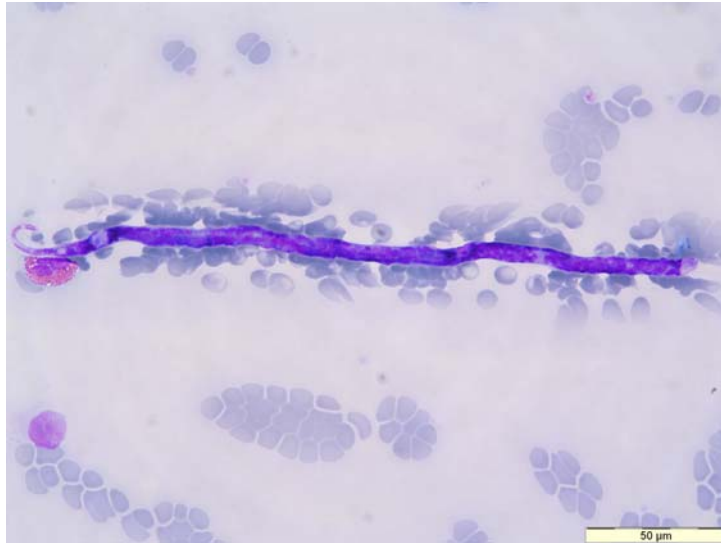


*Plasmodium vivax* P/6945: trois trophozoïtes amoéboides mûrs. Les globules rouges parasités sont élargis (coloration de May Grünwald Giemsa).



*Plasmodium vivax* P/6945: schizonte typique avec 19 merozoïtes et pigment noir accumulé en une masse unique. Le schizonte de *P. vivax* contient 12-24 merozoïtes et remplit la totalité du globule rouge (coloration de May Grünwald Giemsa).

Il y a une forte présomption que le patient n'ait pas acquis son infection à *P. vivax* en Egypte, mais déjà aux Philippines. La présence de *P. vivax* a été confirmée par une PCR, effectuée à l'UZ Gasthuisberg à Louvain.



*Loa loa* P/6609: la microfilaire montre une gaine et la présence de noyaux somatiques jusqu'à la fin de l'extrémité (coloration de May Grünwald Giemsa).



*Loa loa* P/6609: un agrandissement de l'image précédente montre clairement la présence de noyaux somatiques jusqu'à la fin de l'extrémité (coloration de May Grünwald Giemsa).

## REFERENCES

1. Wilcox A. 1960. Manual for the Microscopical Diagnosis of Malaria in Man. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Washington D.C.

## VI. SEROLOGIE

### 6.1 Description des échantillons

3 échantillons ont été envoyés.

Il y avait 1 échantillon lyophilisé, S/1195, pour y effectuer la détermination des anticorps anti-Mycoplasme.

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

« Patient avec infection respiratoire. »

L'interprétation attendue était : « Absence d'anticorps. »

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

L'échantillon S/6979 était positif.

L'échantillon S/6530 était négatif.

## 6.2 Mycoplasme

### 6.2.1. Les participants

163 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 281 tests sur l'échantillon S/1195. 52 laboratoires ont effectué 1 test, 104 laboratoires ont effectué 2 tests et 7 laboratoires ont effectué 3 tests. Un laboratoire qui a effectué le même test (la même trousse) et obtenu le même résultat (qualitatif et quantitatif) a été repris sous les laboratoires ayant effectué 1 test

Les tableaux 6.2.1. jusque 6.2.3. montrent un aperçu des types de tests qui ont été effectués.

Remarque: les tests qui sont mis entre parenthèses dans les tableaux suivants (ex. (IgG+M)) sont utilisés pour indiquer les trousseaux qui déterminent ces anticorps simultanément.

Tableau 6.2.1. Type de tests effectués par les laboratoires ayant effectué 1 test

Type de tests	Nombre de laboratoires
(IgG + M)	37
IgM	15
Total	52

Tableau 6.2.2. Type de tests effectués par les laboratoires ayant effectué 2 tests

Type de tests	Nombre de laboratoires
IgG et IgM	60
(IgG+M) et IgM	36
IgM et IgA	3
(IgG+M) et (IgM+A)	2
IgG et IgA	1
(IgG+M) et IgA	1
2 x (IgG+M)	1
Total	104

Tableau 6.2.3. Type de tests effectués par les laboratoires ayant effectué 3 tests

Type de tests	Nombre de laboratoires
IgG et IgM et IgA	3
(IgG+M) et IgG et IgM	2
(IgG+M) et IgG et IgA	1
IgG et 2 x IgM	1
Total	7

## 6.2.2. Réactifs utilisés

Les tableaux suivants reprennent le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs.

Tableau 6.2.4. Réactifs utilisés pour la détermination des (IgG+M) anti-Mycoplasme pour l'échantillon S/1195

Fabricant	Réactif	S/1195
Fujirebio	Serodia-Myco II	76
Virion/Serion (distributeur Medigal)	Mycoplasma pneumoniae complement fixation	5
Total		81

Tableau 6.2.5. Réactifs utilisés pour la détermination des IgG anti-Mycoplasme pour l'échantillon S/1195

Fabricant	Réactif	S/1195
Alphadia	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	2
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgG	3
Biotest	Anti-Mycoplasma IgG Elisa	5
BMD	IgG	2
BMD/Genbio	Mycoplasma IgG EIA	5
Dade Behring	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgG	2
Diasorin	ETI-MP IgG Elisa	5
Euroimmun (distributeur Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	18
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgG	5
Meridian	Premier Mycoplasma IgG	1
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgG	10
Virion/Serion (distributeur Medigal)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	9
Virotech	Mycoplasma pneumoniae Elisa IgG	1
Total		68

Tableau 6.2.6. Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-Mycoplasme pour l'échantillon S/1195

Fabricant	Réactif	S/1195
Alphadia	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	2
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgM	3
Biotest	Anti-Mycoplasma IgM Elisa	6
	vir Elisa anti-mycoplasm IgM	1
BMD	IgM	2
BMD/Genbio	Mycoplasma IgM EIA	6
Dade Behring	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgM	2
Diasorin	ETI-MP IgM Elisa	5
Euroimmun (distributeur Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	18
Hycor Biomedical	Mycoplasma pneumoniae IgM ELISA	1
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	8
Meridian	Immunocard Mycoplasma Premier Mycoplasma IgM	41 2
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgM	11
Virion/Serion (distributeur Medigal)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	12
Virotech	Mycoplasma pneumoniae Elisa IgM	1
Total		121

Tableau 6.2.7. Réactifs utilisés pour la détermination des IgA anti-Mycoplasme pour l'échantillon S/1195

Fabricant	Réactif	S/1195
Euroimmun (distributeur Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa	2
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgA	7
Total		9

Tableau 6.2.8. Réactifs utilisés pour la détermination des (IgM+A) anti-Mycoplasme pour l'échantillon S/1195

Fabricant	Réactif	S/1195
Diagnosis systems/ Julio Moran Laboratories (Biognost)	Diacheck Mycoplasma pneumoniae IgM/IgA Elisa	2
Total		2



## 6.2.3. Résultats

### 6.2.3.1 Résultats des tests

#### 6.2.3.1.1 (IgG+M)

Les résultats des laboratoires ayant déterminé les (IgG+M) sont repris dans le tableau 6.2.9.

Tableau 6.2.9. Résultats obtenu par les laboratoires pour les (IgG+IgM) anti-Mycoplasme pour l'échantillon S/1195

Résultats	Nombre de laboratoires
Négatif	78
Borderline	1
Borderline/Négatif*	1
Total	80

\* 1 laboratoire a déterminé ces anticorps avec 2 trousse différentes et a obtenu 2 résultats différents

#### 6.2.3.1.2 IgG

65 laboratoires ont obtenu un résultat négatif; 3 ont obtenu un résultat borderline.

#### 6.2.3.1.3 IgM

Tous les 120 laboratoires ont obtenu un résultat négatif; le laboratoire qui a effectué ce test avec 2 réactifs différents, a obtenu 2 fois un résultat négatif.

#### 6.2.3.1.4 IgA

7 laboratoires ont obtenu un résultat négatif; 2 ont obtenu un résultat positif.

#### 6.2.3.1.5 (IgM + A)

Les 2 laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

### 6.2.3.2 Interprétation

Les interprétations sont reprises dans le tableau 6.2.10.

Tableau 6.2.10. Interprétations des laboratoires pour le *Mycoplasma* pour l'échantillon S/1195

Interprétation	Nombre de laboratoire
Absence des anticorps	150
Absence des anticorps IgM <sup>1</sup>	5
Il est impossible de s'exprimer sur la possibilité d'une infection récente sur 1 échantillon avec la méthode de fixation de complément	1
IgM absents; contrôle des IgG sur un nouveau sérum est souhaitable	2
IgM absents; les faibles IgG ne sont probablement pas significatifs	1
Présence des anticorps	4
Total	163

<sup>1</sup> Cette réponse a été fournie par des laboratoires qui n'ont déterminé que les IgM

Les 4 réponses « Présence des anticorps » ont été fournies par les 2 laboratoires ayant trouvé les IgA positifs (et (IgG+M) négatifs), par le laboratoire qui a trouvé les (IgG+M) négatifs et borderline avec deux trousseuses différentes et par un laboratoire qui a trouvé les (IgG+M) et les IgA négatifs.

Les deux laboratoires qui proposent un contrôle des IgG, ont trouvé les IgG borderline (et les IgM négatifs). Le laboratoire qui a qualifié les faibles IgG comme non significatifs, a trouvé les IgM négatifs avec 2 techniques et a trouvé les IgG également négatifs.

Il reste à mentionner qu'un laboratoire a mentionné que pour une interprétation adéquate l'âge du patient peut avoir une importance.

## 6.2.4. Tests sérologiques pour *M. pneumoniae*

### 6.2.4.1. Généralités

Le critère le plus important pour un test sérologique positif est la séroconversion ou une augmentation quadruple du titre des IgG au cours de l'évolution de la maladie. Dans ce but 2 échantillons, prélevés avec un intervalle de 2-3 semaines, sont examinés. Etant donné que les IgM apparaissent normalement plus tôt que les IgG, la recherche des IgM est fréquemment utilisée pour un diagnostic précoce d'une infection aiguë. Il est à noter que les enfants de moins de 6 mois ne produisent le plus souvent pas d'anticorps IgM, que dans une partie des infections primaires et dans les réinfections les IgM n'apparaissent pas toujours, que la production des IgM diminue chez les personnes âgées, et enfin, qu'elles peuvent apparaître tardivement.

Un titre élevé d'IgG unique n'a aucune signification diagnostique dans le cas d'une infection aiguë étant donné que le moment de la séroconversion est inconnu et que la séroconversion a évidemment eu lieu quelque temps avant le début de la maladie. Les titres d'anticorps élevés, dont un seuil doit encore être déterminé sur base des évaluations locales, ne sont utiles que pour les études de prévalence dans les groupes de population.

La signification clinique des IgM et IgG doit être déterminée par des études chez des patients avec une infection documentée, p.ex. une PCR validée effectuée avec les contrôles nécessaires, et où des données précises sont connues sur l'intervalle entre le début de la maladie et le prélèvement du sérum. A l'heure actuelle de pareilles études n'existent pas pour les IgA.

Le tableau ci-dessous montre les résultats des tests sérologiques pour des infections à *Mycoplasma pneumoniae* documentées. L'incidence basse des anticorps IgM dans les sérums de phase aiguë est à noter, de même que l'importance de l'intervalle entre les 2 échantillons de sérum testés pour voir une augmentation du titre.

Référence	Test d'antigène	Type	Intervalle	Résultat	%
2	Agglutination de <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	IgM + IgG	phase aiguë phase de convalescence	6/12 pos 9/12 pos	50 66
3	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> CFT	IgM + IgG	7 - 22 jours	Tous les 15 avec une augmentation du titre sont confirmés par PCR 5/9 avec des titres élevés permanents sont confirmés par PCR	
4	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> EIA 11 antigènes	IgM IgG	1 - 6 jours 7 - 15 jours 1 - 6 jours 3 - 4 semaines	Dépend du test " " "	7 - 25 31 - 69 14 - 80 > 85 %
5	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> EIA 4 antigènes	IgM IgG	1 - 6 jours ≥ 16 jours 3 - 4 semaines		10 - 31 20 - 42 10 - 68

#### CFT : Complement Fixation Test

La sensibilité et la spécificité des tests sérologiques dépendent des antigènes utilisés. Il existe beaucoup de préparations d'antigènes différentes pour *M. pneumoniae*.

Beersma et.al. (4) ont déterminé la sensibilité et la spécificité de 12 tests sérologiques d'EIA et de fixation du complément pour la détermination des *M. pneumoniae* anti-IgM et -IgG chez 27 patients *M. pneumoniae* à PCR positive pour lesquels le début de la maladie était connu. Le tableau ci-dessous montre les résultats les plus importants.

Sensibilité et spécificité diagnostiques des différents tests d'IgM et IgG anti-*M. pneumoniae*

	Spécificité %		Sensibilité %		
	IgM Sérums de contrôle (n = 96)	IgM Phase aiguë (n = 19)	IgM Phase de convalescence (n = 19)	IgG Phase aiguë (n = 19)	IgG Phase de convalescence (n = 19)
AniLabsystems	92	42	84	89	100
Biotest	95	26	53	89	100
CFT	97	32	79		
Diagnosys	94	32	68	74	89
ImmunoCard	79	33	44		
ImmunoWell	96	16	37	42	83
Novum	49	42	79	58	90
Platelia	98	32	47	79	95
Ridascreen	100	21	32	42	85
Serion classic	95	21	53	53	95
SerodiaMycoII	88	37	79		
SeroMP	88	37	79	37	85
Virotech	96	16	53	42	90

19 échantillons de sérums doubles + 8 sérums uniques, dont 3 prélevés <7 jours après le début de la maladie, chez 27 patients à PCR positive.

Age 7-48 ans, médiane 43 ans, 2 patients plus jeunes que 20 ans. L'intervalle entre les échantillons de phase aiguë et de convalescence va de 7-48 jours avec une moyenne de 15.8 jours.

Les conclusions de cette étude sont:

1. Les IgM sont absentes dans 80% des cas pendant la première semaine de la maladie.
2. Tous les systèmes testés sont spécifiques pour les IgM à l'exception de Novum et Immunocard.
3. La sensibilité des IgM de tous les systèmes est basse, même si elle est de plus de 75% pour AniLab, Novum (mais trop peu spécifique) Serodia MII, Sero MP et les CFT mais seulement tardivement.
4. La plupart des tests d'IgG sont acceptables pour la détection d'une séroconversion.
5. La détermination des IgM + IgG augmente la valeur diagnostique des tests pour la détection d'une séroconversion.
6. Plusieurs tests obtiennent des résultats faux positifs chez des sérums positifs en EBV-IgM.

#### 6.2.4.2. L'enquête concernant les anticorps anti-Mycoplasme

Il s'agissait d'un échantillon négatif pour les anticorps anti-*M. pneumoniae*. De très différentes combinaisons de tests ont été effectuées comme le montrent les tableaux 6.2.1., 6.2.2. et 6.2.3.

Comme mentionné ci-dessus le test des IgG+M permet de rechercher plus de séroconversions.

Il n'existe à présent pas assez d'arguments pour la recherche des IgA.

Non seulement différents paramètres ou combinaisons de paramètres ont été utilisés; mais on observe également une très grande variation dans les réactifs utilisés pour la détermination des anticorps IgM et IgG comme le montrent les tableaux 6.2.5 et 6.2.6.

En ce qui concerne l'interprétation, si nous considérons les résultats « borderline » comme négatifs, les résultats de tous les laboratoires avec tous les réactifs sont comparables et négatifs. Des discordances existent seulement pour les IgA.

La plupart des laboratoires ont donc obtenu le résultat attendu et ont donné l'interprétation clinique correcte ; 'absence d'anticorps'; cette interprétation est correcte si les IgM et les IgG ont été déterminés, mais il est préférable de mentionner la nature des anticorps. Les autres interprétations 'Il est impossible de s'exprimer sur la possibilité d'une infection récente sur 1 seul échantillon avec la méthode de fixation de complément', 'IgM absents: contrôle des IgG sur un nouveau sérum est souhaitable' sont également corrects. Le prélèvement d'un deuxième échantillon est souhaitable vu la sensibilité basse de la plupart des tests au début de l'infection. Seuls 4/163 laboratoires ont répondu 'présence d'anticorps' dont 2 avec des résultats positifs en IgA et il n'existe pas encore assez d'arguments pour l'utilisation de ce paramètre.

#### 6.2.4.3. Discussion

Les résultats négatifs sur un seul échantillon qui ne contenait pas d'anticorps anti-*M. pneumoniae* concordent avec la spécificité élevée connue des tests utilisés. Les résultats ne donnent évidemment aucun indice sur la sensibilité des tests.

Cet exercice illustre une fois de plus que pour obtenir une interprétation correcte des résultats la collaboration entre les responsables de la clinique et du laboratoire est nécessaire. L'âge du patient, l'intervalle entre le début des symptômes et le prélèvement, et, le prélèvement d'un deuxième échantillon de sérum, sont des informations indispensables pour une interprétation sensée.

Quand un laboratoire est confronté avec la demande des anticorps anti-*M. pneumoniae*, la stratégie optimale pour fournir une information utile consiste à déterminer les IgM et IgG (ou IgM+IgG) afin d'effectuer un test qui permet un diagnostic précoce bien qu'il soit peu sensible ainsi qu'un test qui devient positif plus tard.

L'information épidémiologique récoltée par l'ISP mentionne tous les résultats des tests sérologiques positifs pour *M. pneumoniae*, ce qui induit sans doute une surestimation importante de l'incidence des infections à *M.pneumoniae*. Il faudrait idéalement mentionner uniquement les augmentations quadruples de titres comme le fait le CDR britannique pour les infections à influenza.

Greet Ieven, Universitair Ziekenhuis Antwerpen, Edegem

## REFERENCES

1. Templeton KE, Scheltinga SA, Graffelman AW, Van Schie JM, Crieland JW, Sillekens P, Van den Broek PJ, Goossens H, Beersma MF, Claas EC. Comparison and evaluation of real-time PCR, real-time nucleic acid sequence- based amplification, conventional PCR and serology for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol. 2003; 41: 4366-4371.
2. Rätty R, Rönkkö E, Kleemola M. Sample type is crucial to the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia by PCR. J Med Microbiol 2005; 54: 287-291.
3. Beersma MFC, Dirven K, van Dam AP, Templeton KE, Claas ECJ, Goossens H. Evaluation of 12 Commercial Tests and the Complement Fixation Test for *Mycoplasma pneumoniae*-Specific Immunoglobulin G (IgG) and IgM Antibodies, with PCR Used as the «Gold Standard». J Clin Microbiol 2005; 43: 2277-2285.
4. K. Loens, D. Ursi , L. Daniëls, H. Goossens, and M. Ieven. Evaluation of 4 serological tests for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* in patients with lower respiratory tract infections. 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 02-04-05/04/2005, Copenhagen, Denmark. (oral presentation)



## 6.3 HIV

### 6.3.1. Les participants

Au total 186 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Plusieurs laboratoires ont effectué plus d'un test de dépistage par échantillon.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests de dépistage effectués par laboratoire.

Tableau 6.3.1. Tests de dépistage effectués pour la détermination du VIH

Echantillon	1 test	2 tests	Total
S/6530 (N labos)	166	20	186
S/6979 (N labos)	158	28	186

En outre 12 participants ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (qui détermine simultanément les anticorps anti-VIH et l'Ag p24) pour l'échantillon S/6530. Pour l'échantillon S/6979 14 laboratoires ont rapporté ce résultat; en outre 5 laboratoires ont déterminé l'Ag p24 sur cet échantillon avec la trousse VIDAS HIV p24 II ; et 2 laboratoires ont effectué un test de confirmation (avec les trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT et Inno-LIA HIV Confirmation).

### 6.3.2. Réactifs utilisés

Le tableau suivant reprend le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs :

Tableau 6.3.2. Réactifs utilisés pour les tests de dépistage du VIH

Fabricant	Réactif	S/6530	S/6979
Abbott	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	45	45
	AxSYM HIV-1/2gO	21	21
	Architect HIV Ag/Ab Combo	18	18
	DETERMINE HIV 1/2	3	3
	Murex HIV-1.2.0.	2	2
	Murex HIV Ag/Ab	2	2
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	2	2
	PRISM HIV O Plus	2	2
Bayer	Centaur EHIV	13	13
	Centaur HIV	1	1
Behring	Enzygnost HIV Integral	3	3
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	2	2
	Enzygnost HIV Integral II	1	1
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	24	30
	VIDAS HIV DUO QUICK	13	15
	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	2	2
	Vironostika HIV Uni-Form II Plus O	1	1
BioRad	Access HIV 1/2 New sur Access <sup>1</sup>	13	13
	Access HIV 1/2 New sur Unicel DxI 800 <sup>1</sup>	10	10
Biotest	HIV Tetra Kit	4	4
Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	15	15
Roche	HIV Combi	9	9
Total		206	214

<sup>1</sup> La trousse Access HIV 1/2 New est produite par BioRad ; ces trousse sont néanmoins utilisées sur les appareils produits par Analis.

### 6.3.3. Résultats

#### 6.3.3.1 Echantillon S/6530

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.3.3

Tableau 6.3.3. Résultats des laboratoires pour les tests de dépistage pour la détermination des anticorps anti-VIH sur l'échantillon S/6530.

Résultat	Nombre de laboratoires
Négatif <sup>1</sup>	180
Borderline/négatif <sup>2</sup>	3
Borderline	2
Positif	1
Total	186

<sup>1</sup> 16 de ces laboratoires ont obtenu des résultats négatifs avec les 2 techniques de dépistage qu'ils ont utilisés. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif avec une technique de dépistage et un résultat borderline avec une autre technique; étant donné que le résultat de l'immunoblot que ce laboratoire a effectué était négatif, le laboratoire a conclu que l'échantillon était négatif.

<sup>2</sup> 3 laboratoires ont obtenu un résultat négatif avec une technique de dépistage et un résultat borderline avec une autre technique.

L'évaluation quantitative de ces résultats n'a pas été effectuée étant donné l'importance limitée sur un résultat négatif.

Les 7 résultats "non-négatifs" ont tous été obtenus avec la trousse AxSYM HIV-1/2g O kit (7/21 résultats des utilisateurs de cette trousse; les autres utilisateurs ont répondu "négatif"). La compagnie Abbott a été contactée à ce sujet; vous trouvez ci-dessus un résumé de leurs résultats et conclusions:

« Returned sample S/6530 was tested with AxSYM HIV 1/2 gO reagent, lot numbers 44046LU00, 45131LU00 and 45523LU00, and generated negative results in all cases (44046LU00: 0.48 S/CO; 5131LU00: 0.40 S/CO and 45523LU00: 0.44 S/CO). Therefore the reactive/borderline results obtained by some customers could not be repeated.

After thaw the sample was turbid and could be clarified by centrifugation at 10,000 x g for 10 minutes (According Package Insert). Therefore, it is highly likely that the received potential false positive/borderline results were generated due to sample handling, which was not according to Package Insert. This is also supported by the fact that this sample was tested non-reactive also by the majority of other Belgian customers (14 out of 21 customers).

According to the Package Insert, each specimen that requires repeat testing or that has been frozen and thawed must be transferred to a centrifuge tube and centrifuged at a Relative Centrifugal Force (RCF) of at least 10,000 x g for 10 minutes. Transfer clarified specimen to a sample cup or secondary tube for testing.

If, after initial separation, specimens contain clots, red blood cells or particulate matter, then they must be clarified by centrifugation of at least 10,000 x g for 10 minutes prior to testing to avoid inconsistent results.

All specimens that are reactive on initial testing should be retested in duplicate after centrifugation at an RCF of at least 10,000 x g for 10 min. If neither of the retested results is reactive, the specimen must be considered negative for HIV-1 and/or HIV-2 antibodies. If either test is reactive, the sample must be considered repeatedly reactive for HIV-1 and/or HIV-2 antibodies by the criteria of AxSYM HIV 1/2 gO. »

Les résultats de la détermination de l'Ag p24 étaient tous négatifs.

Cinq laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un laboratoire de routine: le laboratoire ayant obtenu un résultat positif, les 2 laboratoires ayant effectué un test qui était borderline et 2 des laboratoires ayant obtenu un résultat borderline et un résultat négatif; le troisième laboratoire ayant obtenu ces 2 résultats différents n'enverrait pas l'échantillon.

### 6.3.3.2 Echantillon S/6979

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif avec les tests de dépistage; les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats positifs avec ces techniques.

Pour les troussees avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans le tableau 6.3.4.

Tableau 6.3.4. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les anticorps anti-VIH pour l'échantillon S/6979 pour les troussees les plus utilisées.

Trousse	Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	18	177.73	89.28	241.67
AxSYM HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	45	39.28	25.00	51.90
AxSYM HIV-1/2g O (index S/CO)	21	10.70	6.82	38.92
Centaur EHIV (index)	13	35.91	28.80	48.50
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	13	20.68	16.22	26.37
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	22	8.18	6.49	18.64
Access HIV 1/2 new sur Access (index S/CO)	12	185.20	141.69	242.48
Access HIV 1/2 new sur Unicef DxI 800 (index S/CO)	10	184.80	77.20	222.12
VITROS immunodiagnostic products anti HIV 1+2 (index)	14	27.55	18.90	31.20
HIV Combi (index)	9	116.40	101.80	126.20

Les laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA, ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé »; renseignements pris chez la firme bioMérieux, il s'est avéré que cette réponse n'est pas égale à un résultat négatif, mais que la réponse « ND » signifie qu'une forte réaction pour la détermination des anticorps peut empêcher la détermination de l'Ag p24 et qu'une conclusion adéquate au sujet de cet antigène est impossible ; l'ag p24 doit donc être déterminé avec une autre technique.

Les résultats de la trousse VIDAS HIV p24 II était tous positifs avec une valeur de >400 pg/ml.

Les résultats des troussees GENELABS HIV 2.2 BLOT et Inno-LIA HIV Confirmation étaient positifs.

183 laboratoires enverraient en routine l'échantillon à un Laboratoire de Référence Sida. Les 3 laboratoires qui ne l'enverraient pas, sont les laboratoires ayant effectué les tests de confirmation ou ont mentionné être un LRS eux-mêmes.

Un laboratoire a mentionné que les tests de confirmation devraient être effectués sur un nouveau prélèvement.

#### 6.3.4. Discussion des résultats de l'enquête

10 à 15% des participants (n = 186) utilisent 2 tests différents d'ELISA.

20% des laboratoires utilisent l'Axsym HIV Ag/Ab Combotest.

Environ la moitié des laboratoires (53%) utilisent déjà un test duo (Ac + Ag) mais il n'y a que 1 à 2 % d'entre eux qui rapportent le résultat du test d'Ag dans le cadre du contrôle qualité.

Les 7 résultats « non-négatifs » sur l'échantillon négatif ont tous été obtenus avec la trousse la plus utilisée; Abbott a examiné ce problème (cfr. ci-dessus) ; finalement ceci ne pose aucun problème après exécution d'un test de confirmation.

En général nous pouvons conclure qu'il existe une bonne sensibilité pour tous les tests de dépistage.

En comparaison avec les années précédentes, le nombre des laboratoires qui envoient pas les échantillons avec un résultat de dépistage positif à un Laboratoire de Référence Sida pour confirmation a fortement diminué. Nous conseillons vivement aux quelques laboratoires qui ne le font pas encore de changer leur mode de travail. La tâche des LRS n'est pas seulement de confirmer ou exclure une infection d'HIV mais également, en collaboration avec l'ISP, de noter de façon anonyme les nouvelles personnes infectées. Ceci permet de suivre et rapporter adéquatement l'épidémiologie de l'HIV en Belgique.

**Document rédigé par le Dr. Sc. K. Fransen, responsable du LRS d'Anvers**