

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 01/2008

**Microbiologie**

*Aspergillus niger*  
*Haemophilus influenzae*  
*Streptococcus agalactiae*  
*Escherichia coli*  
Coloration de Gram: coques à Gram positif (*S. pneumoniae*)

**Parasitologie**

*Babesia microti*  
Négatif

**Sérologie**

EBV  
CMV

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/01/08/Micro./Sero./Para. 69**

## 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. 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. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31  
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be  
Apr. 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@uzbrussel.be  
Dr. PIERARD Denis : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15  
: e-mail : denis.pierard@uzbrussel.be  
Dr. REYNDERS Marijke : 02/535.45.35 – FAX : 02/535.46.56  
: e-mail : marijke\_reynders@stpierre-bru.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

---

## Table des matières

---

I.	Remarques générales .....	1
II.	Identifications .....	2
2.1	Culture M/4438 <i>Haemophilus influenzae</i> .....	2
2.2	Culture M/7223 <i>Aspergillus niger</i> .....	8
2.3	Culture M/7828 <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	12
2.4	Culture M/4040 <i>Escherichia coli</i> .....	19
III.	Résultats des identifications .....	20
IV.	Antibiogramme .....	22
V.	Parasitologie .....	31
5.1	Les échantillons .....	31
5.2	L'échantillon P/8046 .....	32
5.3	L'échantillon P/8060 .....	34
VI.	Sérologie .....	40
6.1	Description des échantillons .....	40
6.2	EBV : les résultats .....	41
6.3	CMV : les résultats .....	49
6.4	Les interprétations .....	56
6.5	Commentaires .....	61
VII.	Cas théorique .....	66
7.1	Les résultats .....	66
7.2	Commentaire .....	72

## I. REMARQUES GENERALES

Pour la 1<sup>e</sup> enquête du cycle 2008 (enquête 2008/1), le matériel suivant a été expédié le 14 janvier 2008

- 1.1. **Un échantillon clinique et 3 échantillons lyophilisés** pour identification et **1 frottis** pour coloration de Gram.  
Pour 1 échantillon, les tests de sensibilité ont été demandés et pour 1 échantillon le test de  $\beta$ -lactamase.
- 1.2. **Deux frottis sanguins** pour la recherche de parasites.
- 1.3. **Deux échantillons de plasma** pour la recherche des anticorps de l'EBV et de la CMV.

### NOMBRE DES PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

- |    |  |       |
|----|--|-------|
| 1. | Pour les identifications et antibiogrammes | : 183 |
| 2. | Pour la parasitologie                      | : 182 |
| 3. | Pour la sérologie                          |       |
|    | EBV  | : 164 |
|    | CMV  | : 179 |

Nous remercions Marc Lontie, Pierrette Melin et Danielle Swinne pour les photographies de ce rapport global.

## II. IDENTIFICATIONS

### 2.1. Culture M/4438 (*Haemophilus influenzae*)

#### **Introduction et importance clinique**

Les infections à *Haemophilus influenzae* du groupe b sont devenues rares dans les pays à forte couverture vaccinale utilisant les vaccins conjugués de bonne qualité et avec le schéma d'administration optimal (1). Néanmoins, l'espèce *H. influenzae*, reste la plus fréquente du genre *Haemophilus* en clinique humaine et reste un pathogène important, qu'elle produise une capsule (rôle antiphagocytaire majeur) ou non (souches dites non typables NT) (2, 3).

La résistance aux antibiotiques doit être évaluée régulièrement, en particulier la résistance aux  $\beta$ -lactames, aux tétracyclines, aux macrolides et kétolides, oxazolidones et fluoroquinolones. En effet ces antibiotiques sont souvent utilisés de façon empirique et sous formes orales dans les infections de type respiratoire et les  $\beta$ -lactames restent la clé de voûte des traitements des infections invasives. Il est également important de pouvoir détecter d'éventuelles nouvelles formes de résistance et leur dissémination. Dans de nombreux pays Européens, au Canada et aux USA, depuis 2 décennies, la prévalence de la résistance à l'ampicilline par production de  $\beta$ -lactamase est restée assez stable, mais avec de très importantes variations selon les régions et le site d'isolement des souches (1, 2). Les souches BLNAR ( $\beta$ -lactamase négative ampicilline résistant) sont porteuses de mutations dans le gène *ftsI* qui code pour le domaine transpeptidase de PBP3 (cloisonnement lors de la synthèse du peptidoglycan) (4). Ces mutations provoquent une chute d'affinité de PBP3 pour les pénicillines et le niveau de la MIC est en partie lié aux types et au nombre des mutations ; les BLPACR sont à la fois porteuses de mutations dans *ftsI* et productrices de  $\beta$ -lactamase. En raison de difficultés méthodologiques et des variations géographiques, la fréquence réelle de ces souches, pourtant connues depuis le début des années 80, est mal estimée. L'hétérogénéité des définitions pose problème et il est interpellant d'apprendre que 50% des BLNAR espagnoles, définies par la présence de mutations dans le gène *ftsI* ont une MIC  $\leq 1$   $\mu\text{g/ml}$  à l'ampicilline et que 100% des souches avec  $\geq 1$   $\mu\text{g/ml}$  ont une PBP3 modifiée (5). Cette étude a permis de détecter un groupe particulier de BLNAR présentant en plus des MIC très élevées à la céfotaxime et au céfixime (MIC<sub>90</sub> de 4  $\mu\text{g/ml}$ , alors que dans les autres groupes les MIC<sub>90</sub> sont respectivement 0,12  $\mu\text{g/ml}$  et 0,25  $\mu\text{g/ml}$ ). Dans cette étude, ce dernier groupe représente 4% des derniers isolats de BLNAR (2005-2006), a un caractère clonal plus marqué que les autres et est également restreint à des zones géographiques spécifiques, permettant de craindre leur future dissémination. Les souches décrites en France (2) et en Espagne (3), sont très différentes de celles décrites au Japon où leur prévalence est très élevée et sans doute différentes de celles décrites aux USA où leur prévalence est  $<5\%$ . Il semble difficile aujourd'hui de cantonner ces souches dans un rôle de figuration, même si la connaissance concernant leur impact dans les échecs thérapeutiques est encore embryonnaire.

Il paraît dès lors toujours important que les laboratoires de Microbiologie soient capables d'isoler et d'identifier ces bactéries et de tester la sensibilité aux antibiotiques de façon correcte et qu'ils puissent bénéficier d'un service à caractère national servant de laboratoire de référence (1).

#### **Microbiologie et typage**

Le genre *Haemophilus* est un petit bacille à Gram négatif qui fait partie de la famille des *Pasteurellaceae*, Division *proteobacteria*, sous-division  $\gamma$ , sous-groupe 2 (1).

### **Méthodes d'isolement et identification phénotypique**

Les cultures traditionnelles se font sur des milieux enrichis et frais (gélose chocolat) en atmosphère contenant 5-10% de CO<sub>2</sub> à 35-37°C. L'identification phénotypique reste la méthode de choix (1).

L'identification au niveau de l'espèce de la souche envoyée dans le cadre du 1<sup>er</sup> Contrôle de Qualité Externe en 2008 (M/4438) provenant d'un pus d'oreille est excellente: 98,9% (181/183, 2 laboratoires ont annoncé un biotype I et 1,1% des laboratoires (2/183) ont répondu *H. parainfluenzae*). Ce niveau est comparable à ceux de 2004 et 2001 : 2004 (M/4918) 98,6% d'identification correcte (204/207), 2001 (97%)

### **Typage**

Le typage traditionnel de la capsule consiste par une méthode immunologique (agglutination sur lame) est coûteux et peu fiable. Seules les méthodes moléculaires permettent de différencier les types de capsules et les NT entre-elles (1, 6).

La souche M/4438 est une souche de biotype I, non typable en sérologie car polyagglutinable.

### **Sensibilité à l'antibiotique**

La production de  $\beta$ -lactamase, détectée par l'hydrolyse de la nitrocéfine, est le principal mécanisme de résistance actuellement impliqué dans les échecs thérapeutiques des  $\beta$ -lactames sensibles à l'hydrolyse des  $\beta$ -lactamases d'*H. influenzae*. TEM-I est la plus fréquente, ROB-1, occasionnellement ratée par la l'hydrolyse de la nitrocéfine est rare en Europe (7, 8).

Un grand nombre de recommandations concernant les milieux et les critères de sensibilité ont été publiées (9). Le milieu HTM est recommandé par le CLSI et le centre de référence *Haemophilus* (1, 10, 11). L'antibiogramme de type Kirby-Bauer (DD) est réalisé sur agar HTM frais (Beckton Dickinson). L'inoculum doit être soigneusement ajusté sur le standard McFarland de 0.5 et les boîtes incubées 20 à 24 h à 35°C en 5% CO<sub>2</sub>. Les souches ATCC 49766 (sensible) et 49247 BLNAR ( $\beta$ -lactamase négative Ampicillin résistant) doivent être testées en parallèle (12). La détermination de la MIC par la méthode de dilution en agar et surtout la microdilution en bouillon (HTM) sont les méthodes de référence mais difficiles à réaliser en routine (10, 11). Le populaire E-test seul ne permet pas une détermination fiable de la MIC des souches BLNAR et BLPACR (produisant à la fois une  $\beta$ -lactamase et porteur de mutations) (13).

Les critères de sensibilité et résistance (breakpoints) sont toujours sujets à controverses. Excepté la production de la  $\beta$ -lactamase, les critères proposés sont plus des critères microbiologiques, de grand intérêt épidémiologique, que des critères cliniques, immédiatement utiles à la prise en charge individuelle du patient. Le développement de critères basés sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique est prometteuse à ce sujet (9).

Les limites de sensibilité et résistance par la méthode de DD et détermination de la MIC selon le CLSI ne sont pas déterminées pour l'amoxicilline et sont extrapolées à partir des critères prévus pour l'ampicilline; les critères pour l'amoxicilline-acide clavulanique sont S si le diamètre est  $\geq 20$  mm et MIC  $\leq 4/2$   $\mu\text{g/ml}$  ; R si le diamètre est  $\leq 19$  mm et MIC  $\geq 8/4$   $\mu\text{g/ml}$  (12). Certains auteurs ont tenté d'utiliser des disques à faible concentration d'ampicilline (2  $\mu\text{g}$ ) et d'amoxicilline-clavulanique (3  $\mu\text{g}$ ) pour améliorer la détection des BLNAR, mais les résultats ne sont pas toujours satisfaisants (14). Dans cette étude toute récente, seule la détermination des MIC en microdilution est appropriée pour détecter les BLNAR et les BLPACR et des critères de sensibilité sont proposés, à confirmer par des études ultérieures : pour l'amoxicilline (pleinement

sensible si  $MIC \leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ ) et pour le clavulanate-amoxicilline (pleinement sensible si  $MIC \leq 0,5 \mu\text{g/ml}$  pour amoxicilline et clavulanate-amoxicilline) ainsi qu'un algorithme décisionnel intéressant basé sur une suspicion de mutations au niveau des PBP3 dès que la MIC à l'amoxicilline (ou clavulanate-amoxicilline si la souche est  $\beta$ -lactamase +) est de  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$  (14). Dans cette étude qui inclut des souches à bas niveau de MIC, la méthode de DD montre un chevauchement complet des zones et l'E-test sous-estime souvent la MIC à l'amoxicilline, au contraire de l'étude de Billal pour l'ampicilline (13).

En Belgique, parmi les souches envoyées au centre de référence, la résistance par production de  $\beta$ -lactamase ( $\beta+$ ), assez stable (tableau) et s'inscrit dans les fréquences récemment publiées (2, 5, 7, 9).

Année	Invasives		Non invasives		Site inconnu			
	Total $\beta+$	$\beta+\%$	$\beta+$	$\beta+\%$	$\beta+$	$\beta+\%$		
1994				28,8		23		
2000	24/100	24	7/44	16	17/56	30		
2002	13/81	16	9/65	14	3/14	21	2	1
2005	27/127	21,3	14/69	20,3	13/57	22,8	1	0
2007	22/147	15	9/66	13,6	13/81	16	1	0

Les souches invasives ne sont pas vraiment comparables aux souches non invasives car il ne s'agit pas de souches consécutives (1).

La résistance à l'ampicilline sans production de  $\beta$ -lactamase, par modification de PBP3, est sans doute rare en Belgique, mais comme mentionné dans l'introduction, leur définition sans détermination des mécanismes moléculaires est difficile et les méthodes à ce jour utilisées au centre de référence ne permettent pas de les détecter de façon optimale [1 seule souche, intermédiaire à l'ampicilline par DD en 2000, aucune en 2002 (les 2 souches intermédiaires par la méthode des disques se sont révélées sensibles ( $0,19 \mu\text{g/ml}$  par la méthode E-test)), 1 souche isolée d'hémocultures en 2003 (MIC en E-test  $1,5 \mu\text{g/ml}$ ), 3 souches en 2004 NT (MIC par E-test de  $0,5 \mu\text{g/ml}$  et  $2 \mu\text{g/ml}$  pour 2 souches), aucune en 2005 et 4 en 2007, toutes NT et MIC S ( $0,38$  et  $1 \mu\text{g/ml}$ ) ou I ( $1,5$  et  $2 \mu\text{g/ml}$ )].

La souche du Contrôle de qualité est résistante à l'ampicilline par production de  $\beta$ -lactamase que la majorité des participants ont détectée (177 /183, 96.7%), un laboratoire n'a pas fourni de réponse et 5 ont répondu négatif (0,3%). Trois laboratoires ayant répondu  $\beta$ -lactamase négative nous ont fourni leur méthode: 2 n'utilisaient pas la céfinase; plusieurs utilisaient des variations de zones par l'influence de l'acide clavulanique ce qui n'est pas approprié pour la détection de  $\beta$ -lactamase, même si l'augmentation de la zone d'inhibition par l'acide clavulanique comparé à la zone d'inhibition de l'amoxicilline ou de l'ampicilline peut être expliquée par la présence d'une  $\beta$ -lactamase de type TEM.

Les antibiotiques sont testés en DD par le centre de référence (papiers filtres Oxoid) sur HTM (Becton-Dickinson) et ont donné les résultats suivants avec la souche du Contrôle de Qualité: ampicilline (10 à g - 20 mm I), céfuroxime (30 à g- 33 mm S), ciprofloxacine (5 à g-42 mm S), tétracycline (30 à g - 33 mm S), cotrimoxazole (32 mm S), azithromycine (15 à g-21 mm S) et une MIC de  $3 \mu\text{g/ml}$  (I) par la méthode de E-test (utilisée depuis 2000, pour tester les souches à problème).

### **Recommandations**

**La détection de la  $\beta$ -lactamase reste le seul test à réaliser en routine par l'hydrolyse de la nitrocéfine (céfinase). Aucune autre méthode ne convient pour cette détection. La DD et l'E-test présentent d'importantes limites : si elles sont réalisées, elles doivent se faire sur milieu HTM frais en standardisant l'inoculum.**

L'augmentation de la résistance aux  $\beta$ -lactames par modification des PBP3 dans des pays européens proches doit inciter à récolter les données de discordances cliniques et microbiologiques et l'envoi de ces souches au laboratoire de référence.

Le laboratoire de référence mettra sur pied à bref délai une évaluation de la sensibilité à l'ampicilline par la méthode de dilution en bouillon HTM.

F. Crockaert, Centre de référence des Haemophilus, Laboratoire de la Porte de Hal, Bruxelles



## REFERENCES

1. Crokaert F. 2004. Evaluation externe de la qualité des analyses en Biologie Clinique, enquête, Microbiologie 01/ 2004 (M/4918).
2. Dabernat, H., C. Delmas, M. Seguy, R. Pelissier, G. Faucon, S. Bennamani, and C. Pasquier. 2002. Diversity of beta-lactam resistance-conferring amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 of *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:2208-2218.
3. García-Cobos, S., J. Campos, E. Lázaro, F. Román, E. Cercenado, C. García-Rey, M. Pérez-Vázquez, J. Oteo, and F. de Abajo. 2007. Ampicillin-resistant non- $\beta$ -lactamase-producing *Haemophilus influenzae* in Spain: recent emergence of clonal isolates with increased resistance to cefotaxime and cefixime. *Antimicrob Agents Chemother.* 51: 2564-2573.
4. Clairoux, N., M. Picard, A. Brochu, N. Rousseau, P. Gourde, D. Beauchamp, T. R. Parr, M. G. Bergeron, and F. Malouin. 1992. Molecular basis of the Non  $\beta$ -lactamase-mediated resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics in strains of *Haemophilus influenzae* isolated in Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:1504-1513.
5. Pérez-Trallero, E., C. García de la Fuente, C. García-Rey, F. Baquero, L. Aguilar, R. Dal-Ré, J. García-de-Lomas, and the Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. 2005. Geographical and ecological analysis of resistance, coresistance, and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1965-1972.
6. Maaroufi Y, De Bruyne JM, Heymans C, Crokaert F. Real-time PCR for determining capsular serotypes of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol.* 2007 Jul;45(7):2305-8.
7. Dabernat H., M.-A. Plisson-Sauné, C. Delmas, M. Seguy, G. Faucon, R. Pelissier, H. Carsenti et al. 2003. *Haemophilus influenzae* carriage in children attending day care centers: a molecular epidemiologic study. *J. Clin. Microbiol.* 41:1664-1672.
8. Livermore DM.  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8: 557-58.
9. Tristram, S., Jacobs M.R. and Appelbaum P.C. 2007. Antimicrobial Resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clinical Microbiological Reviews.* 20: 368-389.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2002. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eleventh informational supplement M100-S12. NCCLS, Wayne, PA, USA.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Seventh edition. Approved Standard M7-A7. NCCLS, Wayne, PA, USA.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing-Seventeenth Edition: Approved Standard M100-S17, NCCLS, Wayne, PA, USA
13. Billal, D. S., M. Hotomi, and N. Yamanaka. 2007. Can the E-test correctly determine the MICs of  $\beta$ -lactam and cephalosporin antibiotics for  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*? *Antimicrob Agents Chemother.* 51:3463-3464.

- 14 García-Cobos S., J. Campos, F. Román, C. Carrera, M. Pérez-Vázquez, B Aracil and J. Oteo. 2008. Low  $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* are best detected by testing amoxicillin susceptibility by the broth microdilution method. *Antimicrob. Agents Chemother.* (in press)

## 2.2. Culture M/7223 (*Aspergillus niger*)

172 des 183 labos (94%) ont correctement identifié l'*Aspergillus niger*. Il ne faut pas s'étonner de ce bon score. La combinaison de la couleur macroscopique noire des colonies (d'où le nom niger) et l'aspect microscopique des «têtes d'*Aspergillus*» permettent habituellement de l'identifier sans problème. Pour cette même raison, il est rare que la souche soit envoyée pour une identification plus précise.

Le genre *Aspergillus* est composé de 184 espèces, dont 40 ont été décrites comme potentiellement pathogènes pour l'homme ou l'animal. Comme les autres membres du genre, *A. niger* est un saprophyte. Cette moisissure est retrouvée en abondance dans l'environnement (1).

Comme mentionné, l'aspect des moisissures permet parfois déjà de différencier les différentes espèces d'*Aspergillus*. La figure 1 présente l'aspect macroscopique des 3 espèces d'*Aspergillus* les plus répandues, *A. fumigatus*, *A. flavus* et *A. niger*.

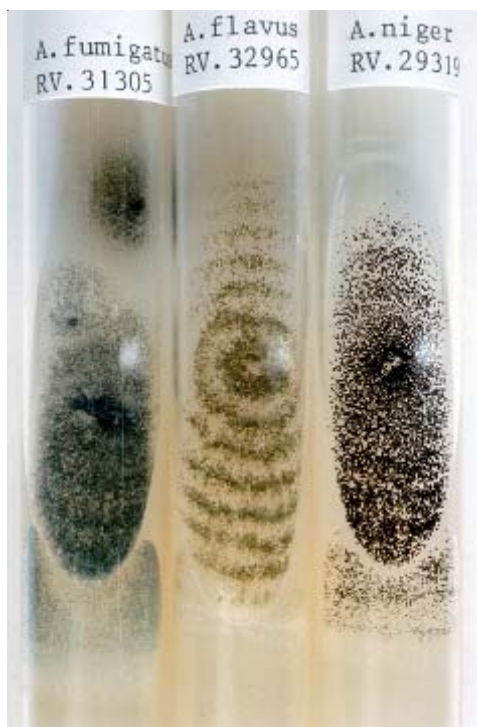


Figure 1. Aspect macroscopique de 3 espèces d'*Aspergillus*.

La différenciation des différentes espèces est complétée par un examen microscopique de la forme et de la taille des vésicules et de l'organisation des cellules conidiogènes, à savoir les metulae et les phialides (2).

La figure 2 est une représentation schématisée des *Aspergillus*. Le conidiophore a une extrémité gonflée, la vésicule, qui porte des cellules conidiogènes. Les phialides sont des cellules avec une ouverture terminale, dans lesquelles sont produites les conidies. S'il n'y a présence que d'une couche de phialides sur la vésicule, on parle d'une organisation unisérielle. Si les phialides sont soutenues par une couche de metulae, l'organisation est bisérielle (en anglais: uniseriate - biseriante).

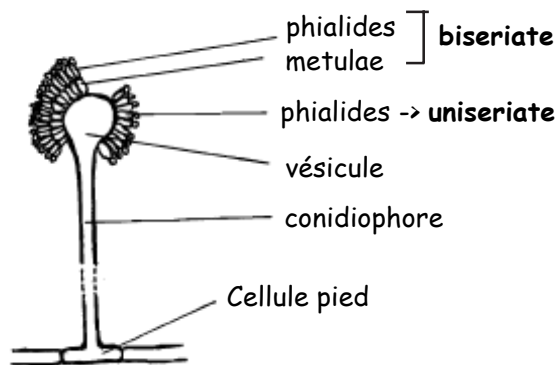


Figure 2. Présentation schématisée des *Aspergillus*

Les colonies noires d'*A. niger* sont composées d'une accumulation dense de conidiophores. Ces conidiophores ont une paroi lisse. Ils peuvent être hyalins (incolores/transparents) ou pigmentés (2). *A. niger* a des vésicules rondes et une organisation bisérielle. Les cellules conidiogènes recouvrent complètement la vésicule (voir figures 3 et 4).

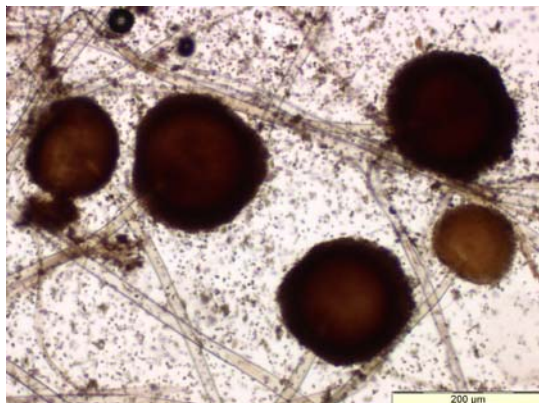


Figure 3.



Figure 4.

Une otite externe est habituellement causée par *Pseudomonas aeruginosa* (swimmers ear) mais d'autres bactéries aérobies peuvent également en être la cause. (3-5). La proportion des champignons impliqués dans les otites varie fortement selon le degré d'humidité et la chaleur, deux éléments qui poussent les hommes à la baignade (3). Le rôle des moisissures et des levures est limité dans les pays avec un climat tempéré comme le nord de l'Espagne (6.9%) (5) et la Norvège (9.3%) (6) mais est considérable dans les pays tropicaux tels que Singapour (62.4%) (7) et l'Inde (66.6%) (8). De toutes les moisissures, *A. niger* est la cause la plus fréquente des otites externes (5, 7, 8).

Souvent, on identifie plus d'un micro-organisme (4, 7). La présence de champignons dans le conduit auditif externe n'est pas une preuve en soi que les plaintes sont dues à ces fungi car il peut exister une colonisation et une présence subclinique.

Dans de rares cas *A. niger* peut causer une otite externe maligne (invasive) (9) chez des patients diabétiques ou ayant un déficit immunitaire. D'habitude cette maladie est également causée par *P. aeruginosa*. Etant donné qu'*Aspergillus* peut également coloniser le conduit auditif externe le diagnostic nécessitera une preuve histologique d'invasion tissulaire.

Le diagnostic d'otite externe par moisissure est effectué à l'aide d'un examen direct et de la culture. Les moisissures peuvent être recherchées même sur les milieux non-sélectifs à condition que les géloses soient incubées assez longtemps. Habituellement *A. niger* peut être identifié facilement après 3 à 5 jours.

Le nettoyage du conduit auditif est aussi important que la prise en charge médicamenteuse (3, 7).

Marjan Van Esbroeck, ITG Antwerpen

Nous remercions Danielle Swinne et Marc Lontie pour les illustrations.

## REFERENCES

1. Manual of Clinical Microbiology. Murray P.R., Barron E.J., Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Tenenbaum R.H. 8th edition. ISBN 1-55581-255-4
2. Atlas of Clinical Fungi. G.S. De Hoog & J. Guarro. ISBN 90-70351-26-9.
3. Burgos Sánchez AJ, Lafarga J, Galvañ B, Talavera J, Trigueros M. [Descriptive study of infectious ear disease in relation to summer] *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2000 Jan-Feb;51(1):19-24.
4. Brook I, Frazier EH, Thompson DH. Aerobic and anaerobic microbiology of external otitis. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 955-8
5. Bayó M, Agut M, Calvo MA. [Infectious external otitis: etiology in the Terrassa region, culture methods, and considerations on otomycosis]. *Microbiologia*. 1994 Sep;10(3):279-84.
6. Dibb WL. Microbial aetiology of otitis externa. *J Infect*. 1991 May;22(3):233-9.
7. Loh KS, Tan KK, Kumarasinghe G, Leong HK, Yeoh KH. Otitis externa-the clinical pattern in a tertiary institution in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 1998 Mar; 27(2):215-8.
8. Talwar P, Chakrabarti A, Kaur P, Pahwa RK, Mittal A, Mehra YN. Fungal infections of ear with special reference to chronic suppurative otitis media. *Mycopathologia*. 1988 Oct ;104 (1):47-50.
9. Bellini C, Antonini P, Ermanni S, Dolina M, Passega E, Bernasconi E. Malignant otitis externa due to *Aspergillus niger*. *Scand J Infect Dis*. 2000

### 2.3. Culture M/7828 (*Streptococcus agalactiae*)

Etait une souche de *Streptococcus agalactiae* ou streptocoque du groupe B choisie pour l'absence du caractère bêta-hémolytique.

#### 2.3.1. **Signification clinique (1-3)**

*Streptococcus agalactiae* est l'espèce désignant les streptocoques appartenant au groupe B de Lancefield (GBS). Les GBS sont des bactéries commensales du tractus intestinal (réservoir principal) et du tractus génital. Cependant, GBS représente la première cause d'infection bactérienne sévère chez le nouveau-né et peut aussi être responsable d'infections chez l'adulte pendant ou en dehors de la grossesse. Le taux de colonisation varie selon les groupes ethniques, les localisations géographiques et l'âge. La prévalence de colonisation vaginale et rectale chez la femme enceinte se situe entre 10 et 30 %, 15 à 30% en Belgique. Cette colonisation est dynamique : les études longitudinales indiquent que le portage peut être chronique, transitoire ou intermittent. La colonisation est généralement asymptomatique et seuls des examens bactériologiques permettent d'identifier les porteurs. La colonisation du tractus génital maternel au terme de la grossesse est associée à la colonisation des enfants et constitue un facteur de risque de développement d'infection périnatale grave caractérisée par un sepsis et/ou une méningite. L'infection néonatale causée par le GBS présente deux formes cliniques épidémiologiquement distinctes et en rapport avec la date de survenue : l'infection précoce et l'infection tardive. L'infection néonatale précoce se déclare pendant la première semaine de vie et survient typiquement dans les 24 premières heures. Les présentations cliniques habituelles sont la septicémie sans foyer et la pneumonie, éventuellement accompagnée d'une méningite (10 à 15 % des cas). Elle peut être caractérisée par le développement rapide d'une détresse respiratoire sévère, d'une septicémie avec état de choc, d'une coagulation intravasculaire disséminée et par une défaillance des organes vitaux. L'infection tardive se présente habituellement entre 7 jours et 3 mois. Elle est caractérisée par de la fièvre, une bactériémie (55%) et souvent une méningite (35%). L'arthrite septique, l'ostéomyélite (5%) et la cellulite (2%) sont d'autres localisations de cette forme. Le GBS est aussi associé à de nombreuses infections du postpartum. Chez l'adulte, les infections à GBS sont principalement des bactériémies, endocardites, infections de la peau et des tissus mous et des ostéomyélites. Certains co-facteurs comme le diabète, les pathologies oncologiques et l'immunodéficience, prédisposent les adultes aux infections à GBS.

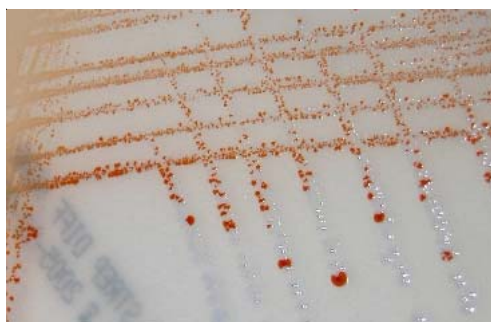
### 2.3.2. Culture

La croissance des GBS est aisée sur la plupart des milieux de culture nutritifs et non sélectifs. La culture sur les milieux enrichis de sang met en évidence leur réaction hémolytique, caractéristique utile à leur identification.

Les colonies de GBS peuvent exprimer un pigment orange caractéristique, plus ou moins intense, et de façon variable associée aux conditions de culture : atmosphère d'incubation (anaérobiose) et composition du milieu. L'expression de ce pigment orange produit par GBS est corrélée à l'expression de la bêta-hémolysine suggérant un lien génétique de ces deux phénotypes (2). L'utilisation de milieux solides, sélectifs différentiels de type Granada incubés en anaérobiose, permet l'identification directe et aisée des colonies de couleur orange de GBS (voir figure 1.a). Cette coloration est 100% spécifique des GBS. Sur milieu Granada, les colonies des souches non hémolytiques ne sont pas différenciées de la flore associée.

Deux milieux chromogènes ont récemment été formulés pour la culture sélective des streptocoques du groupe B, souches non hémolytiques comprises : après 24 à 48 heures d'incubation à 35°C en aérobiose, sur la gélose StrepB Id (bioMérieux) les colonies de GBS apparaissent en rose-rouge et sur la gélose StrepB Select (BioRad), en bleu turquoise (voir figures 1.b et 1.c). Ces milieux chromogènes ne sont pas totalement spécifiques et l'identification de tout type de colonie suggestive de GBS devra toujours être confirmée par la mise en évidence de l'antigène de group B.

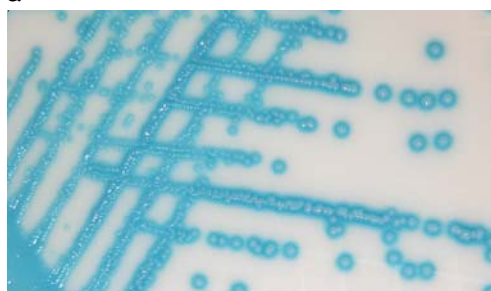
**Figure 1** : a- colonies oranges, GBS sur milieu Granada après 48 heures d'incubation en anaérobiose ; b- colonies rose foncé, GBS sur milieu Strep B ID après 48 heures d'incubation en aérobiose et c- colonies bleu-turquoise, GBS sur milieu Strep B Select après 48 heures d'incubation en aérobiose



a



b



c

Le milieu d'Edwards modifié est aussi un milieu sélectif différentiel utilisé pour la culture des GBS. Il est principalement utilisé pour des cultures de lait en vue du diagnostic des mammites bovines. Aucune étude clinique n'a été publiée concernant son utilisation, sa spécificité et sensibilité pour la recherche des GBS à partir de prélèvements génito-rectaux de femmes enceintes.



### 2.3.3. Culture de dépistage de colonisation recto-vaginale

Dans le contexte de la prévention des infections périnatales à GBS, il est recommandé de faire un dépistage de colonisation recto-vaginale par GBS chez toutes les femmes enceintes à 35-37 semaines de gestation (4,5). Pour ce dépistage, afin d'augmenter la sensibilité des cultures, le Conseil Supérieur de la Santé (2003) comme les directives du Centers for Disease Control and Prevention (CDC, USA, 2002) recommande la mise en culture de frottis vagino-rectaux dans un bouillon d'enrichissement sélectif suivie par une sous-culture sur milieu solide (4,5). La procédure recommandée consiste à inoculer les prélèvements dans un bouillon sélectif d'enrichissement de type Todd-Hewitt contenant de la colistine et de l'acide nalidixique (bouillon de Lim). Après une nuit d'incubation à 35°C, ce bouillon doit être sous-cultivé : en 2003, le Conseil Supérieur de la Santé recommandait une gélose de type Granada pour un maximum de sensibilité (ou à défaut sur une gélose au sang). En 2008, les nouveaux milieux sélectifs différentiels, StrepB ID et StrepB Select, permettent d'obtenir une sensibilité au moins équivalente voire supérieure pour le StrepB select, à celle des cultures sur milieu Granada (6,7). Dans le schéma proposé dans les recommandations du Conseil Supérieur de la Santé, le milieu Granada peut certainement être remplacé par un des deux milieux chromogènes décrits ci-dessus. Quelles que soient les études comparatives aucun des milieux ne permet l'identification de tous les prélèvements GBS positifs. Pour rappel, à la différence du milieu Granada, premièrement, ces milieux chromogènes sont incubés en aérobiose et non en anaérobiose et deuxièmement, toute colonie présomptive de GBS sur ces nouveaux milieux doit être confirmée par un test d'agglutination, alors que cette confirmation n'est pas nécessaire pour les colonies oranges sur Granada. Quel que soit le milieu utilisé, les sous-cultures sont examinées pour la recherche des GBS après une nuit d'incubation dans les conditions appropriées ; dans les cas de culture GBS-négative à la première lecture, l'incubation est toujours prolongée de 24 h avant de rendre un résultat définitif (5,7).

A ce stade, la connaissance de la prévalence des souches non-hémolytiques dans la flore vaginale des femmes enceintes est mal connue mais ne devrait certainement pas dépasser 3 à 4 %. Détecter ou non ces souches dans des prélèvements de dépistage prénataux ne modifie pas significativement la sensibilité globale des cultures sur les différents milieux GBS spécifiques proposés ; par contre pour ces souches la sensibilité est de 0% ou 100% suivant le milieu utilisé. A chaque laboratoire de choisir au moins un des trois milieux proposés pour la sous-culture du bouillon d'enrichissement sélectif, en tenant compte des caractéristiques analytiques et contraintes de chacun de ceux-ci. Les facteurs pratiques importants à considérer sont le coût initial de la boîte et les coûts indirects notamment liés à l'atmosphère d'incubation, la nécessité ou non de confirmer l'identification des colonies de GBS présomptives et le temps personnel.

Afin d'apprécier l'intérêt de rechercher les souches non-hémolytiques, le laboratoire de référence des GBS a commencé une surveillance prospective de la prévalence de ces souches dans la flore vaginale, ainsi que leur incidence dans les infections néonatales précoces. Pour atteindre cet objectif, la procédure rationnelle choisie, accordant la meilleure sensibilité, la mise en évidence des souches non-hémolytiques et une charge de travail réduite est l'inoculation directe du frottis vagino-rectal ou des frottis vaginal et rectal dans un seul bouillon d'enrichissement sélectif suivi après une nuit d'incubation à 35°C par une sous-culture sur gélose Granada et sur un milieu chromogène

sélectif différentiel. Après incubation dans les conditions appropriées, les colonies de couleur orange sur milieu Granada sont directement identifiées comme GBS et, seulement pour les cultures « Granada-négative », l'identification de toute colonie présomptive de GBS sur milieu chromogène est confirmée par la mise en évidence de l'antigène de groupe B.

#### 2.3.4. Identification

L'identification d'une souche de GBS non hémolytique en culture pure ne pose pas vraiment de problèmes comme en témoignent les résultats de ce contrôle. Il faut cependant remarquer que 6% des laboratoires ont erronément indiqué dans le libellé d'identification de la souche que ce streptocoque était « bêta-hémolytique ». Comme trois laboratoires l'ont mentionné, les procédures classiquement recommandées pour les cultures de dépistage de GBS n'auraient pas mis en évidence cette souche de GBS (Conseil Supérieur Hygiène 2003).

Les GBS sont des coques à Gram positif, assemblés en chaînettes, anaérobies facultatifs ; ils ont une croissance aisée sur les milieux de culture habituels. Sur gélose au sang, les colonies de 1 à 2 mm présentent une  $\beta$ -hémolyse d'intensité variable en général plus étroite et plus floue que celles des autres streptocoques  $\beta$ -hémolytiques. Cependant, 2 à 3% des souches de GBS responsables d'infections invasives sont non hémolytiques. Leur prévalence dans la colonisation vaginale n'a pas été étudiée, mais l'utilisation récente des milieux chromogènes permettant leur identification montre des taux inférieurs à 2%.

L'identification biochimique d'un streptocoque par les systèmes commerciaux suivie par la confirmation de la présence de l'antigène de groupe B des souches de GBS hémolytiques ou non, est en général satisfaisante. Pour les souches non hémolytiques, la difficulté n'est pas de les identifier mais bien de les mettre en évidence lorsque ce type de souche de GBS est associé à une flore variée comme la flore vagino-rectale par exemple. Ni la culture sur gélose au sang, avec ou sans acide nalidixique et colistine, ni sur une gélose de type Granada ne permettent en général cette mise en évidence de colonies différenciées évoquant des GBS. Seules les cultures sur les nouveaux milieux chromogènes spécifiques des GBS permettent aisément leur mise en évidence et identification consécutive.

Plus de 99% des souches ont une réaction de CAMP positive : détection d'une protéine extracellulaire diffusant dans le milieu de culture et amplifiant l'activité hémolytique de la bêta-hémolysine de *Staphylococcus aureus* sur les érythrocytes de mouton. Ce test permet une identification présomptive, mais non définitive des GBS. Aucune souche n'hydrolyse l'esculine et plus de 99% hydrolysent l'hippurate.

L'identification définitive repose sur la mise en évidence immunologique de l'antigène de groupe B (test d'agglutination).

### 2.3.5. Signification clinique de la bêta-hémolysine (3)

Le développement de l'infection néonatale à GBS est complexe et multifactorielle. En plus des facteurs de virulence de la souche, les facteurs de l'hôte jouent un rôle central dans la détermination du potentiel pathogène des GBS. Les premières étapes de la pathogenèse de l'infection à GBS chez le nouveau-né sont résumées ci-après. Le streptocoque doit premièrement coloniser la muqueuse vaginale de la femme enceinte. Le processus comprend l'adhésion aux cellules épithéliales et la résistance aux défenses immunes de la muqueuse vaginale comme les immunoglobulines A secrétées. Pour atteindre le fœtus, le GBS peut ensuite, par voie ascendante, atteindre la cavité amniotique par pénétration au travers des membranes placentaires. La chorioamniotite et la prolifération bactérienne permettent aux GBS d'entrer dans les poumons du fœtus par aspiration du liquide amniotique infecté. Alternativement, l'enfant peut acquérir le GBS lors de son passage dans la filière génitale. Après la naissance, le GBS doit réussir à se multiplier dans les alvéoles du nouveau-né, adhérer à l'épithélium respiratoire et échapper à leur élimination par les macrophages pulmonaires. La pneumonie avec altération des cellules de l'épithélium et de l'endothélium pulmonaire est caractéristique de l'infection néonatale précoce, et pourrait être causée en partie par les propriétés cytotoxiques de la bêta-hémolysine de GBS. Le rôle potentiel de la bêta-hémolysine de GBS sur l'altération de l'épithélium pulmonaire a été démontré par diverses études sur cultures cellulaires *in vitro* et dans un modèle animal grâce au développement de mutants de GBS soit non hémolytique, soit hyper hémolytique. La bêta-hémolysine apparaît jouer un rôle dans l'altération de l'épithélium pulmonaire induite par GBS ; les lésions sont également plus importantes avec des souches hyper hémolytiques. La bêta-hémolysine de GBS agit comme une cytolysine formant des pores dans la membrane cellulaire comme l'alpha-toxine de *Staphylococcus aureus*. Suivant la porte d'entrée des GBS, la virulence des mutants hémolytiques ou non hémolytiques diffère ou non. Pour une porte d'entrée extra-pulmonaire, il y aurait peu ou pas de différence. Par contre pour les infections par GBS acquises via le tractus respiratoire, l'expression de la bêta-hémolysine joue un rôle unique dans la maladie. De plus des effets systémiques de la bêta-hémolysine doivent être pris en compte. Dans l'infection néonatale précoce, la maladie survient en général après une contamination des voies respiratoires : dans ces conditions, les souches non hémolytiques paraissent moins virulentes.

### 2.3.6. Sensibilité aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques n'était pas demandée lors de ce contrôle, mais pour information, toutes les souches d'origine humaine restent bien sensibles à la pénicilline G, aux autres  $\beta$ -lactames, céphalosporines, carbapénèmes et vancomycine. La pénicilline, en raison de son efficacité et de son spectre d'activité étroit, est l'antibiotique de choix pour l'antibioprophylaxie intrapartum ou le traitement des infections à GBS. En cas d'allergie à la pénicilline à faible risque d'anaphylaxie, l'alternative est la céfazoline. Les GBS sont naturellement résistants à la bacitracine, à l'acide nalidixique, au triméthoprim-sulfaméthoxazole, au métronidazole et aux aminosides. Néanmoins, lorsque la gentamicine est associée à l'ampicilline, il en résulte une action synergique bactéricide tant *in vivo* qu'*in vitro*. Le taux de résistance acquise aux tétracyclines atteint actuellement 90 %. La clindamycine et l'érythromycine sont des alternatives chez les patients

allergiques à la pénicilline à haut risque de réaction anaphylactique, mais il faut savoir qu'en Belgique, comme dans de nombreux pays, entre 1995 et 2003, les taux de résistance à l'érythromycine et à la clindamycine ont augmenté respectivement de 8 à 30% et de 3 à 20% (8,9). Depuis, ces taux de résistance à l'érythromycine et à la clindamycine semblent stabilisés. (Voir tableau 1).

Les critères d'interprétation du CLSI (anciennement NCCLS) à utiliser sont les critères de la table des « *Streptococcus spp non S.pneumoniae* ».

**Tableau 1** : Evolution des résistances à la pénicilline, à l'érythromycine et à la clindamycine de souches de GBS isolées d'infections invasives chez le nouveau-né et chez l'adulte, de 1999 à 2007 (Données du laboratoire de référence des streptocoques du groupe B) (9)

Agent antimicrobien	1999-2000 N= 326 % résistant	2001-2002 N= 125 % résistant	2005 N= 133 % résistant	2006 N= 104 % résistant	2007 N= 58 % résistant
Pénicilline	0%	0%	0%	0%	0%
Erythromycine	10,4%	19,2%	30,8%	27,9%	27,6%
Clindamycine		15,2%	24,8%	25%	20,7%

#### **Sensibilité à la pénicilline et aux $\beta$ -lactames**

Le CLSI ne recommande pas de déterminer systématiquement la sensibilité des GBS à la pénicilline car ils sont toujours sensibles même si les CMI observées sont plus élevées que pour *Streptococcus pyogenes* par exemple. Tout laboratoire qui identifierait une souche de GBS « non-sensible à la pénicilline-G » devrait l'envoyer au laboratoire de référence pour confirmation (pour la Belgique : P.Melin, microbiologie médicale, CHU de Liège, B-23, Sart Tilman, 4000 LIEGE). Bien que le CLSI ne donne pas de valeurs pour l'interprétation de la sensibilité à la céfazoline, il recommande de considérer sensible à la céfazoline tous les isolats de GBS sensibles à la pénicilline.

#### **Résistance aux macrolides et lincosamides**

Pour la description des mécanismes et de la procédure de détermination du phénotype de résistance, se référer au rapport de l'enquête 2005/2.

P. Melin (CHU de Liège, laboratoire de référence des streptocoques du groupe B)

## REFERENCES

1. Anthony BF, Okada DM, Hobel CJ. Epidemiology of group B streptococcus: longitudinal observation during pregnancy. *J Infect Dis* 1978;**137**:524-30
2. Schuchat A, 1999. Group B streptococcus. *Lancet* **353**:51-6
3. Streptococcal infections. In *Streptococcal Infections - Clinical aspects, Microbiology, and molecular pathogenesis*, Edited by Steves DL and Kaplan EL, Oxford University Press 2000 ; 221-37
4. CDC.Prevention of perinatal Group B streptococcal disease: Revised guidelines from CDC. *MMWR* 2002;**51** (RR11);1-22.
5. Recommandations du Conseil Supérieur d'Hygiène, 2003 (CSH 7721): Prévention des infections périnatales à streptocoques du groupe B.  
[http://www.health.fgov.be/CSH\\_HGR/Francais/Brochures/GBS\\_2003.pdf](http://www.health.fgov.be/CSH_HGR/Francais/Brochures/GBS_2003.pdf) et [http://www.health.fgov.be/CSH\\_HGR/Nederlands/Brochures/GBS\\_2003.pdf](http://www.health.fgov.be/CSH_HGR/Nederlands/Brochures/GBS_2003.pdf)
6. P. Melin, S. Bonafe, MP. Hayette, P. De Mol « Evaluation of the Strepto B ID agar for the detection of group B streptococci from vaginal and recto-vaginal specimens.», (Abstract # C-318). In: *Program and abstracts of the 106<sup>th</sup> General Meeting of the American Society for microbiology*, Washington, DC, American Society for Microbiology, 2006
7. Melin P et al. Evaluation of the StrepB Select Agar for the detection of group B streptococci from vaginal and recto-vaginal specimens. In : *Program and abstracts of the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Barcelona, Spain, 2008.
8. Melin P, Rodriguez Cuns G, Vicentino Fernandez W, De Mol P, Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus agalactiae* isolated from patients in Belgium through 1989-1991 and 1996-1999. *Proceedings of the XIV Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases*, November 2000, 305-9  
Melin P, 2008. Table 3 Resistance of *Streptococcus agalactiae* in Belgium. In : *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2008-2009 Belgian / Luxembourg Edition* (in press)

#### 2.4. Culture M/4040 (*Escherichia coli*)

Nous vous renvoyons aux commentaires dans les rapports globaux des enquêtes :  
2007/1, 2003/2, 2002/2 et 2001/2.

### III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N = 183)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées

#### 3.1. Culture M/ 4438 *Haemophilus influenzae* (pus auriculaire)

<u><i>Haemophilus influenzae</i></u>	179 (97.8%)
<u><i>Haemophilus influenzae</i> biotype I</u>	2 (1.1%)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	2

#### 3.2. Culture M/7223 *Aspergillus niger* (pus auriculaire)

<u><i>Aspergillus niger</i></u>	172 (94.0%)
<i>Aspergillus</i> species	2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1
<i>Zygomycetes</i> species	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
Absence de pathogène ( <i>S. epidermidis</i> )	1
Pas de croissance	4

#### 3.3. Culture M/7828 *Streptococcus agalactiae* (screening femme enceinte)

<u><i>Streptococcus agalactiae</i></u>	129 (70.5%)
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (groupe B)</u>	26 (14.2%)
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (<math>\beta</math>-hémolytique de groupe B)</u>	6 (3.3%)
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (non-hémolytique)</u>	6 (3.3%)
<u><i>Streptococcus</i> de groupe B</u>	5 (2.7%)
<u><i>Streptococcus</i> <math>\beta</math>-hémolytique de groupe B</u>	5 (2.7%)
<u><i>Streptococcus</i> non-hémolytique de groupe B</u>	1 (0.5%)
<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	1
<i>Streptococcus anginosus</i>	1
Absence de pathogène	1
Envoi à un laboratoire spécialisé	1
Pas de réponse	1

Remarques:

- 3 laboratoires mentionnent que cette souche n'aurait pas été isolée en routine car le milieu utilisé (LIM+ Granada) ne permet pas la détection des souches non-hémolytiques.
- Même si la souche était non-hémolytique, les réponses contenant «*Streptococcus agalactiae*  $\beta$ -hémolytique/*Streptococcus*  $\beta$ -hémolytique de groupe B» ont été acceptées, étant donné qu'il s'agit de la manière dont ces laboratoires répondent en routine les *S. agalactiae*.

#### 3.4. Culture M/4040 *Escherichia coli* (hémoculture)

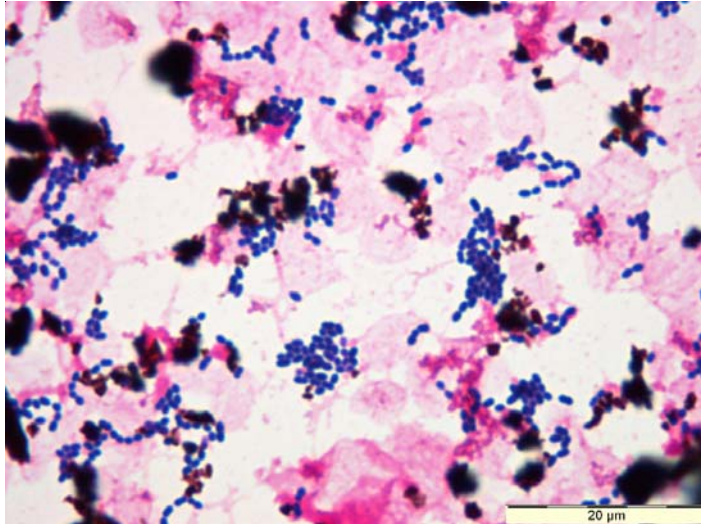
<u><i>Escherichia coli</i></u>	181 (98.9%)
Envoi à un laboratoire spécialisé	1
Non réalisé	1

Remarque: 4 laboratoires mentionnent que la souche est indole négatif; 1 laboratoire qu'elle est BLSE négative.

**3.5. Coloration de Gram M/8238** Coques à Gram positif (*Streptococcus pneumoniae* )  
(Coloration de Gram)

Coques à Gram positif	178 (97.3%)
Coques à Gram variable	3
Bacilles à Gram positif	1
Bacilles à Gram négatif	1

Remarque: le laboratoire ayant répondu bacilles à Gram négatif, nous a fait savoir qu'il s'agit d'une faute de recopiage.





#### IV. ANTIBIOGRAMME

Un aperçu général des résultats par échantillon est présenté au début de la discussion de chaque échantillon. Dans le traitement ultérieur les résultats sont analysés selon les méthodes utilisées.

L'antibiogramme type a été réalisé sur base des résultats des différents experts.

##### 4.1. Culture M/4438 (*Haemophilus influenzae*)

Nombre de participants = 183

Pour le *H. influenzae* nous n'avons demandé que le résultat du test de  $\beta$ -lactamase. La souche envoyée était  $\beta$ -lactamase positive.

Ci-dessous les résultats de l'enquête:

Positif : 177 (96.7%)  
Négatif : 5  
Pas de réponse : 1

##### 4.2 Culture M/4040 (*Escherichia coli*)

Nombre de participants = 180

Les 2 laboratoires ayant mentionné ne pas effectuer d'hémocultures, n'ont évidemment pas déterminé l'antibiogramme ; 1 laboratoire de firme a identifié la germe mais n'a pas effectué l'antibiogramme.

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

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

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*)

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Ampicilline	R	174	5	73	96	-
Amoxicilline <sup>1</sup>	R	4	-	-	4	-
Amoxicilline-acide clavulanique	I	180	57	109	14	-
Amikacine	S	174	171	2	-	1 <sup>2</sup>
Gentamicine	S	159	158	1	-	-
Céfuroxime	S	177	173	2	1	1 <sup>3</sup>
Céfotaxime	S	152	151	-	-	1 <sup>2</sup>
Ceftriaxone <sup>4</sup>	S	9	9	-	-	-
Ceftazidime <sup>5</sup>	S	1	1	-	-	-
Co-trimoxazole	S	179	177	-	-	2 <sup>6,7</sup>
Imipénème	S	76	74	-	-	2 <sup>2,7</sup>
Meropénème <sup>8</sup>	S	52	52	-	-	-
Quinolones						
Ciprofloxacine	S	129	129	-	-	-
Lévofloxacine	S	27	27	-	-	-
Norfloxacine	S	13	13	-	-	-
Ofloxacine	S	20	20	-	-	-
Acide oxolique	S	1	1	-	-	-
«Quinolone» <sup>9</sup>	S	5	5	-	-	-

- <sup>1</sup> Un certain nombre de laboratoires ont testé l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.
- <sup>2</sup> Un laboratoire a transmis les résultats bruts («S») pour l'amikacine, la céfotaxime et l'imipénème, mais a laissé ouvert le résultat final.
- <sup>3</sup> Un laboratoire a répondu que la céfuroxime sodium (parentérale) est sensible mais la céfuroxime axetil (orale) intermédiaire.
- <sup>4</sup> Un certain nombre de laboratoires ont testé la ceftriaxone au lieu de la céfotaxime.
- <sup>5</sup> Un laboratoire a testé la ceftazidime au lieu de la céfotaxime.
- <sup>6</sup> Un laboratoire a transmis le résultat brut («S») pour la co-trimoxazole mais a laissé ouvert le résultat final.
- <sup>7</sup> Un laboratoire a répondu le résultat final pour la co-trimoxazole et l'imipénème, mais a mentionné qu'en routine ces résultats ne seraient pas transmis sur le protocole.
- <sup>8</sup> Un certain nombre de laboratoires ont testé la méropénème au lieu de l'imipénème.
- <sup>9</sup> Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

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

Lorsque la méthode complète était reprise, nous avons déterminé le diamètre médian, minimum et maximum pour les méthodes de diffusion sur disque avec les disques en papier ou les disques Neosensitabs.

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.

Les résultats des laboratoires qui ont utilisé l'Osiris pour mesurer le diamètre des disques en papier sont repris dans le tableau 4.2.8.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian (mm)	Valeurs extrêmes (mm)	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	21 (28)	10	10	6 - 14	-	2	26	-
Amoxicilline-acide clavulanique	20 (26)	20+10	16	8 - 20	8	14	4	-
Amikacine	20 (26)	30	20	16- 29	25	1	-	-
Gentamicine	17 (22)	10	20	16 - 25	22	-	-	-
Céfuroxime	21 (27)	30	23	17 - 27	24	1	1	<sup>1</sup>
Céfotaxime	19 (26)	30	31	26 - 40	26	-	-	-
Ceftazidime	1 (1)	30	32	32 - 32	1	-	-	-
Co-trimoxazole	22 (28)	1,25+23,75	26	21 - 34	28	-	-	-
Imipénème	9 (11)	10	30	26 - 33	11	-	-	-
Meropénème	4 (7)	10	30.5	26 - 42	7	-	-	-
Quinolones								
Ciprofloxacine	13 (17)	5	35	25 - 41	17	-	-	-
Lévofloxacine	5 (7)	5	36	30 - 38	7	-	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	30	30 - 30	1	-	-	-
Ofloxacine	3 (3)	5	26	25 - 34	3	-	-	-

<sup>1</sup> Un laboratoire a répondu que la céfuroxime sodium (parentérale) est sensible mais la céfuroxime axetil (orale) intermédiaire.

Il existe actuellement 2 charges pour les disques Neosensitabs: la charge « Neosensitabs » (« old », avec les directives ROSCO) et la charge « CLSI » (« new », où le laboratoire doit suivre les directives du CLSI). Les 2 charges sont mentionnées séparément dans les tableaux suivant 4.2.3. a et b. Les résultats des laboratoires qui ont utilisé le Sirscan pour mesurer le diamètre de ces disques sont repris dans les tableaux 4.2.9 a et b.

Tableau 4.2.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge Neosensitabs) pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ( $\mu\text{g}/\text{disque}$ )	Diamètre médian (mm)	Valeurs extrêmes (mm)	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	30 (38)	33	16.5	9 - 20	5	12	21
Amoxicilline	3 (3)	30	12	10 - 12	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	36 (41)	30+15	21	11 - 27	28	9	4
Amikacine	33 (36)	40	25	20 - 31	36	-	-
Gentamicine <sup>1</sup>	25 (30)	40	26	20 - 33	29	1	-
Céfuroxime <sup>1</sup>	32 (37)	60	27	23 - 36	36	1	-
Céfotaxime <sup>1</sup>	21 (26)	30	34	22 - 43	26	-	-
Ceftriaxone	6 (6)	30	32.5	30 - 37	6	-	-
Co-trimoxazole <sup>1</sup>	31 (36)	5,2+240	38	26 - 42	36	-	-
Imipénème	18 (23)	15	32.5	22 - 36	23	-	-
Meropénème	9 (10)	10	34	30 - 37	10	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	21 (22)	10	33	28 - 42	22	-	-
Lévofloxacine	4 (5)	5	39.5	34 - 43	5	-	-
Norfloxacine	1 (2)	10	32	32 - 32	2	-	-
Ofloxacine	7 (7)	10	30	30 - 38	7	-	-
Acide oxolique	1 (1)	10	26	26 - 26	1	-	-
Quinolone <sup>1</sup>	1 (2)	10	29	29 - 29	2	-	-

<sup>1</sup> En outre un laboratoire a répondu: > 30 mm pour chacun de ces antibiotiques.

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ( $\mu\text{g}/\text{disque}$ )	Diamètre médian (mm)	Valeurs extrêmes (mm)	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	4 (5)	10	12	11 - 12	-	-	5
Amoxicilline-acide clavulanique	5 (6)	20+10	19	17 - 23	3	3	-
Amikacine	5 (6)	30	22	19 - 27	6	-	-
Gentamicine	4 (4)	10	22	20 - 26	4	-	-
Céfuroxime	5 (6)	30	25	23 - 33	6	-	-
Céfotaxime	3 (3)	30	36	35 - 40	3	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	36	36 - 36	1	-	-
Co-trimoxazole	5 (6)	1,25+23,75	30	26 - 40	6	-	-
Imipénème	1 (2)	10	31	31 - 31	2	-	-
Meropénème	2 (2)	10	36	34 - 38	2	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	3 (4)	5	40	30 - 43	4	-	-
Ofloxacine	2 (2)	5	34	33 - 35	2	-	-

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

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*).

	Nombre de résultats	<0.031	0.031 - 0.062	0.062 - 0.125	0.125 - 0.25	0.25 - 0.5	0.5 - 1	1 - 2	2 - 4	4 - 8	8 - 16	16 - 32	32 - 128	S	I	R
Ampicilline	4											2	2	-	1	3
Amoxicilline-acide clavulanique	4								1	1	1	1		1	2	1
Amikacine	3							1	2					3	-	-
Gentamicine	4						1	3						4	-	-
Céfuroxime	2								1	1				2	-	-
Céfotaxime	4				1		1							4	-	-
Co-trimoxazole	2			1	1									2	-	-
Imipénème	1					1								1	-	-
Quinolones																
Ciprofloxacine	3	2	1											3	-	-

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/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labo's ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)		
	S	I	R			S	I	R			*	
Ampicilline	-	46	15	16	50 (61)	-	15	6	-	16	13 (21)	
Amoxicilline-acide clavulanique	1	57	4	16	54 (62)	-	18	2	-	16	16 (20)	
Amikacine	60	-	-	≤ 2	39 (60)	19	-	-	1 <sup>1</sup>	≤ 2	16 (20)	
Gentamicine	61	-	-	≤ 1	55 (61)	20	-	-	-	≤ 1	16 (20)	
Céfuroxime	62	-	-	4	53 (62)	21	-	-	-	4	16 (21)	
Céfotaxime	62	-	-	≤ 1	55 (62)	20	-	-	1 <sup>1</sup>	≤ 1	17 (21)	
Co-trimoxazole	62	-	-	≤ 20	55 (62)	20	-	-	1 <sup>2</sup>	≤ 20	16 (21)	
Imipénème	14	-	-	≤ 0.25	4 (14)	7	-	-	1 <sup>1</sup>	≤ 0.25	3 (8)	
Meropénème	24	-	-	≤ 0.25	20 (24)	5	-	-	-	≤ 0.25	5 (5)	
Quinolones												
Ciprofloxacine	48	-	-	≤ 0.25	44 (48)	18	-	-	-	≤ 0.25	14 (18)	
Lévofloxacine	9	-	-	≤ 0.25	8 (9)	2	-	-	-	≤ 0.25	1 (2)	
Norfloxacine	4	-	-	≤ 0.5	2 (4)	2	-	-	-	≤ 0.5	1 (2)	
Ofloxacine	3	-	-	≤ 0.25	2 (3)	3	-	-	-	≤ 0.25	3 (3)	
«Quinolone»	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)	-	-	-	-	-	-	

<sup>1</sup> Un laboratoire a transmis les résultats bruts («S») pour l'amikacine, la céfotaxime et l'imipénème, mais a laissé ouvert le résultat final.

<sup>2</sup> Un laboratoire a transmis le résultat brut («S») pour la co-trimoxazole mais a laissé ouvert le résultat final.

Dans la plupart des cas la « valeur CMI 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 valeur CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'ampicilline 4 laboratoires ont mentionné une CMI  $\geq 32$  mg/l pour Vitek 2 et 4 autres pour Vitek 2 compact
- pour l'amoxicilline-acide clavulanique 1 participant a retrouvé une CMI de 12 mg/l pour Vitek 2
- pour l'amikacine 15 laboratoires ont mentionné une CMI  $\leq 4$  mg/l pour Vitek 2
- pour la céfuroxime 1 participant a retrouvé une CMI de 2 mg/l et 1 participant une CMI  $\leq 1$  mg/l pour Vitek 2; pour Vitek 2 compact 1 participant a retrouvé une CMI de 2 mg/l
- pour la co-trimoxazole 1 participant a retrouvé une CMI  $\leq 2$  mg/l pour Vitek 2 compact
- pour l'imipénème 1 participant a retrouvé une CMI  $\leq 1$  mg/l pour Vitek 2; pour Vitek 2 compact 1 participant a retrouvé une CMI  $< 1$  mg/l
- pour la méropénème 1 participant a retrouvé une CMI de 8 mg/l et 1 participant a retrouvé une CMI  $\leq 16$  mg/l pour Vitek 2

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

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	8
Amoxicilline	-	-	1
Amoxicilline-acide clavulanique	5	5	-
Amikacine	10	-	-
Gentamicine	10	-	-
Céfuroxime	9	-	-
Céfotaxime	10	-	-
Co-trimoxazole	10	-	-
Imipénème	11	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	8	-	-
Lévofloxacine	1	-	-
Norfloxacine	3	-	-

Un laboratoire a mentionné avoir utilisé l'appareil Mini Api pour l'exécution de la méthode ATB.

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/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labs ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	-	6	2	16	8 (8)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	8	-	16/8	8 (8)
Amikacine	8	-	-	4	4(8)
Gentamicine	6	-	-	≤ 2	6 (6)
Céfuroxime	8	-	-	≤ 4	8 (8)
Céfotaxime	2	-	-	≤ 2	2 (2)
Ceftriaxone	1	-	-	≤ 2	1 (1)
Co-trimoxazole	8	-	-	≤ 0.5/9.5	8 (8)
Imipénème	1	-	-	<1	1 (1)
Meropénème	3	-	-	≤ 1	3 (3)
Quinolones					
Ciprofloxacine	7	-	-	≤ 0.125	4 (7)
Lévofloxacine	1	-	-	≤ 1	1 (1)

Pour certains antibiotiques, quelques laboratoires ont mentionné une CMI différente de la CMI mentionnée le plus fréquemment:

- pour l'amikacine 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 2 mg/l et 2 laboratoires une CMI ≤ 8 mg/l
- pour la ciprofloxacine 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.5 mg/l et 1 laboratoire une CMI ≤ 0.13 mg/l

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.2.8. et 4.2.9 a et b.

Etant donné que tous les utilisateurs de ces appareils (Osiris pour les disques en papier et Sirscan pour les disques Neosensitabs), rapportent les diamètres, nous reprenons les médianes, minima et maxima de ces diamètres dans les tableaux suivants.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ( $\mu\text{g}/\text{disque}$ )	Diamètre médian (mm)	Valeurs extrêmes (mm)	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	8 (8)	10	9	6 - 12	-	-	8
Amoxicilline-acide clavulanique	8 (8)	20+10	18	15 - 20	7	1	-
Amikacine	7 (7)	30	23	19 - 25	7	-	-
Gentamicine	3 (3)	10	25	22 - 28	3	-	-
Céfuroxime	7 (7)	30	23	19 - 27	7	-	-
Céfotaxime	5 (5)	30	31	25 - 35	5	-	-
Co-trimoxazole	7 (8)	1,25+23,75	24	22 - 31	8	-	-
Imipénème	3 (3)	10	30	30 - 35	3	-	-
Meropénème	3 (3)	10	35	35 - 35	3	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	5 (5)	5	35	31 - 35	5	-	-
Lévofloxacine	3 (3)	5	35	30 - 35	3	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	29	29 - 29	1	-	-
Ofloxacine	1 (1)	5	28	28 - 28	1	-	-

Tableau 4.2.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges Neosensitabs) pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ( $\mu\text{g}/\text{disque}$ )	Diamètre médian (mm)	Valeurs extrêmes (mm)	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	8 (8)	33	18	16 - 19	-	2	6	-
Amoxicilline-acide clavulanique	7 (8)	30+15	21	20 - 23	8	-	-	-
Amikacine	7 (8)	40	26	21 - 30	8	-	-	-
Gentamicine	6 (6)	40	29	25 - 34	6	-	-	-
Céfuroxime	7 (8)	60	27	24 - 30	8	-	-	-
Céfotaxime	3 (4)	30	37	36 - 39	4	-	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	28	28 - 28	1	-	-	-
Co-trimoxazole	7 (8)	5,2+240	36	32 - 39	7	-	-	1 <sup>1</sup>
Imipénème	1 (2)	15	38	38 - 38	1	-	-	1 <sup>1</sup>
Meropénème	2 (3)	10	31,5	27 - 36	3	-	-	-
Quinolones								
Ciprofloxacine	4 (5)	10	37	35 - 40	5	-	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	38	38 - 38	1	-	-	-
Ofloxacine	2 (2)	10	30	22 - 38	2	-	-	-

<sup>1</sup> Un laboratoire a répondu le résultat final pour la co-trimoxazole et l'imipénème, mais a mentionné qu'en routine ces résultats ne seraient pas transmis sur le protocole.

Tableau 4.2.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/4040 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ( $\mu\text{g}/\text{disque}$ )	Diamètre médian (mm)	Valeurs extrêmes (mm)	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	2 (2)	10	13.5	11 - 16	-	-	2
Amoxicilline-acide clavulanique	3 (3)	20+10	20	16 - 23	2	1	-
Amikacine	3 (3)	30	27	22 - 29	2	1	-
Gentamicine	2 (3)	10	25.5	25 - 26	3	-	-
Céfuroxime	3 (3)	30	23	20 - 26	3	-	-
Céfotaxime	3 (3)	30	35	35 - 43	3	-	-
Co-trimoxazole	2 (2)	1.25+23.75	30.5	26 - 35	2	-	-
Imipénème	2 (2)	10	35.5	28 - 43	2	-	-
Meropénème	1 (1)	10	34	34 - 34	1	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	1 (1)	5	30	30 - 30	1	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	38	38 - 38	1	-	-
Quinolone	1 (1)	5	37	37 - 37	1	-	-

Il reste à mentionner qu'un laboratoire (étranger) a déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques avec le Microscan walkaway

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
    - Rosco (charges Neosensitabs): 4 labos
    - Sirscan (charges Neosensitabs): 5 labos (dont 1 basé également sur les résultats d'autres techniques)
    - Sirscan (charges Neosensitabs): 1 labo
    - E-test: 1 labo (basé également sur les résultats d'autres techniques)
    - Phoenix: 2 labos (basés également sur les résultats d'autres techniques)
    - Vitek 2: 7 labos (dont 3 basés également sur les résultats d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 2 labos
- Amoxicilline-acide clavulanique
  - ♣ S => I
    - Rosco (charges Neosensitabs): 2 labos
    - Rosco (charges CLSI): 1 labo (basé également sur les résultats d'autres techniques)
  - ♣ I => R
    - Rosco (charges Neosensitabs): 3 labos
    - Vitek 2: 3 labos (dont 1 basé également sur les résultats d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 2 labos



- ♣ I => S
  - Vitek 2: 1 labo (avec «S» comme résultat pour une autre technique)
- Amikacine
  - ♣ S => I
    - Sirscan (charges CLSI): 1 labo
  - ♣ I => pas de réponse
    - Vitek 2 compact: 1 labo
- Céfotaxime
  - ♣ S => pas de réponse
    - Vitek 2 compact: 1 labo
- Co-trimoxazole
  - ♣ S => pas de réponse
    - Vitek 2 compact: 1 labo
- Imipénème
  - ♣ S => pas de réponse
    - Vitek 2 compact: 1 labo

## V. PARASITOLOGIE

### 5.1. Les échantillons

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

Pour l'échantillon P/8046 181 laboratoires ont renvoyé leur réponse; pour l'échantillon P/8060 182 laboratoires l'ont renvoyé.

Il est nécessaire que vous renvoyiez toujours des résultats pour les 2 échantillons, même si p. ex. vous suspectez une absence de parasites.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 58.8%. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter certaines d'erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/8046 :

« Une patiente américaine (25/08/1940) de Stillwater est pour une courte période en congé en Belgique. Elle avait déjà de la fièvre quand elle est partie des Etats Unis. Résultats de l'examen de laboratoire: thrombopénie (84.000/ $\mu$ l), leucopénie (3000/ $\mu$ l) et anémie (hémoglobine 9.4 g/dl) et un CRP de 20 mg/dl. Durant son séjour en Belgique, elle présente une forte fièvre hectique. »

P/8060:

« Une semaine après son retour d'un voyage au Kenya un homme de 41 ans est admis à l'hôpital avec une fièvre élevée. Il n'est pas clair qu'il a pris une prophylaxie. »

L'échantillon P/8046 contenait des trophozoïtes de *Babesia species*.

L'échantillon P/8060 ne contenait pas de parasites.

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

## 5.2. Les résultats

### 5.2.1 L'échantillon P/8046

180 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 1 laboratoire a répondu « Absence de parasites ».

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/8046

Résultat	Nombre
<i>Babesia species</i>	107
<i>Babesia species</i> ou <i>Plasmodium species</i>	3
<i>Plasmodium species</i>	26
<i>Plasmodium falciparum</i>	27
<i>Plasmodium vivax</i>	10
<i>Plasmodium ovale</i>	3
<i>Plasmodium malariae</i>	2
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	1
<i>Naegleria fowleri</i>	1
Absence de parasites	1
Total	181

La réponse « Absence de parasites » n'est pas dû à une inversion des échantillons : ce laboratoire a effectivement répondu « Absence de parasite » pour les 2 échantillons. La réponse « *Naegleria fowleri* » est probablement dû à l'utilisation d'anciens codes; nous aimerions insister sur l'importance de toujours utiliser les codes les plus récents; au cas où vous n'en disposeriez plus, il vous est toujours possible de demander un nouvel exemplaire; 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.

Outre les laboratoires ayant répondu la présence de « *Babesia species* ou *Plasmodium species* », plusieurs laboratoires ayant répondu « *Babesia species* » ont mentionné qu'un diagnostic différentiel avec « *Plasmodium species* » est nécessaire et/ou que l'échantillon serait envoyé en routine au centre de référence pour confirmation du diagnostic. Quelques laboratoires ont également mentionné que la localisation géographique de la patiente (les Etats-Unis) a joué un rôle dans leur prise de décision (le paludisme n'étant pas présent aux E.-U.).

Quelques laboratoires ayant répondu la présence d'un *Plasmodium* ont mentionné que la *Babesia* devrait être exclue. Comme pour les réponses précédentes, plusieurs laboratoires ayant répondu la présence d'un *Plasmodium* ont mentionné qu'en routine, l'échantillon serait envoyé au centre de référence pour confirmation et/ou identification de l'espèce.

Les stades dévolutions répondus par les laboratoires pour *Babesia species* sont repris dans le tableau suivant. 3 laboratoires ont répondu 2 stades dévolution différentes.

Tableau 5.2.1.2. Stades dévolution de *Babesia species* pour l'échantillon P/8046

Stade d'évolution	Nombre
Trophozoïte	95
Non précisé	5
Gamétocyte	3
Forme adulte	2
Sporocyste	2
Schizonte jeune	1
Merozoïte	1
Formes extracellulaires	1
<b>Total</b>	<b>110</b>

Tous les laboratoires n'ont pas mentionné la quantité de parasites trouvés. La quantité des trophozoïtes de *Babesia species* retrouvés dans l'échantillon P/8046 est reprise dans le tableau 5.2.1.3.

Tableau 5.2.1.3. Médiane, minimum et maximum pour trophozoïtes de *Babesia species* pour l'échantillon P/8046 (exprimés en ‰).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
52	3	1	15

En outre 17 laboratoires ont répondu <1, 1 laboratoire a répondu <5, 9 laboratoires ont répondu 1 à 2, 2 ont répondu 2 à 3, 8 ont répondu 3 à 4 et 1 a répondu 5 à 10; 4 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.

### 5.3. Commentaire sur l'enquête

Le parasite sanguin présent dans l'échantillon P 8046 était un *Babesia microti* dont l'identification a été confirmée par biologie moléculaire.

181 laboratoires ont fourni une réponse pour cette lame et 107 ( 59.12 %) d'entre eux ont correctement identifié le parasite.

Parmi les réponses erronées, la plus fréquente était *Plasmodium falciparum* (27 réponses, 14.92 % des labos), avec qui *Babesia* est le plus couramment confondu. En effet les trophozoïtes de ces deux protozoaires présentent des similitudes morphologiques (Cf. Tableau 1). Au total 69 laboratoires (38.12 %) ont répondu la présence de l'une ou l'autre espèce de *Plasmodium* et 3 d'entre eux ont mentionné qu'il fallait faire le diagnostic différentiel entre *Plasmodium* et *Babesia*.

*Babesia* est un protozoaire de l'ordre des *Piroplasmidés* dont il existe une petite dizaine d'espèces pathogènes pour la plupart chez l'animal (*B. bovis*, *B. canis*, *B. caballi*, *B. divergens*, *B. gibsoni*, ...) mais on observe aussi de plus en plus fréquemment une atteinte de l'homme avec *B. divergens* notamment.

Dans nos régions, la babésiose ou piroplasmose est une maladie bien connue des vétérinaires et des laboratoires qui effectuent des analyses pour les animaux. Elle affecte essentiellement les bovins et les chiens.

Son cycle passe par un hôte intermédiaire vertébré et par un hôte invertébré (tique) chez qui se passe la phase de reproduction sexuée.

L'infection est conditionnée par la localisation géographique de la tique vectrice, l'environnement (buissons, herbes hautes, haies) et le climat (l'activité métabolique des tiques augmente avec la température).

La maladie spécifiquement humaine est due essentiellement à *Babesia microti* (aux USA) et à *B. divergens* (en Europe).

Les symptômes (Cf. Tableau 2) sont assez semblables à ceux de la malaria mais aux USA où la Babésiose est endémique, il n'y a généralement pas de notion de voyage (dans un pays à forte prévalence de malaria) dans l'anamnèse du patient. C'était le cas du patient de ce QC, ce que certains biologistes ont remarqué et utilisé dans l'établissement de leur diagnostic. Cependant, le diagnostic de malaria n'est jamais à exclure car divers pays, dont les Etats-Unis rapportent chaque année soit des cas importés, soit des cas acquis localement transmis par des moustiques infectés.

Bien qu'elle puisse être mortelle dans environ 5% des cas, la babésiose à *B. microti* est souvent spontanément résolutive ; il existe également des porteurs asymptomatiques. Par contre diverses études européennes montrent une maladie beaucoup plus rare (à *B. divergens*) mais avec un tableau beaucoup plus sévère et un taux de mortalité atteignant les 42%. La maladie d'apparition brutale, est parfois fulminante essentiellement chez les patients splénectomisés ou immunodéprimés.

Comme le parasite est transmis par les mêmes tiques que celles qui transmettent *Borrelia burgdorferi* et *Ehrlichia* spp. , des co-infections ont été décrites.

Par ailleurs, plusieurs cas de transmission par transfusion sanguine ont été rapportés.

Le diagnostic est essentiellement basé sur la mise en évidence du parasite sur frottis sanguin ou goutte épaisse coloré au Giemsa.

Malheureusement la sérologie montre des réactions croisées entre les différentes espèces de *Babesia* et avec différentes espèces de *Plasmodium*. De plus, des réactions faussement positives ont été décrites chez des patients souffrant de maladies auto immunes et faussement négatives chez les patients immunodéprimés ou en début d'infection.

Aucun test d'amplification nucléique n'a été commercialisé jusqu'à présent; les tests proposés sont toujours des PCR «in house».

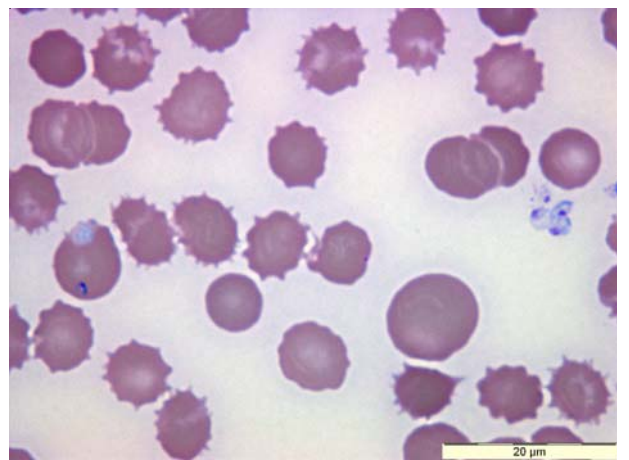
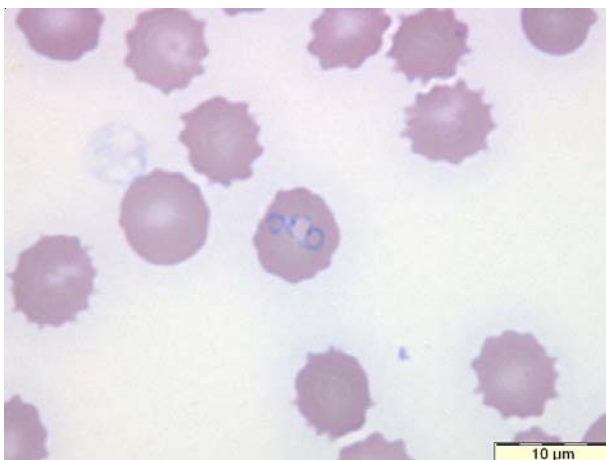
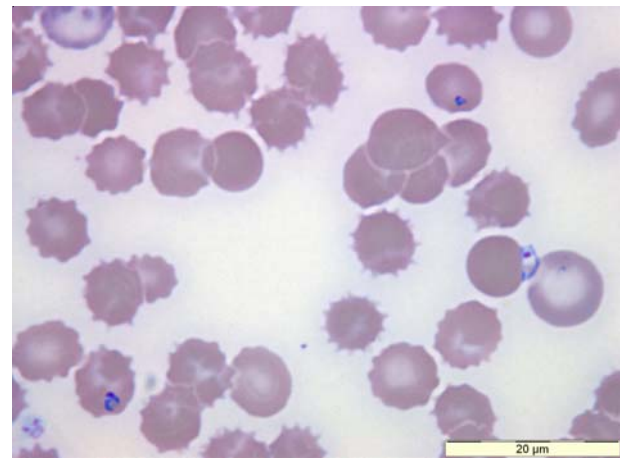
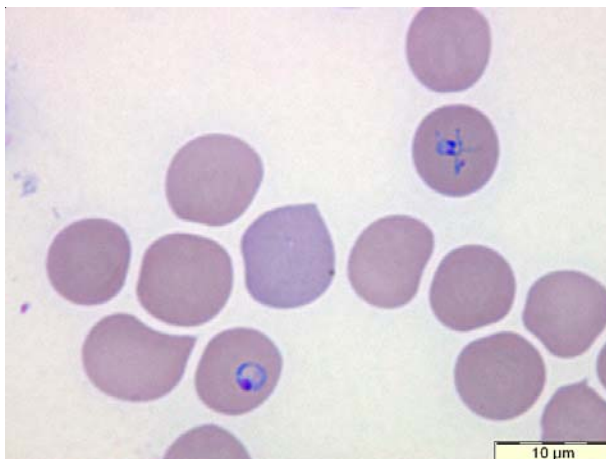
Tableau 1

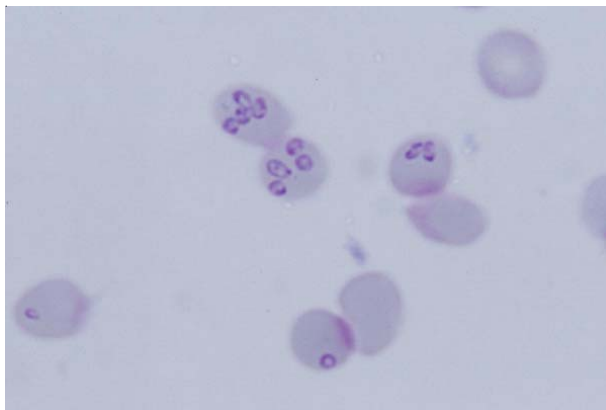
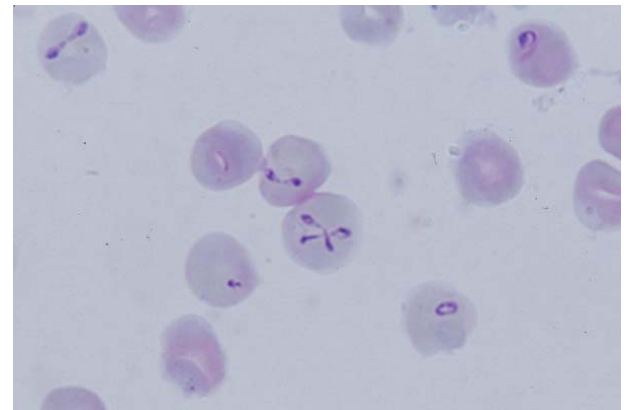
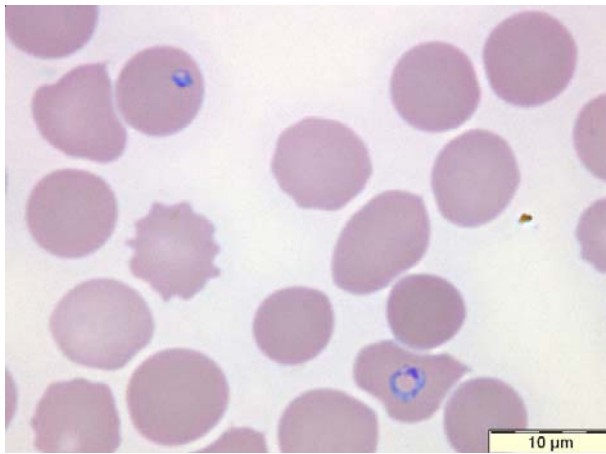
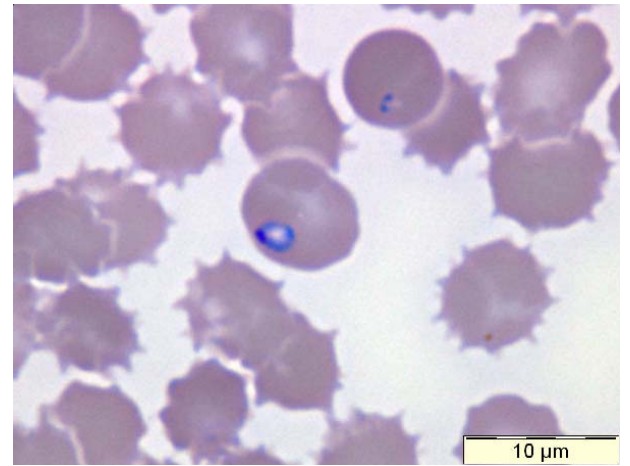
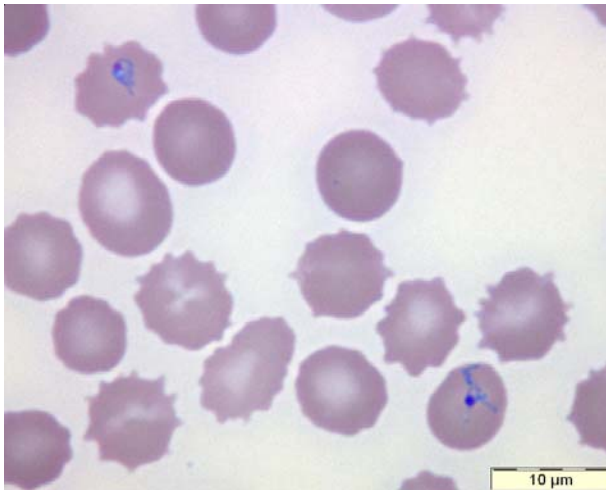
	<i>Babesia</i> spp.	<i>Plasmodium falciparum</i>
Distribution géographique	Endémique aux USA Présente en Europe et au Japon.	Afrique, Asie, Amérique du Sud
Vecteur	Tiques (divers <i>Ixodes</i> et aussi autres tiques selon espèce de <i>Babesia</i> )	Moustique : <i>Anopheles</i>
Aspect du trophozoïte jeune	Peu de cytoplasme Très petit noyau	Peu de cytoplasme Très petit noyau
Aspect du trophozoïte mûr	Parfois ≥ 2 taches de chromatine. Aspect pléiomorphe. Parfois parasites en dehors du GR.	Parfois ≥ 2 taches de chromatine / parasite.
Stades observés	Pas d'autre stade que trophozoïte.	Essentiellement trophozoïtes mais aussi gamétocytes.
Nombre de parasite par GR	Souvent > 1 parasite / GR. Occasionnellement, aspect typique en croix de Malte (tétrade)	Parfois > 1 parasite / GR. Pas de tétrades.
Taille	1 à 2.5 µm pour <i>B. microti</i> . Jusqu'à 5µm pour d'autres espèces	1.4 à 2.5 µm pour <i>P. falciparum</i>
Parasitémie	Souvent élevée	Souvent élevée
GR parasité	Non augmenté de volume Pas de granulations ou de pigment	Non augmenté de volume Pas de granulations ou de pigment

Tableau 2 : Signes et symptômes principaux

	<i>B. microti</i>	<i>B. divergens</i>
Incubation	1 à 6 semaines (jusqu'à 3 mois)	1 à 3 semaines
Symptômes	Généralement modérés «malaise» Fièvre et frissons Transpiration profuse Arthralgies et myalgies Fatigue et faiblesse	Généralement sévères et d'apparition brutale Fièvre et frissons Confusion Etat de choc
Signes cliniques et biologiques	Hépatosplénomégalie Anémie hémolytique	Ictère Hémolyse Insuffisance rénale Hémoglobinurie

Vous trouverez ci-dessous quelques photos de *Babesia* qui sont réalisées comme d'habitude par notre collègue Marc Lontie. Il s'agit à la fois de photos de cet échantillon (1-7) et d'échantillons de collection (8-9).





Anne Dediste  
Laboratoire de microbiologie des  
CHU St-Pierre et Institut J. Bordet



## REFERENCES

1. **Garcia L.** Diagnostic Medical Parasitology. ASM Press, Washington. 5<sup>th</sup> ed.2007; Chap7.
2. **Genchi C.** Human babesiosis, an emerging zoonosis. Parassitologia. May2007; 49 Suppl 1:29-31.
3. **Meliani P. et al.** Babésiose humaine. Med Mal Infect. 2006;36(10):499-504.
4. **Zintl A. et al.** *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. CMR. 2003;16:622-636.
5. **Robert L.L. et al.** *Plasmodium*-infected *Anopheles* mosquitoes collected in Virginia and Maryland following local transmission of *plasmodium vivax* malaria in Loudoun County, Virginia. J Am Mosq Control Assoc, June 1, 2005;21(2): 187-93.

## 5.2.2

### L'échantillon P/8060

179 laboratoires ont répondu «Absence de parasites» et 3 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.2.1. Réponses pour l'échantillon P/8060

Parasites	Nombre
Absence de parasites	179
<i>Trypanosoma brucei</i>	2
<i>Loa loa</i>	1
Total	182

Cet échantillon a été produit délibérément , en concertation avec les membres du comité d'experts, à partir d'un échantillon de sang plus vieux. Le but de cet exercice n'était pas d'être plus difficile mais d'attirer l'attention des laboratoires sur le degré de difficulté supplémentaire d'un tel échantillon.

## VI. SEROLOGIE

### 6.1 Description des échantillons

Il y avait 2 échantillons lyophilisés pour la détermination des anticorps anti-CMV et anti-EBV.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

S/7801 : Un patient a de la fièvre ; les examens de laboratoire montrent également des résultats élevés pour les tests hépatiques. L'échantillon destiné à l'EEQ a été prélevé 2 semaines après les premières plaintes.

S/7800: Les examens de laboratoire de l'épouse du patient S/7801 mettent en évidence des résultats élevés pour les tests hépatiques; elle n'a cependant pas de fièvre. L'échantillon destiné à l'EEQ a été prélevé 1 mois après la première observation des tests hépatiques anormaux.

Pour le CMV, les résultats attendus étaient pour les 2 échantillons: IgG positif, IgM positif.

Pour l'EBV, les résultats attendus étaient pour les 2 échantillons: IgG positif, IgM négatif.

L'interprétation attendue était pour les 2 échantillons: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ».

## 6.2. EBV

### 6.2.1. Les participants

164 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 494 tests sur l'échantillon S/7800 et 501 tests sur l'échantillon S/7801.

Sur l'échantillon S/7800, 4 laboratoires ont effectué 1 test, 44 laboratoires ont effectué 2 tests, 74 laboratoires ont effectué 3 tests, 32 laboratoires ont effectué 4 tests, 8 laboratoires ont effectué 5 tests et 2 laboratoires ont effectué 6 tests.

Sur l'échantillon S/7801, 4 laboratoires ont effectué 1 test, 42 laboratoires ont effectué 2 tests, 71 laboratoires ont effectué 3 tests, 37 laboratoires ont effectué 4 tests, 8 laboratoires ont effectué 5 tests et 2 laboratoires ont effectué 6 tests.

Dans les tableaux suivants 6.2.1 et 6.2.2 nous présentons respectivement le nombre de tests effectués pour les différents paramètres et un aperçu des combinaisons de ces paramètres, effectuées par les laboratoires.

Remarque: quelques techniques permettent de déterminer plusieurs paramètres en même temps et de les rapporter séparément; il s'agit des trousseaux EUROLINE: EBV-Profil 2 (qui permet de déterminer VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EBNA IgM, EA IgG et EA IGM), Immuno Dot Mono-G (qui permet de déterminer VCA IgG et EBNA IgG) et Immuno Dot Mono-M (qui permet de déterminer les anticorps hétérophiles et VCA IgM). Pour des raisons de simplification, nous avons repris ces tests dans les 2 tableaux mentionnés ci-dessus (et dans les tableaux suivants) à chaque fois pour les différents paramètres.

Les trousseaux Enzygnost anti-EBV IgG et IgM kits par contre donnent une appréciation globale des IgG et des IgM respectivement.

Tableau 6.2.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Paramètre	Nombre de labos	
	S/7800	S/7801
Ac. hétérophiles	101	102
VCA IgG	121	121
VCA IgM	134	136
EBNA IgG	76	80
EBNA IgM	2	2
EA IgG	12	12
EA IgM	3	3
IgG totaux	22	22
IgM totaux	23	23
Total	494	501

Tableau 6.2.2. Combinaisons des tests effectués par les participants

Nbre de tests	Paramètre	S/7800	S/7801
1 test	Ac. hétérophiles	4	4
2 tests	VCA IgG + VCA IgM	25	23
	EBNA IgG + VCA IgM	6	6
	EBNA IgG + EBNA IgM	1	1
	IgG totaux + IgM totaux	7	7
	Ac. hétérophiles + VCA IgM	3	3
	Ac. hétérophiles + EBNA IgG	1	1
	VCA IgG + EBNA IgG	1	1
3 tests	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	18	18
	IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + ac. hétérophiles	35	32
	IgG totaux + IgM totaux + ac. hétérophiles	13	13
	EBNA IgG + VCA IgM + ac. hétérophiles	5	5
	EBNA IgG + IgM totaux + ac. hétérophiles	1	1
	EBNA IgG + EA IgM + ac. hétérophiles	1	1
4 tests	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + ac. hétérophiles	28	31
	IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG + ac. hétérophiles	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EA IgG + ac. hétérophiles	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	2	2
	VCA IgG + 2 VCA IgM + EBNA IgG	-	1
	VCA IgG + 2 VCA IgM + ac. hétérophiles	-	1
5 tests	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG+ ac. hétérophiles	7	7
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG+ EA IgM	1	1
6 tests	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EBNA IgM + EA IgG+ EA IgM	1	1
	2 VCA IgG + 2 VCA IgM + EBNA IgG + ac. hétérophiles	1	1

## 6.2.2. Réactifs utilisés

### 6.2.2.1. Anticorps hétérophiles

Tableau 6.2.3. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps hétérophiles

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
Alldiag	MNITOP	1	1
Biognost	Non précisé	1	1
Biokit	Monolatex	14	14
BMD	Immuno Dot Mono-M	3	3
	Monocol	3	3
Dipromed	Mononucleose	1	1
Fumouze	MNI-test Mononucleose	7	7
Meridian	Monospot	4	4
	Monospot Latex	3	3
Microgen	Infectious Mononucleosis Screening Reagent	1	1
Oxoid	Infectious Mononucleosis Test	1	1
Servibio	Servitex MNI	1	1
Stanbio	Rapet IM	5	5
Unipath (distributeur oxoid)	Clearview IM	51	51
Non précisé	Non précisé	5	6
Total		101	102

### 6.2.2.2. IgG

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

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
Adaltis	VCA IgG	1	1
Alphadia	EBV IgG Elisa	1	1
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgG	1	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgG Elisa	3	3
BMD	Immuno Dot Mono-G	5	5
	Elisa EBV VCA IgG	3	3
Dade Behring	Novagnost anti EBV IgG	1	1
DiaSorin	Liaison VCA IgG	48	48
	ETI-VCA-G	2	2
Diesse	Chorus Epstein Barr VCA IgG	4	4
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa	20	20
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Focus	EBV VCA IgG IFA	3	3
	Epstein-Barr Virus VCA IgG	1	1
Hycor Biomedical	EBV VCA IgG	1	1
Immunoconcepts	EBV VCA IgG IFA	1	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgG	12	12
	Premier EBV VCA IgG	5	5
Novatec	Epstein Barr Virus (VCA) IgG ELISA	2	2
Novum	EBV VCA IgG	1	1
Virion (Medigal)	Epstein-Barr virus/VCA IgG Elisa	3	3
Non précisé	Non précisé	2	2
Total		121	121

Tableau 6.2.5. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps EBNA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
bioMérieux	Vironostika EBV-EBNA IgG	1	1
Biotest	Anti-EBV recombinant EBNA IgG Elisa	8	8
BMD	Immuno Dot Mono-G	7	7
	Elisa EBV EBNA IgG	2	2
DiaSorin	Liaison EBNA IgG	31	35
	ETI-EBNA-G	1	1
Diesse	Chorus Epstein Barr EBNA IgG	3	3
Euroimmun	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa	13	13
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Genbio (BMD)	EBNA-1 IgG EIA	1	1
Medac	EBV EBNA-1-IgG-ELISA PKS	2	2
Meridian	Premier EBNA IgG	2	2
Mikrogen	recomLine EBV IgG	1	1
Novum	EBV EBNA IgG	1	1
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus (EBNA-1) IgG	1	1
Non précisé	Non précisé	1	1
<b>Total</b>		<b>76</b>	<b>80</b>

Tableau 6.2.6. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps EA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
DiaSorin	Liaison EA IgG	7	7
Euroimmun	EBV-EA IgG Elisa	3	3
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Meridian	Premier EA IgG	1	1
<b>Total</b>		<b>12</b>	<b>12</b>

Les déterminations des IgG totaux ont été effectuées avec la trousse Enzygnost anti-EBV IgG de Dade Behring.

### 6.2.2.3. IgM

Tableau 6.2.7. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps VCA anti-EBV IgM

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
Adaltis	VCA IgG	1	1
Alphadia	EBV IgM Elisa	1	1
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgM	1	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgM Elisa	5	5
BMD	Immuno Dot Mono-M	5	5
	Elisa EBV VCA IgM	4	4
Dade Behring	Novagnost anti EBV IgM	1	1
DiaSorin	Liaison EBV IgM	49	48
Diesse	Chorus Epstein Barr VCA IgM	4	4
Euroimmun	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa	22	22
	EUROLINE: EBV-Profil 2	1	1
Focus	EBV VCA IgM RIFA	6	6
	Epstein-Barr Virus VCA IgM	1	1
Genbio (BMD)	EBV VCA IgM-EIA	1	1
Hycor Biomedical	EBV VCA IgM	1	1
Immunoconcepts	EBV-VCA IgM IFA	1	1
Medac	EBV VCA-IgM-ELA Test PKS	1	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgM	13	15
	Premier EBV VCA IgM	7	8
Novatec (DiaSorin)	Epstein Barr Virus (VCA) IgM ELISA	3	3
Novum	EBV VCA IgM	1	1
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus VCA IgM	1	1
Virion	Epstein-Barr virus/VCA IgM Elisa	3	3
Non précisé	Non précisé	1	1
Total		134	135

Les déterminations des EBNA IgM ont été effectuées avec les trousse IgM EUROLINE: EBV-Profil 2 d'Euroimmun et recomLine EBV IgM de Mikrogen.

Les déterminations des EA IgM ont été effectuées avec les trousse Anti-EBV recombinant EA IgM Elisa de Biotest, EBV-EA IgM Elisa et EUROLINE: EBV-Profil 2 (ces 2 dernières sont produites par Euroimmun).

Les déterminations des IgM totaux ont été effectuées avec la trousse Enzygnost anti-EBV IgM II de Dade Behring.



### 6.2.3. Résultats

#### 6.2.3.1. Anticorps hétérophiles

Pour l'échantillon S/7800, 99 laboratoires ont fourni la réponse «négatif» pour les anticorps hétérophiles ; pour l'échantillon S/7801, 100 laboratoires ont fourni cette réponse. Pour les 2 échantillons, 2 laboratoires ont mentionné avoir effectué le test, mais ils ont laissé ouvert la réponse.

#### 6.2.3.2. IgG

##### a. VCA IgG

Pour l'échantillon S/7800, 119 laboratoires ont obtenu des résultats positifs et 1 laboratoire un résultat borderline. Pour l'échantillon S/7801, 118 laboratoires ont obtenu des résultats positifs, 1 laboratoire un résultat borderline et 1 laboratoire un résultat négatif. Le laboratoire ayant utilisé 2 méthodes différentes, a trouvé les IgG positifs avec ces 2 méthodes pour les 2 échantillons.

Pour la trousse Liaison VCA IgG (Diasorin) nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum. Ces résultats sont présentés dans le tableau 6.2.8.

Pour les autres trousse avec plus de 10 utilisateurs une évaluation quantitative des résultats était impossible: pour la trousse EBV-CA IgG Elisa (Euroimmun) les résultats quantitatifs ont été mentionnés en différentes unités et pour la trousse Merifluor EBV IgG (Meridian) la plupart des résultats ont été mentionnés comme « > » ou « ≥ », mais avec des « limites » différentes.

Tableau 6.2.8. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Liaison VCA IgG pour les échantillons S/7800 et S/7801; les résultats sont exprimés en U/ml.

Echantillon	Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
S/7800	48	234	155	333
S/7801	48	81,8	65,4	153

## b. EBNA IgG

Pour l'échantillon S/7800, 72 laboratoires ont obtenu un résultat positif, 2 un résultat borderline et 2 laboratoires ont laissé ouvert la réponse. Pour l'échantillon S/7801, 71 laboratoires ont obtenu un résultat positif, 6 un résultat borderline et 3 un résultat négatif.

Pour la trousse Liaison VCA IgG (Diasorin) pour l'échantillon S/7800: 1 laboratoire a mentionné un résultat quantitatif de 595 U/ml, 2 ont mentionné 599 U/ml, 1 >599 U/ml, 1 a mentionné 600 U/ml et 23 > 600 U/ml; 3 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.

Pour l'échantillon S/7801 nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum pour cette trousse. Ces résultats sont présentés dans le tableau 6.2.9.

Pour l'autre trousse avec plus de 10 utilisateurs (EBV-CA IgG Elisa (Euroimmun)) une évaluation quantitative des résultats était impossible étant donné que les résultats quantitatifs ont été mentionnés en différentes unités .

Tableau 6.2.9. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Liaison EBNA IgG pour l'échantillon S/7801; les résultats sont exprimés en U/ml.

Trousse	Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
Liaison EBNA IgG (U/ml)	35	52,3	42	66,8

NB : 1 laboratoire a interprété un résultat quantitatif de 52 U/ml comme «négatif»

## c. EA IgG

Pour les 2 échantillons 11 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 1 laboratoire un résultat positif.

## d. IgG totaux

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les 2 échantillons.

Un aperçu des résultats quantitatifs est présenté dans le tableau 6.2.10.

Tableau 6.2.10. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Enzygnost anti-EBV IgG pour les échantillons S/7800 et S/7801; les résultats sont exprimés en U/ml.

Echantillon	Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
S/7800	22	141	106	284
S/7801	22	100	72	173

### 6.2.3.3. IgM

#### a. VCA IgM

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.11. Dans les cas où nous mentionnons 2 résultats, il s'agit de laboratoires qui ont utilisés 2 méthodes différentes pour l'échantillon S/7801 (pour l'échantillon S/7800 le laboratoire ayant utilisé 2 techniques a obtenu un résultat négatif avec ces 2 techniques).

Tableau 6.2.11. Résultats des VCA IgM pour l'échantillon S/7800 et S/7801.

Résultat	S/7800	S/7801
Négatif	129	76
Positif	2	38
Borderline	2	14
Pas de réponse	-	2
Positif/Négatif	-	2
Borderline/Négatif	-	1
Total	133	133

#### b. EBNA IgM

Pour l'échantillon S/7800, 1 laboratoire a obtenu un résultat positif et 1 laboratoire a obtenu un résultat négatif. Pour l'échantillon S/7801 les 2 laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

#### c. EA IgM

Pour l'échantillon S/7800, 2 laboratoires ont obtenu un résultat borderline et 1 laboratoire a obtenu un résultat négatif. Pour l'échantillon S/7801, 1 laboratoire a obtenu un résultat positif et 2 laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

#### d. IgM totaux

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les 2 échantillons.

## 6.3. CMV

### 6.3.1. Les participants

179 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 456 tests sur l'échantillon S/7800 et 457 tests sur l'échantillon S/7801.

Echantillon S/7800 : 2 laboratoires ont effectué 1 test, 90 laboratoires ont effectué 2 tests, 76 laboratoires ont effectué 3 tests, 9 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

Echantillon S/7801 : 2 laboratoires ont effectué 1 test, 89 laboratoires ont effectué 2 tests, 77 laboratoires ont effectué 3 tests, 9 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

Echantillon S/7800 :

- 2 laboratoires ont déterminé les anticorps totaux
- tous les laboratoires ont effectué la détermination des IgG (dont 2 laboratoires ont effectué 2 tests). Au total 181 déterminations des IgG ont donc été effectuées
- 175 laboratoires ont effectué la détermination des IgM (dont 13 laboratoires ont effectué 2 tests). Au total 188 déterminations des IgM ont donc été effectuées
- 84 laboratoires ont déterminé l'avidité (dont 1 laboratoire a effectué 2 tests). Au total 85 déterminations de l'avidité ont donc été effectuées

Echantillon S/7801 :

- 2 laboratoires ont déterminé les anticorps totaux
- tous les laboratoires ont effectué la détermination des IgG (dont 2 laboratoires ont effectué 2 tests). Au total 181 déterminations des IgG ont donc été effectuées
- 175 laboratoires ont effectué la détermination des IgM (dont 13 laboratoires ont effectué 2 tests). Au total 188 déterminations des IgM ont donc été effectuées
- 85 laboratoires ont déterminé l'avidité (dont 1 laboratoire a effectué 2 tests). Au total 86 déterminations de l'avidité ont donc été effectuées

1 laboratoire a déterminé les IgG et IgM sur l'échantillon S/7800 IgG et les IgG, IgM et l'avidité sur l'échantillon S/7801; tous les autres laboratoires ont effectué les mêmes tests sur les 2 échantillons.

Tableau 6.3.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Paramètre	Nombre de labos	
	S/7800	S/7801
IgG seul	2	2
Total + IgG	2	2
IgG + IgM	88	87
IgG + IgM + Avidité IgG	73	74
IgG + 2 IgM	3	3
IgG + 2 IgM + Avidité IgG	8	8
IgG + IgM + 2 Avidité IgG	1	1
2 IgG + 2 IgM + Avidité IgG	2	2

## 6.3.2. Réactifs utilisés

### 6.3.2.1 Détermination des anticorps anti-CMV totaux

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

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
Diamed	CMV IgG/IgM	1	1
Diesse	Enzywell CMV screen	1	1
Total		2	2

### 6.3.2.2. Détermination des IgG anti-CMV

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

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
Abbott	AxSYM CMV IgG	47	47
	Architect CMV IgG	14	14
bioMérieux	VIDAS CMV IgG	56	56
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgG	8	8
Diamedix	CMV IgG	1	1
Diasorin	Liaison CMV IgG	35	35
	ETI-CYTOK-G Plus	4	4
Euroimmun	CMV IgG	1	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG	1	1
Siemens	Immulite CMV IgG	12	12
Virion	Cytomegalovirus IgG ELISA	1	1
Non précisé	Non précisé	1	1
Total		181	181

### 6.3.2.3. Détermination des IgM anti-CMV

Tableau 6.3.4.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-CMV

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
Abbott	AxSYM CMV IgM	33	33
	Architect CMV IgM	12	12
bioMérieux	VIDAS CMV IgM	73	73
Dade Behring	Enzygnost anti CMV IgM	8	8
Diamed	CMV IgM	1	1
Diamedix	CMV IgM	1	1
Diasorin	Liaison CMV IgM	37	37
	ETI-CYTOK-M reverse Plus	6	6
Diesse	Chorus CMV IgM	1	1
Euroimmun	CMV IgM	1	1
Meridian	Merifluor CMV IgM	1	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgM	1	1
Siemens	Immulite CMV IgM	11	11
Virion	Cytomegalovirus IgM ELISA	1	1
Non précisé	Non précisé	1	1
Total		188	188

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

Tableau 6.3.5. : Réactifs utilisés pour la détermination de l'avidité IgG

Fabricant	Trousse	S/7800	S/7801
bioMérieux	VIDAS CMV IgG avidity	60	60
Diasorin	Liaison CMV IgG avidity	18	19
Diesse	Chorus CMV IgG avidity	4	4
Euroimmun	CMV avidity determination IgG	1	1
In house	In house	1	1
Mikrogen	recomBlot CMV IgG avidity	1	1
Total		85	86

### 6.3.3. Résultats

#### 6.3.3.1 Recherche d'anticorps totaux anti-CMV

Les 2 laboratoires ayant effectué la détermination des anticorps totaux, ont trouvé ces anticorps positifs pour les 2 échantillons.

#### 6.3.3.2 Recherche des IgG anti-CMV

Pour l'échantillon S/7800: tous les résultats étaient positifs. Les 2 laboratoires ayant déterminé les IgG avec 2 méthodes, ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 méthodes.

Pour l'échantillon S/7801: tous les résultats étaient positifs. Les 2 laboratoires ayant déterminé les IgG avec 2 méthodes, ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 méthodes.

Pour les trousse avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans les tableaux 6.3.6. et 6.3.7.

Tableau 6.3.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les IgG anti-CMV pour l'échantillon S/7800 pour les trousse les plus utilisées ; les résultats sont exprimés en AU/ml («A» est égal à arbitraire), UI/ml ou index; chaque méthode a cependant sa propre unité « arbitraire » ou « internationale », qui ne peut être comparée avec celle des autres méthodes.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Architect CMV IgG (AU/ml)	14	149,6	129,7	240
AxSYM CMV IgG (AU/ml) <sup>1</sup>	35	219,3	114	248
VIDAS CMV IgG (AU/ml) <sup>2</sup>	55	29	24	34
Liaison CMV IgG (IU/ml) <sup>3</sup>	33	6,8	2,6	12,3
Immulite CMV IgG (index)	12	11	9,64	13,8

<sup>1</sup> Il reste à mentionner que 7 laboratoires ont fourni une valeur > 250 AU/ml; il y avait également 5 laboratoires qui ont mentionné des valeurs plus élevées, à savoir : 805 832 887 911,4 et 1050 AU/ml.

<sup>2</sup> Il reste à mentionner qu'un laboratoire a mentionné une valeur de 221 AU/ml.

<sup>3</sup> Il reste à mentionner que 2 laboratoires ont mentionné des valeurs plus élevées, à savoir 21 et 80,7 IU/ml.

Tableau 6.3.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les IgG anti-CMV pour l'échantillon S/7801 pour les trousse les plus utilisées ; les résultats sont exprimés en AU/ml («A» est égal à arbitraire), UI/ml ou index; chaque méthode a cependant sa propre unité « arbitraire » ou « internationale », qui ne peut être comparée avec celle des autres méthodes.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Architect CMV IgG (AU/ml)	14	85,8	38,2	101
AxSYM CMV IgG (AU/ml)	47	43,3	29	54
VIDAS CMV IgG (AU/ml)	56	26	20	44
Liaison CMV IgG (IU/ml)	34	3,75	2,4	1,1
Immulite CMV IgG (index)	12	6,23	5,32	7,86

### 6.3.3.3 Recherche des IgM anti-CMV

Un aperçu des résultats est présenté dans le tableau 6.3.8.

Tableau 6.3.8. Aperçu des résultats pour les IgM anti-CMV pour les échantillons S/7800 et S/7801.

	S/7800	S/7801
Positif	144	174
Positif/borderline <sup>1</sup>	2	-
Positif/négatif <sup>1</sup>	1	-
Borderline	26	-
Négatif	2	1
<b>Total</b>	<b>175</b>	<b>175</b>

<sup>1</sup> Trois des laboratoires ayant utilisé 2 méthodes différentes pour la détermination des IgM anti-CMV ont obtenu pour l'échantillon S/7800 des résultats différents pour les 2 méthodes. Les 10 autres laboratoires ont obtenu un même résultat pour les 2 techniques. Pour l'échantillon S/7801 les 13 laboratoires ayant utilisé 2 méthodes différentes ont obtenu un même résultat pour ces 2 techniques.

Pour les trousse avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans les tableaux 6.3.9. et 6.3.10.

Tableau 6.3.9. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les IgM anti-CMV pour l'échantillon S/7800 pour les trousse les plus utilisées

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Architect CMV IgM (index) <sup>1</sup>	12	1,56	1,31	1,76
AxSYM CMV IgM (index) <sup>2</sup>	32	1,608	1,140	2,057
VIDAS CMV IgM (index) <sup>3</sup>	71	0,97	0,75	1,58
Liaison CMV IgM (AU/ml) <sup>4</sup>	36	62,1	35,5	77
Immulate CMV IgM (index) <sup>5</sup>	11	1,13	0,86	1,30

<sup>1</sup> Le laboratoire ayant obtenu l'index 1,31, a considéré les IgM comme borderline. Tous les autres utilisateurs de cette trousse ont considéré que les IgM étaient positives.

<sup>2</sup> En outre un laboratoire a mentionné une DO/CO de 2,5. Il est à noter qu'un laboratoire a interprété un index de 1,6 comme négatif. Tous les autres utilisateurs de cette trousse ont considéré que les IgM étaient positives.

<sup>3</sup> En outre 2 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif. 54 utilisateurs de cette trousse ont considéré que les IgM étaient positives et 19 les ont considérées comme borderline.

<sup>4</sup> En outre 1 laboratoire n'a pas fourni de résultat quantitatif. Il est à noter qu'un laboratoire a interprété un résultat de 61,4 AU/ml comme borderline. Tous les autres utilisateurs de cette trousse ont considéré que les IgM étaient positives.

<sup>5</sup> 5 utilisateurs de cette trousse ont considéré que les IgM étaient positives, 5 les ont considérées comme borderline et 1 laboratoire les a considérées comme négatives.



Tableau 6.3.10. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les IgM anti-CMV pour l'échantillon S/7801 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Architect CMV IgM (index)	12	9,42	8,09	10,62
AxSYM CMV IgM (index) <sup>1</sup>	32	1,208	0,900	1,689
VIDAS CMV IgM (index)	71	2,39	1,11	2,81
Liaison CMV IgM (AU/ml)	35	99	68,5	156
Immulate CMV IgM (index)	11	8	6,19	8,62

<sup>1</sup> En outre un laboratoire a mentionné une DO/CO de 6,7. Il est à noter qu'un laboratoire a interprété un index de 1,4 comme négatif.

#### 6.3.3.4 Avidité

Un aperçu des résultats est présenté dans le tableau 6.3.11.

Tableau 6.3.11. Aperçu des résultats pour l'avidité IgG CMV pour les échantillons S/7800 et S/7801.

	S/7800	S/7801
Faible	46	81
Faible/intermédiaire <sup>1</sup>	1	-
Intermédiaire	33	2
Elevé	3	2
Pas de réponse <sup>2</sup>	1	-
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>85</b>

<sup>1</sup> Le laboratoire ayant utilisé 2 méthodes différentes pour la détermination de l'avidité a obtenu pour l'échantillon S/7800 un résultat différent avec les 2 techniques. Pour l'échantillon S/7801 le laboratoire a obtenu un même résultat pour les 2 techniques (« élevé »).

<sup>2</sup> Pour l'échantillon S/7800 un laboratoire a fourni le résultat quantitatif (index 0,40), mais pas l'interprétation qualitative.

Pour les trousse avec plus de 10 utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans les tableaux 6.3.12. et 6.3.13. Pour la simplicité des calculs, tous les résultats ont été recalculés en % (autant que possible).

Tableau 6.3.12. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour l'avidité de CMV pour l'échantillon S/7800 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%) <sup>1</sup>	56	37	13	46
Liaison CMV IgG avidity (%) <sup>2</sup>	17	16,2	5	33

<sup>1</sup> En outre quelques laboratoires ont fourni des résultats dans des unités qui ne peuvent pas être recalculées en %, à savoir: 0,267 ua/ml, 0,307 rapport, 0,97 (unité non précisée). 1 laboratoire n'a pas fourni de résultat quantitatif. 33 utilisateurs de cette trousse ont considéré que l'avidité était faible, 26 ont considéré qu'elle était intermédiaire et 1 laboratoire n'a pas effectué d'interprétation qualitative de son résultat quantitatif.

<sup>2</sup> En outre 1 laboratoire a fourni un résultat dans une unité qui ne peut pas être recalculée en %, à savoir: 0,107 av. 11 utilisateurs de cette trousse ont considéré que l'avidité était faible, 6 ont considéré qu'elle était intermédiaire et 1 laboratoire la considérée comme élevée (avec un index de 0,33).

Tableau 6.3.13. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour l'avidité de CMV pour l'échantillon S/7801 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%) <sup>1</sup>	55	17,6	5	30
Liaison CMV IgG avidity (%) <sup>2</sup>	18	8,4	2,5	15,2

<sup>1</sup> En outre quelques laboratoires ont fourni des résultats dans des unités qui ne peuvent pas être recalculées en %, à savoir:  $\leq 0,20$  ua/ml, 0,508 rapport, 2,5 (unité non précisée). 1 laboratoire a répondu: «ininterprétable IgG: trop faible». 56 utilisateurs de cette trousse ont considéré que l'avidité était faible, 2 ont considéré qu'elle était intermédiaire et 2 l'ont considérée comme élevée (le laboratoire ayant répondu 2,5 et un laboratoire ayant répondu un index de 0,156).

<sup>2</sup> En outre 1 laboratoire a fourni un résultat dans une unité qui ne peut pas être recalculée en %, à savoir: 0,48 av; ce laboratoire a fourni l'interprétation «élevé». Tous les autres utilisateurs de cette trousse ont considéré que l'avidité était faible.

#### **6.4. Interprétations pour les échantillons S/7800 et S/7801**

A l'occasion de cette enquête nous vous avons demandé pour chacun des échantillons d'interpréter le CMV et l'EBV ensemble. Cette demande a posé des problèmes pour les laboratoires qui n'effectuent qu'un de ces 2 paramètres. Un certain nombre de ces laboratoires ont (parfaitement) résolu ce problème en fournissant sous la rubrique «autres» une interprétation du paramètre qu'ils ont effectué, accompagné de la remarque que l'autre paramètre n'est pas effectué dans leur laboratoire. D'autres laboratoires ont répondu qu'il leur était impossible de choisir une des interprétations que nous avons proposées ; vu la manière dont nous avons proposé les interprétations, nous pouvons accepter cette réponse.

Si nous envoyions encore de tels échantillons avec interprétations combinées dans le futur, nous veillerions à prévoir des possibilités pour les laboratoires qui n'effectuent qu'un paramètre.

176 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse des interprétations.

##### **6.4.1. L'échantillon S/7800**

Pour l'échantillon S/7800 la plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation «Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV». Quelques laboratoires ont choisi des variantes de cette interprétation. D'autres laboratoires ont proposé des interprétations différentes.

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.1.:

Tableau 6.4.1. Interprétation pour l'échantillon S/7800.

Interprétation	S/7800
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV. <sup>1</sup>	136
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et/ou sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; des examens complémentaires sont nécessaires pour faire la distinction. <sup>2</sup>	9
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; pas d'éléments pour une infection par EBV.	4
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; pas d'éléments pour une infection récente par EBV.	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; les tests pour l'EBV montrent des réactions croisées.	1
Sérologie suggestive d'une infection récente par CMV et d'une infection ancienne par EBV.	1
Infection par CMV: l'avidité est nécessaire pour la détermination du moment de l'infection; infection ancienne par EBV.	1
Possibilité d'une infection primaire par CMV; à exclure par la détermination de l'avidité et un 2e prélèvement après 3 semaines. EBV négatif.	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV. Tests supplémentaires: uniquement CMV IgG avidité. 2e prélèvement après quelques semaines.	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; pas d'éléments pour une infection primaire par EBV. Des examens complémentaires sont nécessaires: - culture virale sur urine - autre sérologie (tests d'hépatites) - CMV avidité - augmentation du titre de CMV IgG sur un 2e échantillon.	1
Profil sérologique compatible avec une infection primaire dans les semaines qui précèdent ou (avec) présence d'IgM résiduelle. Exclure une éventuelle réinfection ou réactivation. Au vu des données cliniques une réinfection par le conjoint qui lui fait une.	1
A contrôler d'ici 1-2 semaines si suspicion d'infection récente ou de réactivation.	1
Infection ancienne en EBV; relativement ancienne CMV (> 3 mois)	1
Infection ancienne en EBV; infection de plus de 3 mois en CMV (avidité forte)	1
Infection ancienne par EBV. Strictement dit nous ne pouvons pas dire qu'il s'agit d'une infection primaire par CMV, réactivation par CMV ou même des IgM faux positives. La clinique de la patiente peut avoir d'autres causes, non relatées au CMV.	1
Infection ancienne par CMV + réactivation par EBV.	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. Nous n'effectuons pas de tests d'EBV (uniquement le monospot). Mais étant donné que les tests de CMV IgG et IgM sur VIDAS sont des tests très spécifiques, la question concernant l'EBV ne doit pas être posée à mon avis. <sup>3</sup>	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. Tests complémentaires: IgG avidité ou contrôle des CMV IgG après 3 semaines (Nous n'effectuons pas de tests d'EBV). <sup>3</sup>	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. Pas d'interprétation possible pour l'EBV. <sup>3</sup>	1
Etant donné que le laboratoire n'effectue que la sérologie du CMV, il nous est impossible d'utiliser les interprétations proposées. Si on ne tient pas compte de l'EBV, nous trouvons que la sérologie des 2 patients est suggestive d'une infection primaire par CMV. <sup>3</sup>	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. <sup>3</sup>	2
La sérologie de l'EBV est indicative d'une infection ancienne (Nous n'effectuons pas la sérologie de CMV). <sup>4</sup>	1
Pas d'interprétation possible sans sérologie d'EBV. <sup>3</sup>	4
Pas d'interprétation possible sur base des tests effectués dans le laboratoire. <sup>5</sup>	3
<b>Total</b>	<b>176</b>

- <sup>1</sup> Quelques laboratoires ont ajouté des remarques à cette réponse:
- 2 laboratoires ont conseillé le prélèvement d'un échantillon de contrôle
  - 1 laboratoire a également conseillé le prélèvement d'un échantillon de contrôle et a mentionné en outre que l'échantillon actuel serait envoyé pour confirmation des IgM CMV
  - 1 laboratoire a conseillé de déterminer les IgG VCA pour confirmation de l'infection ancienne par EBV et pour exclure une réaction croisée (ce labo a déterminé les IgM VCA (négatives) et IgG les EBNA (positives))
  - «Infection à CMV en phase de guérison. Infection à EBV ancienne»
  - «Etant donné l'avidité intermédiaire cette interprétation ne peut être confirmée avec certitude. Une réactivation d'une infection antérieure ne peut pas être exclue (IgM d'habitude négatives). Le prélèvement d'un échantillon de contrôle après 3 semaines peut être considéré. Vu l'information clinique, il s'agit probablement d'une infection «récente» (+/- 3 mois ou plus ancien)»
  - «En cas de grossesse, nous enverrions le sérum pour l'avidité des anticorps IgG CMV»
  - «Infection ancienne par EBV (immunité); les résultats de CMV sont d'un labo externe»
  - «Les décisions des interprétations ont été prises sur base: des résultats de CMV; des tests complémentaires (EBV IgM, EBV VCA IgG et EBV EBNA IgG et avidité CMV) qui ont été effectués dans un labo externe»
- <sup>2</sup> Deux laboratoires conseillent d'effectuer des tests supplémentaires, trois laboratoires conseillent la prise d'un nouveau prélèvement et 4 laboratoires conseillent d'effectuer des tests supplémentaires et la prise d'un nouveau prélèvement.  
Un des laboratoires a déclaré ne pas effectuer la sérologie EBV et a conseillé d'effectuer un PCR afin de confirmer l'infection par CMV.
- <sup>3</sup> Réponses fournies par des laboratoires qui n'ont déterminé que le CMV.
- <sup>4</sup> Réponse fournie par un laboratoire qui n'a déterminé que l'EBV.
- <sup>5</sup> Deux de ces laboratoires n'ont déterminé que les anticorps hétérophiles pour l'EBV et n'ont pas effectué de tests pour le CMV. Le troisième laboratoire n'a déterminé que les anticorps totaux et IgG pour le CMV et n'a pas effectué de tests pour l'EBV.

#### 6.4.2. L'échantillon S/7801

Pour l'échantillon S/7801 une majorité des laboratoires a également choisi l'interprétation «Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV». Un nombre considérable de laboratoires ont préféré «Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; les tests pour l'EBV montrent des réactions croisées». D'autres laboratoires ont choisi «Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et/ou sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; des examens complémentaires sont nécessaires pour faire la distinction». Quelques laboratoires ont combiné certains des interprétations mentionnées ci-dessus ou ont proposé d'autres interprétations.

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.2.:

Tableau 6.4.2. Interprétation pour l'échantillon S/7801

Interprétation	S/7801
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV. <sup>1</sup>	100
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; les tests pour l'EBV montrent des réactions croisées. <sup>2</sup>	33
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et/ou sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; des examens complémentaires sont nécessaires pour faire la distinction. <sup>3</sup>	15
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; pas d'éléments pour une infection par EBV. <sup>4</sup>	5
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; pas d'éléments pour une infection récente par EBV.	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV.	4
Ou	
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; les tests pour l'EBV montrent des réactions croisées. <sup>5</sup>	
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et/ou sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; des examens complémentaires sont nécessaires pour faire la distinction.	1
Et	
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; les tests pour l'EBV montrent des réactions croisées. <sup>6</sup>	
Infection par CMV: l'avidité est nécessaire pour la détermination du moment de l'infection; infection ancienne par EBV	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; pas d'éléments pour une infection primaire par EBV. Des examens complémentaires sont nécessaires: - culture virale sur urine - autre sérologie (tests d'hépatites) - CMV avidité - augmentation du titre de CMV IgG sur un 2e échantillon.	1
Infection ancienne par EBV. Strictement dit nous ne pouvons pas dire qu'il s'agit d'une infection primaire par CMV, réactivation par CMV ou même des IgM faux positives. La clinique du patient peut avoir d'autres causes, non liées au CMV.	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. Nous n'effectuons pas de tests d'EBV (uniquement le monospot). Mais étant donné que les test de CMV IgG et IgM sur VIDAS sont des tests très spécifiques, la question concernant l'EBV ne doit pas être posée à mon avis. <sup>7</sup>	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. Tests complémentaires: IgG avidité ou contrôle des CMV IgG après 3 semaines (Nous n'effectuons pas de tests d'EBV). <sup>7</sup>	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. Effectuer la sérologie EBV pour exclure une infection primaire par EBV. <sup>7</sup>	1
Etant donné que le laboratoire n'effectue que la sérologie du CMV, il nous est impossible d'utiliser les interprétations proposées. Si on ne tient pas compte de l'EBV, nous trouvons que la sérologie des 2 patients est suggestive d'une infection primaire par CMV. <sup>7</sup>	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV. <sup>7</sup>	2
La sérologie de l'EBV est indicative d'une infection ancienne (Nous n'effectuons pas la sérologie de CMV). <sup>8</sup>	1
Pas d'interprétation possible sans sérologie d'EBV. <sup>7</sup>	4
Pas d'interprétation possible sur base des tests effectués dans le laboratoire. <sup>9</sup>	3
<b>Total</b>	<b>176</b>

- <sup>1</sup> Quelques laboratoires ont ajouté des remarques à cette réponse:
- 2 laboratoires ont conseillé le prélèvement d'un échantillon de contrôle
  - 1 laboratoire a également conseillé le prélèvement d'un échantillon de contrôle et a mentionné en outre que l'échantillon actuel serait envoyé pour confirmation des IgM CMV
  - 1 laboratoire a conseillé de déterminer les IgG VCA pour confirmation de l'infection ancienne par EBV et pour exclure une réaction croisée (ce labo a déterminé les IgM VCA (négatives) et les IgG EBNA (positives))
  - «Avec persistance d'IgM résiduels»
  - «Infection aiguë à CMV. Le patient S/7801 a probablement été contaminé par le CMV de la patiente S/7800»
  - «Infection ancienne par EBV (immunité); les résultats de CMV sont d'un labo externe.»
  - «Les décisions des interprétations ont été prises sur base: des résultats de CMV; des tests complémentaires (EBV IgM, EBV VCA IgG et EBV EBNA IgG et avidité CMV) qui ont été effectués dans un labo externe»
- <sup>2</sup> Un laboratoire a conseillé le prélèvement d'un échantillon de contrôle après 2-3 semaines.
- <sup>3</sup> Quatre laboratoires conseillent d'effectuer des tests supplémentaires, quatre laboratoires conseillent la prise d'un nouveau prélèvement et 7 laboratoires conseillent d'effectuer des tests supplémentaires et la prise d'un nouveau prélèvement.
- Un de ces laboratoires suspecte qu'il s'agisse d'une infection primaire par CMV et d'une réaction croisée pour l'EBV (et conseille de déterminer les EBNA IgG et de prélever un 2<sup>e</sup> échantillon après 2-3 semaines).
- Un des laboratoires a déclaré ne pas effectuer la sérologie EBV et a conseillé d'effectuer un PCR afin de confirmer l'infection par CMV.
- <sup>4</sup> Un laboratoire a conseillé le prélèvement d'un échantillon de contrôle après 2-3 semaines pour le suivi du titre.
- <sup>5</sup> Deux laboratoires ont mentionné que l'interprétation «Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV ; les tests pour l'EBV montrent des réactions croisées.» n'est valide que pour 1 des tests d'EBV.
- <sup>6</sup> Ce laboratoire a conseillé de déterminer la formule sanguine.
- <sup>7</sup> Réponses fournies par des laboratoires qui n'ont déterminé que le CMV.
- <sup>8</sup> Réponse fournie par un laboratoire qui n'a déterminé que l'EBV.
- <sup>9</sup> Deux de ces laboratoires n'ont déterminé que les anticorps hétérophiles pour l'EBV et n'ont pas effectué de tests pour le CMV. Le troisième laboratoire n'a déterminé que les anticorps totaux et IgG pour le CMV et n'a pas effectué de tests pour l'EBV.

## 6.5 Discussion contrôle de qualité en sérologie : anticorps anti-CMV et anti-EBV

Nous référons également au commentaire de l'EEQ 2005/3.

### Introduction

Les virus CMV et EBV sont des virus herpétiques. Le diagnostic sérologique des virus herpétiques est compliqué en raison des réactions croisées. Une infection par un certain type de virus herpétique peut induire une stimulation de la réaction immunitaire et causer une augmentation des anticorps vis-à-vis des autres virus herpétiques. Surtout les déterminations des IgM sont sujettes à ces réactions croisées.

La présence des anticorps IgM contre les virus herpétiques ne démontre donc pas nécessairement une infection primaire. Pour cette raison nous avons choisi de présenter comme options pour les interprétations « sérologie suggestive de... ». La sérologie suggère qu'il pourrait s'agir d'une infection récente, mais il y a trop peu d'éléments pour en livrer la preuve finale. L'interprétation se fera donc en fonction de la symptomatologie clinique et des résultats d'éventuels autres tests.

### Echantillons examinés

Les deux échantillons envoyés avaient été prélevés chez un couple, qui ont tous les deux une infection primaire. L'infection par CMV a d'abord été diagnostiquée chez le mari. Il se présentait avec une fièvre et des tests hépatiques élevés. Quelques semaines après les tests hépatiques de sa femme étaient également élevés. Les échantillons ont été prélevés respectivement 2 et 4 semaines après l'établissement du diagnostic.

### Discussion de la sérologie CMV

#### ***IgG***

Tous les laboratoires ont trouvé les IgG positives dans les 2 échantillons. Il est à remarquer qu'il n'y a aucune similitude entre les différentes trousse en ce qui concerne les unités arbitraires retrouvées. La médiane pour l'échantillon S/7800 par exemple était 219 pour la trousse AxSYM CMV IgG et 29 pour la trousse VIDAS CMV IgG. La médiane pour la trousse Liaison CMV IgG était 6.8 IU. Ceci nous rappelle une fois de plus que les échantillons consécutifs ne peuvent être interprétés que s'ils sont effectués dans le même laboratoire avec la même technique (et de préférence dans le même « run »).

#### ***IgM***

En ce qui concerne les déterminations des IgM nous avons constaté quelques problèmes: Les deux échantillons ont été prélevés chez des patients avec une infection primaire par CMV dans un délai relativement bref après le diagnostic. Nous nous attendions donc à voir des IgM positives dans les 2 échantillons.

Pour l'échantillon S/7800 3 labos ont renvoyé un résultat négatif.

Il est à noter qu'un laboratoire a considéré comme négatif une valeur, qui a été interprétée comme positive par les autres utilisateurs de cette trousse. Ce laboratoire a néanmoins fourni l'interprétation correcte du profil sérologique, à savoir « suggestive pour une infection primaire par CMV ». Probablement qu'il s'agit d'une distraction du laboratoire au moment de remplir les formulaires de réponse et donc pas d'une défaillance de la trousse.

Pour l'échantillon S/7801 nous avons constaté la même erreur par le même labo.

Si nous éliminons les interprétations fautives des IgM, nous pouvons conclure qu'il n'y a que deux résultats négatifs pour les IgM dans l'échantillon S/7800: la trousse CMV



IgM (Diamedix) (un seul utilisateur) et la trousse Immulite CMV IgM (1 résultat négatif sur 11 utilisateurs)

### ***Avidité des IgG***

Nous attendions une avidité faible pour les 2 échantillons étant donné qu'il s'agit d'une infection primaire récente.

S/7800.

Trois des 84 labos qui ont déterminé l'avidité sur cet échantillon ont retrouvé une avidité élevée.

L'analyse de ces résultats erronés a montré que ces avidités élevées ont été retrouvées par les trousse

Chorus CMV IgG avidity (Diasorin) (1 des 4 utilisateurs)

Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (1 des 18 utilisateurs)

CMV avidity determination IgG (Euroimmun) un seul utilisateur

Les utilisateurs de ces trousse ont par conséquent fourni une interprétation incorrecte en ce qui concerne la sérologie CMV, à savoir > 3 mois.

La raison de ces interprétations fautive n'est pas connue, il est possible que le titre faible des IgG ait joué un rôle.

S/7801.

Deux des 85 labos qui ont déterminé l'avidité sur cet échantillon ont retrouvé une avidité élevée.

L'analyse de ces résultats erronés a montré que ces avidités élevées sont probablement dues à des interprétations incorrectes car les valeurs mentionnées correspondent à des avidités faibles.

### ***Réponses incorrectes pour l'interprétation de la sérologie CMV***

3 laboratoires ont fourni des réponses fautive

Infection relativement ancienne CMV (> 3 mois)

Infection de plus de 3 mois en CMV (avidité forte)

Infection ancienne par CMV + réactivation par EBV.

### ***Réponses correctes pour l'interprétation de la sérologie CMV***

Les interprétations correctes pour les 2 échantillons étaient: Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et les variations. (Voir les remarques dans le point 6.4)

### ***Remarques***

Un laboratoire a conseillé une PCR CMV pour confirmer l'infection primaire par CMV. Les tests de PCR ne sont cependant pas conseillés chez les personnes immunocompétentes pour confirmer une sérologie IgM positive; en outre une PCR ne permet pas de différencier les infections primaires des réactivations.

## Discussion de la sérologie EBV

Le deuxième objectif de cet EEQ était d'examiner si l'infection primaire par CMV a influencé les résultats des EBV IgM.

### ***Anticorps hétérophiles***

Aucun résultat n'a été trouvé positif chez les utilisateurs de ce test. Etant donné qu'il ne s'agissait pas d'une infection primaire par EBV le résultat négatif était la bonne réponse.

### ***Anticorps IgG anti-EBV***

Les 2 patients avaient déjà des anticorps IgG anti-EBV d'une infection antérieure par EBV.

#### ***VCA IgG***

Un seul labo a trouvé un résultat négatif pour l'échantillon S/7801. La trousse utilisée est la trousse EBV IgG Elisa d'Alphadia (1 seul utilisateur).

#### ***EBNA IgG***

La plupart des labos ont également correctement répondu les EBNA IgG comme positives.

Les réponses fautives pour l'échantillon S/7801: 3 labos ont mentionné que les EBNA IgG étaient négatives.

Un labo a considérée comme négative une valeur interprétée par les autres utilisateurs de cette trousse comme positive.

Les autres résultats (réellement) fautifs ont été fournis par les utilisateurs des trousse suivantes

(EBNA-1) IgG Elisa (Euroimmun) (1 des 13 utilisateurs)

EUROLINE: EBV-Profil 2 (Euroimmun) (1 seul utilisateur)

#### ***EA IgG***

8 labos ont déterminé les EA IgG. La recherche des anticorps IgG contre l'EA n'est pas une bonne technique pour évaluer si le patient a déjà fait une infection par l'EBV. En effet les anticorps anti-EA montent très vite après l'infection mais deviennent négatifs quelques mois après l'infection. Ils peuvent être à nouveau trouvés en cas de réactivations et de tumeurs associées à l'EBV (lymphome de Burkitt, carcinome nasopharyngien).

### ***Anticorps IgM anti-EBV***

La plupart des laboratoires n'ont pas trouvé d'anticorps anti-EBV IgM dans aucun des 2 échantillons.

Les utilisateurs de la trousse Liaison ont cependant souvent mentionné des anticorps IgM positifs dans l'échantillon S/7801. 34 des 46 utilisateurs de cette trousse ont fourni une réponse positive et 11 une réponse borderline.

Une réaction croisée n'est pas un problème infranchissable à condition qu'un résultat positif soit confirmé. Les utilisateurs de la trousse Liaison doivent être conscient de la possibilité de cette réaction croisée et disposer d'une technique de confirmation. 27 des 34 ont donc déterminé les EBNA IgG. 7 n'ont pas déterminé les EBNA IgG, mais 1 labo a utilisé une autre technique pour la détermination des IgM, qui était négative.

La détermination des anticorps EBNA IgG peut être utilisée pour confirmer le diagnostic d'une infection primaire par EBV en cas d'un résultat positif pour les EBV VCA IgM. Le taux d'anticorps EBNA commence à monter 2 à 3 mois après une infection primaire par

EBV et atteint un pic après 7 à 8 mois. Il reste positif à vie. Une sérologie EBNA IgG positive exclut donc une infection primaire par EBV. Une sérologie EBNA IgG négative avec VCA IgG et IgM positives plaide pour une infection primaire par EBV.

### **Réponses correctes pour l'interprétation de la sérologie EBV**

Il n'y avait pas de résultats réellement fautifs pour l'EBV.

Il reste cependant à noter la remarque non-fondée suivante:

1 laboratoire conseille d'effectuer la détermination des VCA IgG pour confirmer une infection ancienne par EBV et pour exclure une réaction croisée.

Etant donné que ce laboratoire avait déjà obtenu des VCA IgM négatives et des EBNA IgG positives, la détermination des VCA IgG n'avait aucune utilité dans la confirmation d'une infection ancienne par EBV.

### **Utilisation des tests pour l'EBV**

Nous avons remarqué les points suivants dans l'évaluation des combinaisons des tests utilisés pour l'EBV:

- 1) Beaucoup de labos utilisent un grand nombre de tests qui ne sont pas vraiment nécessaires pour le diagnostic. Les participants ont probablement voulu contrôler toutes les techniques disponibles au laboratoire dans le cadre de cette EEQ.
- 2) La combinaison idéale des tests sérologiques (dans la situation belge et en dehors du contexte des tumeurs associées à l'EBV), sont les VCA IgG et IgM. L'utilisation de cette combinaison implique néanmoins la nécessité d'effectuer une confirmation en cas de résultats positifs pour les IgM. Pour cette confirmation d'une éventuelle infection primaire par EBV nous pouvons alors utiliser les EBNA IgG:
  - i. Les EBNA IgG négatives en combinaison des VCA IgG et IgM positifs indiquent qu'il s'agit d'une infection primaire par EBV.
  - ii. Attention: si seules les VCA IgM sont positives et que les VCA IgG sont encore négatives, les EBNA IgG NE sont PAS utiles. Les EBNA IgG ne peuvent jamais être positives si les VCA IgG sont négatives étant donné qu'elles deviennent positives plus tard. Dans cette situation, la recherche des anticorps hétérophiles ou un échantillon de suivi peuvent fournir la réponse définitive sur le caractère aigu ou non de l'infection.
- 3) La combinaison des EBNA IgG et un test d'IgM peut être utilisée à condition d'observer les éléments suivants:
  - i. Les EBNA IgG positives sont indicatrices d'une infection ancienne indépendant de la présence ou absence des VCA IgM.
  - ii. Les EBNA IgG négatives avec des VCA IgM positives ne sont pas nécessairement indicatrices d'une infection aiguë par EBV. En effet, il peut s'agir d'une personne non «immunisée» (pas d'IgG) qui fait une infection avec un autre virus herpétique qui peut induire des réactions croisées dans les IgM. Par conséquent ce profil doit également être contrôlé. Dans ce cas-ci la détermination des EBV VCA IgG peut être utilisée comme test supplémentaire. En cas de VCA IgG positives il s'agit d'une infection primaire: voir 2i. En cas de VCA IgG négatives : voir 2ii.

### Conclusion de l'évaluation de la sérologie pour CMV et EBV

1. Nous n'avons pas trouvé de problèmes fondamentaux concernant la réactivité des troussees utilisées.
2. Il est important d'évaluer le profil sérologique complet dans l'interprétation de la sérologie et de ne pas se baser sur un seul paramètre (p.ex. avidité IgG, IgM positives,...) pour conclure s'il s'agit d'une infection récente ou ancienne. La plupart des laboratoires ont satisfait à cette demande.
3. Certaines troussees d'IgM anti-EBV montrent un degré de réactions croisées plus élevées que d'autres pour les échantillons de patients avec une infection primaire par CMV, mais en cas d'utilisation correcte des tests de confirmation, ceci n'a pas posé des problèmes diagnostiques.
4. La plupart des laboratoires, mais pas tous, utilisent un panel de tests, qui permettent de diagnostiquer de manière adéquate les infections aiguës par EBV. Nous conseillons aux autres laboratoires d'adapter leur panel et de le reprendre dans leur SOP.
5. Ils existent toujours des négligences dans le rendu des résultats. Il s'agit probablement d'une conséquence de la nature spécifique des contrôles de qualités qui demandent pour chaque échantillon un nombre d'actes administratifs qui ne sont pas routiniers. Ces erreurs administratives seraient probablement moins commises en routine. Néanmoins elles témoignent d'un certain laisser-aller qu'il faut éviter.

Anne Naessens, UZ VUB, Brussel

## VII. CAS THEORIQUE

A l'occasion de cette enquête nous vous avons demandé de répondre au cas théorique suivant (relatif à la phase pré-analytique). Dans le futur nous enverrons des échantillons dédiés à la phase pré-analytique.

Vous avez reçu l'information clinique suivante:

« Mercredi à 8 heures, vous recevez un échantillon d'urines prélevées par mi-jet pour culture, examen microscopique et antibiogramme. Le formulaire de demande d'analyse spécifie clairement que l'échantillon a été prélevé le mardi après-midi. L'échantillon est délivré au laboratoire sans réfrigération. »

### 7.1. Résultats

Nous avons reçu des réponses de 175 laboratoires.

Dans le tableau 7.1. ci-dessous vous aurez un aperçu des façons d'agir des laboratoires en routine avec ce genre d'échantillons. Certains laboratoires font une distinction entre les patients hospitalisés et non-hospitalisés.

Quelques laboratoires ont mentionné leur propre proposition (différente des options que nous avons proposées).

Tableau 7.1. Façon d'agir en routine avec un échantillon d'urine non-conforme (transport trop long, pas de réfrigération).

Façon d'agir en routine	Nbre de labos
Vous analysez l'échantillon sans plus <sup>1</sup>	10
Vous analysez l'échantillon sans plus Ou Vous analysez l'échantillon et adaptez votre rapport en fonction du résultat de l'examen microscopique	1
Vous analysez l'échantillon mais faites apparaître un commentaire recommandant d'interpréter le résultat avec prudence <sup>2</sup>	61
Vous analysez l'échantillon mais faites apparaître un commentaire recommandant d'interpréter le résultat avec prudence Ou Vous analysez l'échantillon et vous demandez au prescripteur de vous fournir un nouvel échantillon à titre de contrôle <sup>3</sup>	4
Vous analysez l'échantillon mais faites apparaître un commentaire recommandant d'interpréter le résultat avec prudence Ou Vous rejetez l'échantillon <sup>4</sup>	1
Vous analysez l'échantillon mais faites apparaître un commentaire recommandant d'interpréter le résultat avec prudence Ou Vous rejetez l'échantillon et vous téléphonez au médecin demandeur pour lui demander d'envoyer un nouvel échantillon <sup>5</sup>	2
Vous analysez l'échantillon mais faites apparaître un commentaire recommandant d'interpréter le résultat avec prudence Ou Vous rejetez l'échantillon, vous téléphonez au médecin demandeur pour lui demander d'envoyer un nouvel échantillon et répétez cette demande dans le rapport <sup>6</sup>	1

Vous analysez l'échantillon et adaptez votre rapport en fonction du résultat de l'examen microscopique <sup>7</sup>	28
Vous analysez l'échantillon et vous demandez au prescripteur de vous fournir un nouvel échantillon à titre de contrôle <sup>8</sup>	20
Vous rejetez l'échantillon <sup>9</sup>	1
Vous rejetez l'échantillon et vous téléphonez au médecin demandeur pour lui demander d'envoyer un nouvel échantillon	7
Vous rejetez l'échantillon et demandez dans votre rapport de fournir un nouvel échantillon	5
Vous rejetez l'échantillon, vous téléphonez au médecin demandeur pour lui demander d'envoyer un nouvel échantillon et répétez cette demande dans le rapport. <sup>10</sup>	26
Vous analysez l'échantillon et adaptez votre rapport en fonction du résultat d'un système d'expert qui utilise la lectures des « strips », le cytomètre de flux et éventuellement l'examen microscopique. Le biologiste valide et rédige le rapport sur base de l'information clinique si connu. <sup>11</sup>	1
J'analyse l'échantillon et en fonction du résultat je mets un commentaire.	1
Vous effectuez l'examen microscopique et vous rejetez la culture et l'antibiogramme	1
1. Nous ne sommes pas confronté avec ce problème dans l'hôpital (nous travaillons uniquement pour les intra-muros, et pas pour les extra-muros).	1
2. Si nous aurions une telle demande nous téléphonerions afin de savoir qu'il s'agit d'un échantillon d'urine précieux et s'il a été conservé dans le réfrigérateur.	
1. Patient externe: on analyse l'échantillon en faisant apparaître un commentaire recommandant d'interpréter le résultat avec prudence vu la mauvaise conservation du prélèvement et en demandant un contrôle d'analyse si possible.	1
2. Patient interne: on rejette l'échantillon et on demande par téléphone un nouvel échantillon et on répète cette demande dans le rapport en signalant la non-conformité.	
Examen microscopique (pour recherche de globules blancs) est réalisé (pas la culture). Nouvel échantillon demandé dans le rapport.	1
1. Patient hospitalisé: en principe rejet de l'échantillon. Téléphoner à l'étage : si le patient déjà sous AB, analyse de l'échantillon et adaptation du rapport en fonction du sédiment ; si pas d'AB : nouvel échantillon.	1
2. Patient ambulancier (échantillon reçu via navette): analyse de l'échantillon avec rapport adapté. Demande d'échantillon de contrôle si clinique pertinente.	
Aucune des propositions de procédures n'est applicable parfaitement dans notre labo. Procédure utilisée :	1
1. Labo privé. 10-15 urines par jour. Le protocole des résultats reprend la date de prélèvement, de réception et de protocolorage. L'échantillon est analysé endéans les 2 heures de la réception.	
2. Analyse de l'échantillon réalisée quasi à chaque fois (même si échantillon reçu en dehors des délais normaux : de nombreuses observations restent possibles et parfois utiles ou indispensables pour le prescripteur). Seuls cas de non-exécution : prélèvement totalement inadéquat : récipient contenant encore des traces de mayonnaise, confiture ou autre aliment...)	
3. Labo privé = contacts téléphoniques très nombreux avec les prescripteurs : communication des résultats avec mention verbale éventuelle des nettes réserves ou des risques d'erreurs (cylindres, prolifération bactérienne,...). Le protocole des résultats reprend, dans le cas présent, la mention de la date/heure de prélèvement.	
<hr/> <b>Total</b>	<b>175</b>

- <sup>1</sup> Un laboratoire a ajouté la remarque que la date sur la demande d'analyse ne correspond pas forcément à la date d'analyse.
- <sup>2</sup> Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque sur cette proposition:
- 1) Il existe d'autres possibilités: effectuer avec commentaire + concertation avec le médecin 2) Il existe des directives auxquelles les échantillons doivent satisfaire aussi bien dans le laboratoire qu'envers le prescripteur 3) Il n'est pas réaliste de rejeter des échantillons ou même de ne pas les effectuer dans une situation ambulante. Aussi bien le patient que le médecin attendent une réponse. 4) De facto on ne sait quasi jamais l'heure du prélèvement.
  - La culture de l'échantillon n'est effectuée qu'après un essai pour obtenir un échantillon nouveau a échoué (situation ambulante)
  - Les prescripteurs ne mentionnent jamais l'heure de prélèvement. L'échantillon est toujours examiné et le rapport est adapté en fonction du résultat de l'examen microscopique. Le rejet d'un échantillon est très difficilement accepté. Les directives générales de notre laboratoire sont reprises dans notre manuel de prélèvement d'échantillons, cfr. ISO 15189
  - Citation du Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM): 'If an improperly handled specimen can not be replaced, document in the final report that the specimen quality may have been compromised'.
  - Nous fournissons à nos services hospitaliers un système de prélèvement de tubes d'urines: un sec pour le sédiment et un tube contenant de l'acide borique pour la culture (qui permet de garder la tube jusqu'à 24h à température ambiante). Nous implémentons le système dans les divers centres médicaux qui travaillent avec nous. Dans un second temps, nous voudrions lancer ce système auprès nos médecins généralistes.
  - Nous conseillons également le prélèvement d'un échantillon de contrôle (remarques fournies par 2 laboratoires)
  - Si cela se répète, on téléphone au médecin
  - Dépendant du résultat nous fournissons un commentaire éventuel.
  - Si nous connaissons le moment de prélèvement
  - En dehors des hémocultures nous ne connaissons que rarement l'heure de prélèvement des échantillons bactériologiques.
- <sup>3</sup> Pour 1 laboratoire la demande d'un échantillon nouveau est la 1<sup>e</sup> option et la mention que le résultat doit être interprété avec prudence la 2<sup>e</sup>.
- <sup>4</sup> L'option « Vous analysez l'échantillon mais faites apparaître un commentaire recommandant d'interpréter le résultat avec prudence. » n'est utilisée que dans des rares cas.
- <sup>5</sup> Les 2 laboratoires ont mentionné que le rejet de l'échantillon est effectué pour les patients hospitalisés et que pour les patients externes ils fournissent la réponse que le résultat doit être examiné avec prudence. Un des 2 laboratoires utilise pour les patients hospitalisés le système Monovette®.
- <sup>6</sup> Le laboratoire a mentionné que le rejet de l'échantillon est effectué pour les patients hospitalisés et que pour les patients externes il fournit la réponse que le résultat doit être examiné avec prudence (avec la question éventuelle d'un échantillon de contrôle).
- <sup>7</sup> Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque sur cette proposition:
- Aucune des propositions n'est valable pour nous. Nous examinons tous les échantillons sans connaissance de la phase pré-analytique, qui n'est en réalité que rarement connue. Nous effectuons sur l'échantillon en question les tests demandés par le prescripteur, à savoir l'examen microscopique et la culture. Sur base des résultats de l'examen microscopique, éventuellement en combinaison avec les résultats de la culture, nous décidons d'effectuer ou non un antibiogramme (tableau de décision de la KUL). Le médecin n'est pas contacté. S'il existe des arguments, nous demandons un échantillon de contrôle dans le rapport.
  - Et on demande un échantillon de contrôle en fonction des résultats
  - Les conditions d'acheminement au laboratoire ne reflètent pas nécessairement les conditions de conservation de l'échantillon. Actuellement nous n'avons pas de contrôle objectif des conditions de conservation de chaque échantillon. Tout résultat est interprété en prenant en considération différents facteurs. Toute suspicion de contamination et de mauvaise conservation fait l'objet d'un commentaire sur le rapport.
  - Avec réponse «Echantillon contaminée. Date de prélèvement?»
- <sup>8</sup> Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque sur cette proposition:
- Si croissance d'une flore mixte
  - Nous faisons prélever les urines sur acide borique
- <sup>9</sup> Avec la remarque que le transport peut durer max. 2 heures à température ambiante.
- <sup>10</sup> Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque sur cette proposition:
- Sinon il est impossible de distinguer contamination et infection (critères de Kass)
  - Malheureusement nous savons rarement quand l'échantillon a été prélevé et son mode de conservation
- <sup>11</sup> En outre le laboratoire a ajouté les remarques suivantes:
- «L'urine doit êtreensemencée endéans les 4 heures après le prélèvement»
  - Le personnel du service logistique apporte continuellement les échantillons de la clinique et de la polyclinique au labo.
  - Les urines sont placées systématiquement dans le réfrigérateur. A 11h30 nous effectuons l'examen microscopique, la cytométrie de flux et la lecture des «strips». A partir de 13h les urines sontensemencées continuellement jusque 16h30.
  - Après 16h30 les urines sont placées dans le réfrigérateur etensemencées le même soir (ou nuit).

65 laboratoires ont mentionné utiliser des directives publiées pour forger leur opinion: 43 ont mentionné 1 directive, 17 ont mentionné 2 directives, 4 ont mentionné 3 directives et 1 laboratoire a mentionné 8 directives. Le tableau 7.2. présente un aperçu des directives utilisées  
Un des laboratoires mentionnant de ne pas utiliser de directives réfère à l'apprentissage dans le cursus de biologie clinique; un autre laboratoire réfère au livre de Carbonelle de la SFM.

Tableau 7.2. Directives utilisées

Directives utilisées	Nbre de labos
CLSI + ECLM + Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech + Précis de bactériologie clinique (Eska 2e ed Fremy J.) + Manual of Clinical Microbiology (ASM) + A guide to specimen management in clinical Microbiology (ASM)	1
CLSI + ECLM + Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM)	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech + autre manuel de l'ASM	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech + REMIC	1
Specimen management in clinical microbiology (ASM) + REMIC + Echantillons biologiques phase préanalytique	1
CLSI + Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM)	2
CLSI + Manual of Clinical Microbiology (ASM)	1
CLSI + REMIC	1
CLSI + Définition du CDC des infections nosocomiales	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cumitech	4
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Manual of Clinical Microbiology (ASM)	2
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + A guide to specimen management in clinical Microbiology (ASM)	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Essential procedures for clinical microbiology (Henry Isenberg)	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + Cours de microbiologie Prof. Yourasowski	1
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM) + « Manuel du bon sens »	1
Principles and practice of infectious diseases (Mandell) 6e ed. + Clinical Microbiology (8e ed)	1
Van De Pitte + « Bon sens »	1
CLSI	3
Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM)	26
Cumitech	3
REMIC	3
ISO 15189	2
Phase préanalytique et prélèvement en biologie clinique	1
Tietz clinical guide to laboratory tests 4th edition	1
Workshops bioMérieux	1
SFM	1
Algorithmes dans différents SOPS basés sur différentes directives	1
Non précisé	1
<b>Total</b>	<b>65</b>



Pour les directives les plus utilisées nous présentons dans le tableau 7.3. un aperçu des années utilisées dans les laboratoires.

Tableau 7.3. Années des directives utilisées

Année	Nombre de laboratoires utilisant les directives		
	CLSI	Clinical Microbiology Procedures Handbook	Cumitech
1987			1
1992		4	
1995	1	2	
1996		1	
1998		3	2
1999		3	
2001	2		
2003		1	
2004	1	12	
2005	1	2	
2006	1		
2007	2	3	1
2008	1		
«last edition»		1	1
«2d edition»			1
Non précisé	1	10	4
Total	10	42	10

89 laboratoires (50.9%) ont des directives écrites dans le laboratoire pour rejeter certains échantillons d'urines; 83 (47.4%) laboratoires n'en ont pas; 3 laboratoires n'ont pas fourni de réponse à cette question.

Quatre des laboratoires disposant de directives ont fourni une remarque:

- Les directives générales de notre laboratoire sont reprises dans notre manuel de prélèvement d'échantillons, cfr. ISO 15189
- Consulter un biologiste pour avis
- Procédures générales de non-conformité
- Mais insuffisante

Cinq des laboratoires ne disposant pas de directives ont également fourni une remarque:

- Car impossible de rejeter des urines en médecine générale
- C'est toujours en fonction du résultat qu'on fait le tri
- Sauf :
  - o rejet des sondes urinaires
  - o si on reçoit un volume d'urine < 10 ml, on écrit le commentaire suivant : « Résultat sous réserve, pour un résultat fiable, il faut au moins 10 ml d'urine ».
- Il existe des directives pour le prélèvement
- Il existe des directives pour l'interprétation de la culture

45 laboratoires (25.7%) ont des directives écrites envers les prescripteurs pour rejeter certains échantillons d'urines; 123 (70.3%) laboratoires n'en ont pas; 7 laboratoires n'ont pas fourni de réponse à cette question.

Deux des laboratoires disposant de directives ont fourni une remarque:

- Les directives générales de notre laboratoire sont reprises dans notre manuel de prélèvement d'échantillons, cfr. ISO 15189
- Procédures générales de non-conformité

Cinq des laboratoires ne disposant pas de directives ont également fourni une remarque:

- Sauf :
  - o rejet des sondes urinaires
  - o si on reçoit un volume d'urine < 10 ml, on écrit le commentaire suivant :  
« Résultat sous réserve, pour un résultat fiable, il faut au moins 10 ml d'urine ».
- S'il existe des raisons précises qui pourraient influencer le résultat de la culture, elles seront reprises dans le rapport
- Pour les patients externes: commentaire sur le protocole
- Il existe des directives écrites (disponibles par voie électronique) sur comment prélever les échantillons. Il n'existe pas de directives qui mentionnent explicitement comment les échantillons d'urines sont rejetés. Il existe des directives générales pour le rejet des échantillons.
- Il existe des directives de prélèvement pour tous les échantillons
- Il existe des directives pour le prélèvement
- Il existe des directives pour le prélèvement et la conservation
- Mais elles sont en cours de rédaction

Si nous comparons la disponibilité des directives internes au laboratoire et externes envers les prescripteurs nous constatons que:

- 43 laboratoires ont des directives internes et externes
- 82 laboratoires n'ont ni de directives internes ni de directives externes
- 41 laboratoires ont des directives internes mais pas de directives externes
- 1 laboratoire n'a pas de directives internes mais a des directives externes
- 5 laboratoires ont des directives internes et n'ont pas répondu à la question de savoir s'ils ont des directives externes
- 1 laboratoire a des directives externes et n'a pas répondu à la question de savoir s'il a des directives internes
- 2 laboratoires n'ont répondu à aucune des 2 questions

## 7.2. Commentaire

Jusqu'à présent, ce programme de contrôle de qualité en microbiologie a seulement porté sur la phase analytique. Selon l'AR du 3/12/1999 relatif à l'agrément des laboratoires de biologie clinique, il appartient aussi aux laboratoires d'exercer un contrôle sur les procédures pré- et postanalytiques.

Par ce cas théorique, nous avons voulu attirer l'attention des biologistes cliniques sur la phase préanalytique. Une culture d'urines a été sélectionnée car l'interprétation erronée de cette analyse conduit à la surconsommation d'antibiotiques si le patient ne souffre pas d'infection des voies urinaires.

La conception d'un questionnaire sous forme de choix multiple (nécessaire pour rendre l'analyse possible) n'a pas été simple à effectuer. Le grand nombre de réponses déviant des propositions fournies et de commentaires montre qu'une réponse uniforme à la question posée n'était pas évidente et que toutes les possibilités n'étaient pas mentionnées.

L'analyse en est complexe mais livre beaucoup d'information utile.

Sans vouloir aller trop en détail, on pouvait tirer les conclusions suivantes de l'information fournie (voir ci-dessus):

- L'échantillon a été prélevé il y a environ 12 heures, sans modalités particulières.
- L'échantillon n'a probablement pas été réfrigéré pendant sa conservation.

Un certain nombre de laboratoires a déjà formulé des remarques sur ce point :

- Un laboratoire qui travaille exclusivement pour des patients hospitalisés considère qu'il n'est pas confronté à ce problème. Nous en doutons fortement: dans les hôpitaux aussi, des échantillons peuvent rester à un endroit non prévu. La vigilance est donc aussi nécessaire dans les hôpitaux.
- Un laboratoire remarque que la date de prélèvement mentionnée sur la demande ne correspond pas toujours à la date de prélèvement réelle. Tous les biologistes cliniques savent que certains médecins demandeurs remplissent la date de prélèvement alors qu'ils ne savent pas encore quand le prélèvement sera effectué. Pour éviter cela, on demande souvent de remplir la date de prescription sur la demande d'analyse, mais cela n'empêche pas certains de tout de même remplir la date de prélèvement à l'avance.
- Deux laboratoires mentionnent qu'ils fournissent des tubes avec une solution d'acide borique qui permet de conserver les échantillons pour 24 heures à température ambiante (voir plus loin). Cette remarque est très intéressante, mais en l'occurrence, on ne demandait pas d'exposer sa manière personnelle d'aborder le prélèvement et le transport des urines mais de décrire sa réaction au problème posé.

Seulement une minorité des laboratoires rejettent l'échantillon, alors que la plupart mentionnent dans le rapport que le résultat doit être interprété avec la prudence nécessaire.

Une petite minorité agit d'une façon plus contestable: 1° quelques laboratoires effectueraient l'analyse sans aucun avertissement dans le rapport 2° quelques laboratoires établissent leur rapport en fonction du résultat de l'EMU. Nous ne pouvons pas approuver cette dernière attitude non plus: aussi en cas de leucocyturie, des bactéries commensales peuvent proliférer et masquer la présence du vrai pathogène.

Deux labos mentionnent qu'ils effectuent l'EMU mais pas la culture. C'est une approche intéressante, mais il faut rester conscient que le résultat de l'EMU peut aussi être influencé par une conservation inadéquate, en particulier le nombre de globules rouges (sous-estimation s'ils ont été lysés, ou même surestimation par apparition d'artéfacts si un cytomètre de flux est utilisé).

Le laboratoire doit mettre des directives écrites à la disposition des personnes qui sont chargées du prélèvement des échantillons. Dans le cas des prélèvements d'urines, les échantillons sont souvent collectés en dehors des locaux du laboratoire. Les médecins prescripteurs doivent alors avoir à leur disposition des instructions écrites pour la préparation du patient, la technique de prélèvement et la conservation des échantillons avant et pendant le transport vers le laboratoire (y compris température et durée). Un certain nombre de laboratoires belges a posté de telles directives sur leur site web.

A la réception des échantillons dans le laboratoire, il faut vérifier individuellement leur conformité par rapport à ces instructions, y compris au plan administratif (en particulier vérifier que l'identification du patient n'est pas ambiguë). Le personnel doit disposer de directives écrites au sujet de la procédure à suivre en cas de constatation de non-conformités.

Comme mentionné plus haut, il est particulièrement difficile d'évaluer si des échantillons d'urine ont été prélevés et transportés de manière adéquate, mais lorsqu'il existe le moindre doute, il en va du devoir du laboratoire d'appeler à la prudence lors de l'interprétation des résultats dans son rapport, ou même de rejeter l'échantillon dans les cas extrêmes. Un exemple de cette dernière éventualité est donné par un des participants : un échantillon d'urines présenté dans un récipient non stérile ne peut en aucun cas être accepté. Il faut toujours faire savoir au patient qu'il devra exclusivement utiliser du matériel stérile, qui est toujours disponible au laboratoire.

Les participants ont utilisé une grande variété de directives publiées pour former leur opinion. Les références les plus utilisées sont le *Clinical Microbiology Handbook* (ASM), suivi par le *Cumitech 2B* et la directive *CLSI GP16-A2*. Il y a cependant un document européen très intéressant, les *European Urinalysis Guidelines*, publiées sous les auspices de l'*European Confederation of Laboratory Medicine (ECLM)* (*Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60: 1-96). Ce document très détaillé inclut des figures avec des instructions pour le prélèvement d'urine par la technique du mi-jet.

En ce qui concerne le transport, ces différents documents donnent tous des conseils similaires: une conservation courte à température ambiante est permise, mais si l'intervalle entre le prélèvement et le traitement des échantillons au laboratoire dépasse les deux heures, ils devront être conservés au réfrigérateur. Alternativement, une solution d'acide borique peut être utilisée pour conserver l'échantillon à température ambiante, mais il faut savoir que le borate inhibe la croissance des *Pseudomonas spp.* et que le volume d'urine devra être suffisant pour éviter des concentrations trop élevées qui inhiberont également la croissance d'autres bactéries.

Pour conclure, nous insistons sur l'obligation faite au laboratoire de mettre à disposition non seulement du prescripteur mais aussi de son propre personnel de directives au sujet de la préparation du patient, du prélèvement et du transport des échantillons. A la réception des échantillons, ces conditions doivent être vérifiées (contrôle de conformité). Des critères de rejet doivent être également disponibles ainsi qu'une procédure en cas de constatation de non-conformités mineures qui doivent aboutir à la mention d'un commentaire annexé au résultat.

Denis Pierard, UZ VUB, Brussel