

ISP
Rue J. Wytsman, 14
B-1050 BRUXELLES

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

SERVICE DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS

RAPPORT GLOBAL

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

MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE

ENQUETE 03/2009

Microbiologie

Staphylococcus aureus
Pseudallescheria boydii = *Scedosporium apiospermum*
Pseudomonas aeruginosa
Vibrio cholerae

Parasitologie

Loa loa
Babesia species

Sérologie

CMV
EBV
HIV

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

ISP/03/09/Micro./Sero./Para. 76

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. BOEL An : 053/72.47.85 - FAX : 053/72.45.88
: e-mail : an.boel@olvz-aalst.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
: 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. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@jessazh.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PADALKO Elizaveta : 09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
: e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.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/7570 <i>Staphylococcus aureus</i>	2
2.2 Culture M/9258 <i>Scedosporium apiospermum/Pseudallescheria boydii</i>	8
2.3 Culture M/9259 <i>Vibrio cholerae</i>	14
2.4 Culture M/9720 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
III. Résultats des identifications	15
3.1 Culture M/7570 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
3.2 Culture M/9258 <i>Scedosporium apiospermum</i>	16
3.3 Culture M/9259 <i>Vibrio cholerae</i>	17
3.4 Culture M/9720 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
IV. Antibiogramme	20
4.1 Culture M/7570 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
4.2 Culture M/9720 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
V. Parasitologie	38
5.1 Les échantillons	38
5.2 Les résultats pour l'échantillon P/9334	39
5.3 Les résultats pour l'échantillon P/9683	42
VI. Sérologie	47
6.1 VIH	47
6.1.1 Information concernant les échantillons envoyés	47
6.1.2 Les participants	47
6.1.3 Réactifs utilisés	48
6.1.4 Résultats	49
6.1.4.1 Echantillon S/5621	49
6.1.4.2 Echantillon S/7743	49
6.1.5 Commentaire	51
6.2 CMV	52
6.2.1 Information concernant l'échantillon envoyé	52
6.2.2 Les participants	52
6.2.3 Réactifs utilisés	53
6.2.3.1 Pour la détermination des anticorps totaux	53
6.2.3.2 Pour la détermination des IgG	53
6.2.3.3 Pour la détermination des IgM	53
6.2.3.4 Pour la détermination de l'avidité	54
6.2.4 Résultats	54
6.2.4.1 Laboratoires pairs	54
6.2.4.2 Laboratoires impairs	56
6.3 EBV	58
6.3.1 Information concernant l'échantillon envoyé	58
6.3.2 Les participants	58
6.3.3 Réactifs utilisés	59
6.3.3.1 Pour la détermination des anticorps hétérophiles	59
6.3.3.2 Pour la détermination des IgG	60
6.3.3.3 Pour la détermination des IgM	61
6.3.4 Résultats	62
6.3.4.1 Laboratoires pairs	62
6.3.4.2 Laboratoires impairs	65
6.4 Interprétations pour le CMV et EBV S/9685	68
6.4.1 Laboratoires pairs	68
6.4.1.1 Interprétation du CMV	68
6.4.1.2 Interprétation du CMV et de l'EBV	69

6.4.2	Laboratoires impairs	70
6.4.2.1	Interprétation du CMV	70
6.4.2.2	Interprétation de l'EBV	70
6.4.2.3	Interprétation du CMV et de l'EBV	71
6.5	Commentaire CMV/EBV	73

I. Remarques générales

Pour la 3^e enquête du cycle 2009 (enquête 2009/3), le matériel suivant a été expédié le 5 octobre 2009.

1.1. 4 échantillons lyophilisés pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2. Deux frottis pour la recherche de parasites.

1.3. Trois échantillons de plasma pour la sérologie de l'HIV, du CMV et de l'EBV.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1. Pour les identifications et antibiogrammes:	174
2. Pour la parasitologie:	182
3. Pour la sérologie	
HIV:	178
CMV:	168
EBV:	158

Nous remercions Marc Lontie Karin Van Looveren et Chris Wuytack pour la mise à disposition des photographies dans ce rapport global.

Vous pouvez retrouver tous les échantillons, envoyés dans les différentes enquêtes sur notre site web aux pages suivantes:

Pour la bactériologie :

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/microbiologie.htm
et puis cliquer sous « Codes » sur « Germes envoyés »

Pour la parasitologie :

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm
et puis cliquer sous « Codes » sur « Parasites déjà envoyés »

Pour la sérologie infectieuse :

http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/inf_serologie.htm
et puis cliquer sur « Liste des paramètres évalués »

II. Identifications

2.1 Culture M/7570 *Staphylococcus aureus*

Nombre de participants = 174

La souche a été correctement identifiée par l'ensemble des laboratoires. Sur le plan des caractères phénotypiques, elle présentait un profil caractéristique de l'espèce.

L'antibiogramme a été réalisé par diverses techniques avec des résultats variables d'un laboratoire à l'autre pour l'oxacilline, la gentamicine, les quinolones et la vancomycine. Certains laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques.

La détermination correcte de la sensibilité à l'oxacilline est indispensable pour guider le choix thérapeutique du clinicien et pour implémenter les recommandations pour le contrôle et la prévention de la transmission du *S. aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) par l'équipe d'hygiène (BICS online).

La résistance à l'oxacilline est liée à l'acquisition d'une « Penicillin Binding Protein », PBP2a, de faible affinité aux bêta-lactames. La synthèse de la PBP2a est codée par le gène *mecA* qui est intégré dans un fragment additionnel du chromosome du staphylocoque appelé Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) de taille variable comprise entre 21 et 60 kb. L'acquisition de la PBP2a confère une résistance croisée à l'ensemble des bêta-lactames. Le niveau d'expression phénotypique de la résistance est variable. Cette résistance peut s'exprimer de manière homogène, c'est à dire l'ensemble de la population exprime la résistance, ou hétérogène, où seule une partie de la population (1 bactérie sur 10^4 à 10^7) exprime cette résistance. La détection des souches hétéro-résistantes à l'oxacilline peut poser des problèmes au laboratoire.

Selon les tests réalisés au laboratoire de référence, la souche du contrôle de qualité était résistante hétérogène à l'oxacilline (CMI = 12 mg/l). Cette résistance a été confirmée par la présence du gène *mecA* détectée par PCR.

Seuls 106 (61%) laboratoires ont correctement détecté et rapporté le bas niveau de résistance à l'oxacilline. Cinquante-cinq laboratoires (31%) ont répondu la souche sensible (erreur très majeure), 10 laboratoires ont trouvé des résultats discordants entre les différentes méthodes testées mais ne les ont pas interprétés et 3 laboratoires n'ont pas répondu de résultat pour la méthicilline/oxacilline. Parmi les utilisateurs du système Vitek, 46% ont répondu la souche sensible (erreur très majeure) à l'oxacilline. Au contraire, l'ensemble des utilisateurs du système Phoenix a correctement rapporté la souche résistante à l'oxacilline. Les laboratoires qui ont testé la sensibilité par disque ont rapporté la souche sensible (erreur très majeure) dans 61% des cas en utilisant l'oxacilline et dans 27% en utilisant la céfoxitine.

En 2010, l'EUCAST et le CLSI recommandent de tester la sensibilité à l'oxacilline à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 µg (résistante si < à 22 mm d'inhibition) sur une gélose Mueller-Hinton (MH) non supplémentée en NaCl, incubée à 35°C (\pm 1°C) pendant 16-20 heures. L'utilisation d'un disque de céfoxitine est plus sensible pour détecter les souches de *S. aureus* hétéro-résistantes. Les automates testent la céfoxitine pour déterminer la sensibilité à l'oxacilline. Les souches peuvent également être confirmées par détection de la PBP2a par un test d'agglutination à l'aide d'un latex sensibilisé ou par PCR pour le gène *mecA*.

Pour les autres antibiotiques testés, la vaste majorité (>99%) des laboratoires a répondu correctement la résistance aux quinolones et la sensibilité à la gentamicine. La résistance aux quinolones est très fréquente (> 95%) chez les souches de MRSA, en particulier celles d'origine nosocomiale. Au contraire, les *S. aureus* sensibles à la méthicilline (MSSA) sont rarement résistant (\pm 10%) aux quinolones. Les souches de MRSA résistantes à la gentamicine sont quant à elles devenues rares (<1%) en Belgique.

Quelques laboratoires (n = 4) ont rapporté la souche résistante à la vancomycine (erreur majeure). La résistance aux glycopeptides et en particulier à la vancomycine reste exceptionnelle (<1%) et doit être confirmée par un laboratoire de référence. Il est important de noter que l'EUCAST a modifié cette année les concentrations critiques de la vancomycine (résistant si > 2 mg/l) et de la teicoplanine (résistant si > 2 mg/l).

En Belgique, trois réservoirs de MRSA ont été décrits: les souches associées à l'hôpital (hospital-associated MRSA, HA-MRSA), les souches associées à la communauté extrahospitalière (community-associated MRSA, CA-MRSA) et les souches associées aux animaux d'élevage (livestock-associated MRSA, LA-MRSA). Ces souches présentent des caractéristiques épidémiologiques et microbiologiques qui leur sont propres (cf. Table 1).

Table 1 : Caractéristiques épidémiologiques et microbiologiques des souches de MRSA associées aux hôpitaux, à la communauté extrahospitalière et aux animaux d'élevage

Caractéristiques	HA-MRSA	CA-MRSA	LA-MRSA
Secteurs	Hôpitaux, maisons de repos et de soins	Sport de contact, prisons, personnel militaire, aborigènes, amérindien, écoles, crèches, sans-abris, utilisateurs de drogues IV	Fermes d'élevage
Patients Facteurs de risque	Adultes âgés Pathologies sous-jacentes, antibiothérapie, transfert d'un hôpital/ maison de repos, présence de matériel (cathéter, ...)	Adultes jeunes, enfants Faibles conditions d'hygiène, traumatisme cutané, antibiothérapie	Adultes jeunes Contact avec des animaux d'élevage
Pathologies	Bactériémies, pneumonies, infections de la peau et des tissus sous-cutanés, infections du tractus urinaire	Infections de la peau et des tissus sous-cutanés, pneumonies nécrosantes (rare), ostéomyélites (rare)	Portage asymptomatique, infections de la peau et des tissus sous-cutanés (rare)
Animaux	Animaux de compagnie	Animaux de compagnie	Porcs, veaux, volaille, chevaux
Types de SCC _{mec}	I, II, III, IV	IV et V	IV et V
Sensibilité aux antibiotiques	Multi-résistants	Sensibles à la plupart des antibiotiques n'appartenant pas aux bêta-lactames	Multi-résistants, en particulier les tétracyclines
Toxines	Variable	PVL, TSST-1 (rare), ET (rare)	Aucune, PVL (rare)

HA-MRSA, hospital-associated MRSA; CA-MRSA, community-associated MRSA; LA-MRSA, livestock-associated MRSA; PVL, leucocidine de Panton-Valentine; TSST-1, Toxic shock syndrome toxin – 1; ET, toxine exfoliatine

Le MRSA est une des principales causes d'infection nosocomiale. En Belgique, les différents programmes de surveillance montrent une diminution du taux de MRSA ainsi qu'une réduction de l'incidence d'acquisition des MRSA dans les hôpitaux depuis 2004-2005 (NSIH online ; EARSS online). Parallèlement au secteur de soins aigus, un réservoir important de porteurs de MRSA s'est constitué dans les maisons de repos et de soins. Les souches de MRSA qui circulent dans et entre ces deux secteurs de soins aigus et chroniques appartiennent à des clones apparentés.

Des souches de CA-MRSA sont décrites en Belgique depuis 2003. Elles sont principalement responsables d'infections cutanées chez des patients jeunes sans antécédents médicaux. Par typage moléculaire, elles appartiennent à des clones différents de ceux qui circulent dans nos hôpitaux et produisent souvent une toxine appelée la leucocidine de Panton-Valentine (PVL). Récemment, un nouveau réservoir de MRSA a été mis en évidence chez les animaux d'élevage, en particulier chez le porc, et chez les personnes qui sont en contact avec les animaux. Les souches de LA-MRSA sont génétiquement différentes des CA- et HA-MRSA.

Certaines souches de *S. aureus* expriment de manière hétérogène la résistance à l'oxacilline. La détection des souches résistantes de bas niveau ou de manière hétérogène est souvent difficile. Les différentes sociétés européennes et américaines recommandent l'utilisation de la céfoxitine pour son excellente sensibilité et spécificité pour la détermination de la sensibilité à l'oxacilline. Cependant, devant un profil de résistance atypique ou devant

des résultats de tests phénotypiques contradictoires, il est recommandé de tester la présence de la PBP2a à l'aide d'un test d'agglutination ou par PCR pour le gène *mecA*. La confirmation et le typage peuvent être réalisés au laboratoire de référence des Staphylocoques – MRSA qui réalise les surveillances microbiologiques de ces infections en Belgique.

Olivier Denis, Claire Nonhoff. Laboratoire de Référence des Staphylocoques et des MRSA

Références bibliographiques

1. Denis O, Deplano A, De Beenhouwer H, Hallin M, Huysmans G, Garrino MG, Glupczynski Y, Malaviolle X, Vergison A, Struelens MJ. (2005). Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harbouring Panton-Valentine leucocidin genes in Belgium. *J Antimicrob Chemother.* 56:1103-6.
2. Denis O, Suetens C, Hallin M, Catry B, Ramboer I, Dispas M, Willems G, Gordts B, Butaye P, Struelens MJ. (2009). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in swine farm personnel, Belgium. *Emerg Infect Dis.* 15:1098-101.
3. Denis O, Jans B, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, Suetens C, Struelens MJ. (2009). Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among residents of nursing homes in Belgium. *J Antimicrob Chemother.* 64:1299-306.
4. Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. (2002). Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. *J Clin Microbiol.* 40:2766-71.
5. Maes N, Magdalena J, Rottiers S, De Gheldre Y, Struelens MJ. (2002). Evaluation of a triplex PCR assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative Staphylococci and determine methicillin resistance from blood cultures. *J Clin Microbiol.* 40:1514-7.
6. Mencacci A, Montecarlo I, Gonfia F, Moretti A, Cardaccia A, Farinelli S, Pagliochini MR, Giuliani A, Basileo M, Pasticci MB, Bistoni F. (2009). Comparison of the BD Phoenix system with the cefoxitin disk diffusion test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol.* 47:2288-91.
7. Roisin S, Nonhoff C, Denis O, Struelens MJ. (2008). Evaluation of new Vitek 2 card and disk diffusion method for determining susceptibility of *Staphylococcus aureus* to oxacillin. *J Clin Microbiol.* 46:2525-8.
8. Vandendriessche S, Denis O, Hallin M, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, Garcia-Graells C, de Mendonça, Struelens MJ. (2009). Low prevalence and wide geographical distribution of livestock-associated *Staphylococcus aureus* ST398 in hospitalised patients in Belgium, 2008. ASM-ESCMID Conference on Methicillin resistance in *Staphylococci* in Animals: Veterinary and Public Health implications. September 22-25, London, England.

Références online

Belgian Infection Control Society

<http://www.belgianinfectioncontrolsociety.be/> (31 January 2010, date last accessed)

CLSI - The Clinical and Laboratory Standards Institute

<http://www.clsi.org/> (24 November 2009, date last accessed)

EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

<http://www.eucast.org/> (31 January 2010, date last accessed)

NSIH - Surveillance Nationale des Infections Hospitalières

http://www.iph.fgov.be/nsih/surv_mrsa/download_fr.asp (31 January 2010, date last accessed)

2.2 Culture M/9258 *Scedosporium apiospermum*/*Pseudallescheria boydii* (lésion cutanée)

P. boydii a été identifié jusqu'au genre par plus de 70% des laboratoires et jusqu'à l'espèce par 57.5% des labos. Dix-sept des 19 laboratoires sur 174 participants ayant répondu moisissure (filamenteuse), auraient à juste titre envoyé en routine la souche pour une identification plus spécifique.

Quand on effectue la culture de matériel clinique au labo, on obtient d'abord la croissance de la forme asexuée (anamorphe) appelée *Scedosporium apiospermum*. En plus, mais dans une moindre mesure, la synanamorphe *Graphium* peut être présente. Celle-ci se caractérise par une botte d'hyphes verticaux qui terminent dans une brosse de cellules conidiogènes (Figure 1). L'autre espèce médicalement importante *Scedosporium prolificans* n'a pas ce type graphium. C'est une première distinction entre les deux espèces.

Pseudallescheria boydii est la forme sexuée (téléomorphe) de la moisissure que l'on rencontre dans l'environnement et parfois dans des situations parasitaires (sinusites). Le statut sexué est caractérisé par la présence de cleistothèces (carpophores) (Figure 2). Afin de faire pousser la téléomorphe au labo, il faut ensemercer la moisissure sur des milieux pauvres aux nutriments comme les géloses cornmeal ou potato dextrose. Une incubation pendant 2-3 semaines est nécessaire pour la formation de ces cleistothèces. La formation du statut de *Pseudallescheria* ne peut pas être atteinte sur les milieux utilisés en routine dans les laboratoires cliniques, tels que Sabouraud, brain heart infusion et gélose au sang. Même sur une gélose Sabouraud diluée 1/10, il est rare que ceci réussisse. Il est donc souvent impossible de faire la distinction avec le *Scedosporium prolificans*, qui ne produit pas de téléomorphes, sur base de la présence des cleistothèces.

Les colonies de *Pseudallescheria boydii*/*Scedosporium apiospermum* poussent vite (quelques jours), aussi bien à 25° qu'à 37°C ; elles sont duvetées, et ont au début une couleur blanche qui change en gris-brun (Figure 3). Si on utilise une gélose Sabouraud diluée 1/10 on retrouve des nuances grises plutôt que brunes. Quand la forme sexuée pousse, la culture devient moins duvetée et l'on peut distinguer les cleistothèces sous formes de petits points noirs.

Le *Scedosporium apiospermum* est caractérisé microscopiquement par des hyphes cylindriques (diamètre 2-4 µm) avec des septums. Même si les cultures ont une couleur foncée due à la formation de pigment et la production de conidies foncées, les hyphes ont un aspect hyalin (incolore, transparent). Les cellules conidiogènes (formant les conidies) poussent à partir des hyphes. Les conidiophores (hyphes portant des conidies) sont solitaires (Figures 4-5) en contraste avec les bottes de conidiophores de *Graphium* (Figure 1). Les conidies de *Scedosporium apiospermum* sont un peu plus grands (3,5-6 x 6-12 µm), ovales et plus foncées; après que les hyphes sont libérées, elles deviennent encore plus foncées et obtiennent une paroi plus épaisse. Les conidies de *Graphium* sont plus petites (3,5-4 x 6-12 µm), plus étirées et moins pigmentées. Les 2 types peuvent être retrouvés dans le même isolat.

Pseudallescheria boydii produit des cleistothèces bruns clairs à noirs et ronds (diamètre 140-200 µm). Les cleistothèces éclatent après maturation et les ascques sont libérés. Un ascque est une cellule en forme de sac dans laquelle sont produites les ascospores. Les ascques sont plus ou moins ronds et contiennent 8 ascospores. Les ascospores sont libérées immédiatement des ascques. Elles sont unicellulaires, lisses, ont une forme de citron et une couleur jaune-brune à cuivrée. Elles mesurent 4-4,5 x 6-7 µm et peuvent contenir une goutte d'huile.

La distinction avec *Scedosporium prolificans* se fait sur base de la croissance macroscopique et l'aspect microscopique de la moisissure. Les colonies sont plus foncées

dès le début de la croissance et sont plus lisses. Le *Scedosporium prolificans* pousse mieux à 37° qu'à 26°C et ne pousse pas sur des milieux contenant l'actidione. Le *Scedosporium prolificans* est microscopiquement caractérisé par la base gonflée des cellules conidiogènes, raison pour laquelle elles ont une forme de bouteille (Figure 6).

La distinction avec *Scopulariopsis brevicaulis* se fait sur base de la couleur macroscopique (qui est plus brune) et l'aspect microscopique de la moisissure. Les conidies de *Scopulariopsis* sont organisées en chaînes, ce qui n'est pas le cas chez *Scedosporium apiospermum*. Les conidies de *Scopulariopsis* sont également un peu plus rondes et plus aplaties au côté basale.

Pseudallescheria boydii/*Scedosporium apiospermum* est retrouvé universellement comme saprophyte dans la terre, le fumier et l'eau polluée. Cette moisissure cause un grand nombre d'images cliniques allant d'une colonisation temporaire des voies respiratoires jusqu'aux infections invasives chez les patients immunodéprimés.

Dans le cas du patient de l'EEQ, il s'agissait d'une sinusite chronique à éosinophile. Les malformations anatomiques des voies respiratoires, tels que des kystes ou des cavités suite à la tuberculose, la sarcoïdose ou après des infections bactériennes antérieures, peuvent être colonisées de façon permanente par *Pseudallescheria boydii*/*Scedosporium apiospermum*. La présence des moisissures peut induire une réaction allergique. Si les patients avec des voies respiratoires anatomiquement normales sont exposés à un inoculum élevé, la colonisation disparaîtra en principe si la source est supprimée. Aussi bien les colonisations temporaires que persistantes peuvent causer une infection profonde.

L'intérêt de l'identification jusqu'au niveau du genre et de l'espèce se trouve dans la résistance intrinsèque de cette moisissure à plusieurs antifongiques.

Marjan Van Esbroeck, IMT, Anvers

Les photos 3-5 sont de la souche M/9258 (nous remercions Karin Van Looveren et Chris Wuytack, IMT).

Les autres photos proviennent de l'archive de l'IMT.

Références

1. K. J. Cortez, E. Roilides, F. Quiroz-Telles, J. Meletiadis, C. Antachopoulos, T. Knudsen, W. Buchanan, J. Milanovich, D. A. Sutton, A. Fothergill, M. G. Rinaldi, Y. R. Shea, T. Zaoutis, S. Kottitil, and T. J. Walsh. Infections Caused by *Scedosporium* spp. *Clin. Microbiol. Rev.* 2008 21: 157-197.
2. Atlas of Clinical Fungi. G.S. De Hoog & J. Guarro. ISBN 90-70351-26-9.

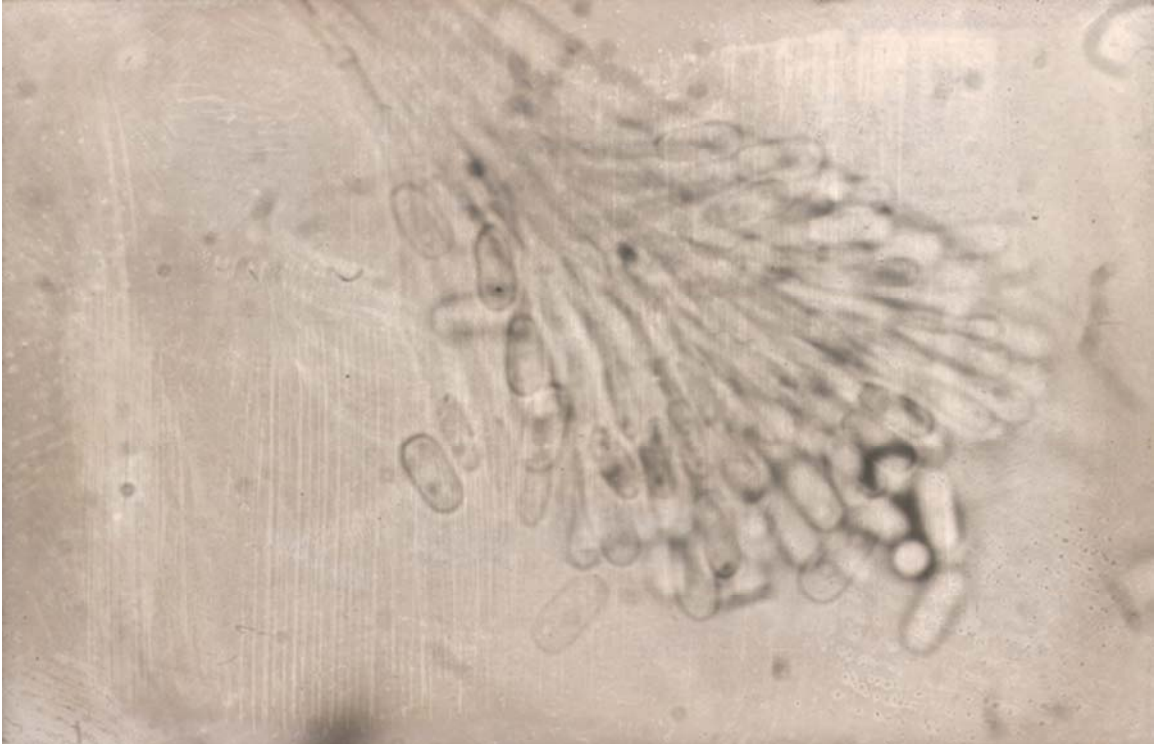


Figure 1 (copyright ITM)

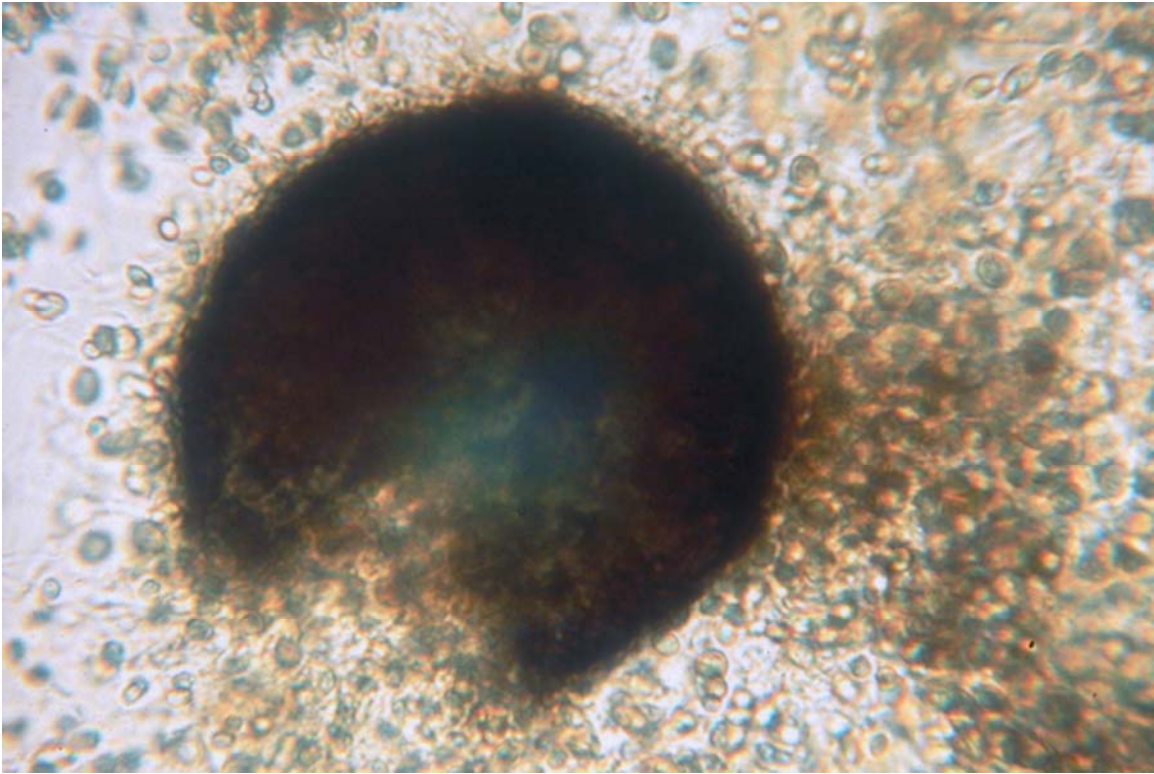


Figure 2 (copyright ITM)



Figure 3. Colonies jeunes de *P. boydii*/ *S. apiospermum* (de gauche à droite Sabouraud avec et sans actidione et Sabouraud 1/10)

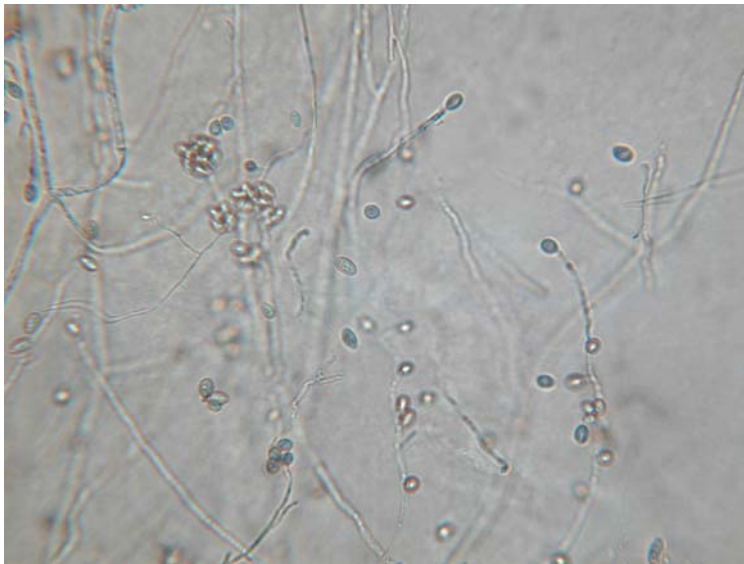


Figure 4. Conidiophores isolés de *Scedosporium apiospermum*



Figure 5. Conidiophores isolés de *Scedosporium apiospermum*



Figure 6 (copyright ITM)

2.3 Culture M/9259 *Vibrio cholerae*

Suite à des circonstances inattendues, le texte concernant le *Vibrio cholerae* ne nous était pas encore parvenu lors de la mise sous presse du rapport.

Il sera repris comme annexe dans le rapport global 2010/1.

Avec toutes nos excuses.

2.4 Culture M/9720 *Pseudomonas aeruginosa*

Nous référons au commentaire publié dans le rapport global de l'enquête 2006.

III. Résultats des identifications

177 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 174 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 autres laboratoires étrangers et un laboratoire d'une firme. Ces 3 derniers n'ont pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1. Culture M/7570 *Staphylococcus aureus* (hémoculture)

Staphylococcus aureus 174

NB 60 laboratoires ont mentionné qu'il s'agit d'un MRSA, 1 laboratoire qu'il ne s'agit pas d'un MRSA, 1 laboratoire qu'il s'agit d'un hGISA, 1 laboratoire mentionne MLSB+ en 1 laboratoire mentionne la présence de MSSA et MRSA

Résumé des réponses à la question si cet échantillon serait envoyé en routine:

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	27
Dans un but épidémiologique	17
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	14
Dans un but épidémiologique + autres raisons (non spécifiées)	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (non spécifiées)	1
Autres raisons (échec de l'automate)	1
N'est pas envoyé	112
Pas de réponse à la question	1
Total	174

3.2. Culture M/9258 *Scedosporium apiospermum* = *Pseudallescheria boydii* (lésion cutanée)

<u><i>Scedosporium apiospermum</i></u>	63	36.2%
<u><i>Pseudallescheria boydii</i></u>	16	9.2%
<u><i>Scedosporium apiospermum/Pseudallescheria boydii</i></u>	13	7.5%
<u><i>Scedosporium apiospermum</i> (graphium)</u>	3	1.7%
<u><i>Pseudallescheria boydii</i> (graphium)</u>	3	1.7%
<u><i>Scedosporium</i> species</u>	36	20.7%
<u><i>Pseudallescheria</i> species</u>	1	0.6%
<u><i>Scedosporium apiospermum</i> + <i>S. epidermidis</i></u>	2	1.1%
<u><i>Scedosporium</i> species + CNS (probablement flore contaminant de la peau)</u>	1	0.6%
<i>Scedosporium prolificans</i>	1	
<u>Moisissure/champignon</u>	16	9.2%
<u>Moisissure filamenteuse</u>	2	1.1%
<u>Moisissure + <i>S. epidermidis</i></u>	1	0.6%
Dermatophyte	3	
<i>Chrysosporium</i> species	2	
<i>Epidermophyton Floccosum</i>	2	
<i>Acremonium</i> species	1	
<i>Cladosporium</i> species	1	
<i>Coccidioides immitis</i>	1	
<i>Mucor</i> species	1	
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	1	
<i>Trichophyton tonsurans</i>	1	
<i>Trichophyton</i> species	1	
<i>Staphylococcus</i> species	1	
Culture négative	1	

NB la réponse moisissure/champignon est acceptable à condition que les laboratoires envoient la souche pour identification; deux laboratoires n'ont pas répondu à la question de savoir s'ils enverraient la souche en routine.

Résumé des réponses à la question si cet échantillon serait envoyé en routine (limité aux laboratoires qui ont répondu une moisissure):

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	71
Dans un but épidémiologique	2
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	3
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (non spécifiées)	1
Autres raisons (toutes les moisissures sont envoyées)	4
Autres raisons (non spécifiées)	3
Envoi (raison non spécifiée)	4
N'est pas envoyé	78
Pas de réponse à la question	6
Total	172

3.3. Culture M/9259 *Vibrio cholerae* (selles) (échantillon didactique)

<i>Vibrio cholerae</i>	123
<i>Vibrio cholerae</i> bv. El Tor	1
<i>Vibrio cholerae</i> non O:1	1
<i>Vibrio</i> species	4
<i>Vibrio</i> species sur examen directe mais pas de croissance	3
<i>Vibrio fluvialis</i>	2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1
<i>Campylobacter fetus jejuni</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
Absence de croissance	27
Pas de pathogènes	5
Pas d'entéropathogènes	2
Bacilles à Gram négatif, problèmes avec la culture	1

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné une remarque:

- Pour « *Vibrio cholerae* » (chaque réponse donnée par un laboratoire):
 - o Croissance seulement après enrichissement
 - o Croissance tardive sur des milieux riches
 - o Seules 3 colonies ont été isolées après ensemencement d'un deuxième échantillon sur une gélose Columbia normale avec sang de mouton. Notre procédure de routine ne nous aurait pas permis d'isoler ce germe en routine.
 - o L'échantillon a été difficile à mettre en culture
 - o Nous ne disposons pas de sérums pour éventuellement typer de souches de *Vibrio cholerae*
 - o Sur le deuxième échantillon: croissance de 4 colonies sur milieu SS et une dizaine sur gélose au sang. L'identification par Vitek 2 compact a donné *V. cholerae*. Cette identification doit être confirmée dans un centre de référence via des réactifs sérologiques.
 - o L'isolement et l'identification du *Vibrio* a duré 1 semaine.
- Pour « *Vibrio* species »:
 - o Seules 2 colonies: croissance difficile
- Pour « Pas d'entéropathogènes » :
- Malgré incubation prolongée (2 échantillons) pas de croissance d'entéropathogènes
- Pour « Absence de croissance »:
 - o Pas de croissance, même sur un deuxième échantillon: 3 labos
 - o Pas de croissance même après enrichissement: 5 labos
 - o Absence total de croissance. Impossible de traiter un second échantillon dans le temps: 1 labo
 - o Aspect bacilles gram - incurvés en gram: 1 labo
 - o Pas de croissance sur milieux usuels de coproculture. Sur milieu non sélectif, croissance d'1 bacille gram+, dont l'identification n'a pas été réalisée car milieu non utilisée en routine: 1 labo
- Pour « *Vibrio fluvialis* » :
 - o Uniquement sur gélose au sang
- Pour « Bacilles à Gram négatif, problèmes avec la culture » :
 - o Rares bacilles gram - à l'examen direct, absence de pousse malgré l'utilisation de milieux enrichis.

Résumé des réponses à la question si cet échantillon serait envoyé en routine (limité aux laboratoires qui ont répondu *Vibrio cholerae*):

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	20
Dans un but épidémiologique	30
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	50
Dans un but épidémiologique + autres raisons (détermination de la toxine)	1
Dans un but épidémiologique + autres raisons (non spécifiées)	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (détermination de la toxine)	2
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (détermination de la toxine)	2
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (sérotypage)	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (maladie à tendance épidémique, à déclaration obligatoire)	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (non spécifiées)	1
Autres raisons (sérotypage)	2
Autres raisons (maladie quarantenaire)	1
N'est pas envoyé	12
Pas de réponse à la question	1
Total	125

Résumé des réponses à la question si cet échantillon serait envoyé en routine (des laboratoires qui ont répondu *Vibrio species*):

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	3
Dans un but épidémiologique	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	1
N'est pas envoyé	1
Pas de réponse à la question	1
Total	7

3.4. Culture M/9720 *Pseudomonas aeruginosa* (hémoculture)

Pseudomonas aeruginosa

174 100%

Résumé des réponses à la question si cet échantillon serait envoyé en routine:

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	4
Dans un but épidémiologique	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	1
N'est pas envoyé	161
Pas de réponse à la question	7
Total	174

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 de l'échantillon M/7570 a été réalisé sur base d'un consensus des résultats des différents experts et du centre de référence; l'antibiogramme de l'échantillon M/7288 a été réalisé sur base d'un consensus des résultats des différents experts.

Nombre de participants = 174

4.1 Culture M/7570 *Staphylococcus aureus*

Cette souche a été envoyée dans un but didactique.

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.

Il est à noter qu'un laboratoire n'a testé ni l'oxacilline, ni la méthicilline, ni la céfoxitine, malgré qu'il ait obtenu une identification correcte.

Quelques laboratoires ont retrouvé plusieurs phénotypes pour cet échantillon; certains laboratoires ont mentionné ne nous avoir fourni que l'antibiogramme le plus résistant; d'autres ont répondu les 2 antibiogrammes. Pour des raisons de simplification, nous n'avons repris que l'antibiogramme le plus résistant dans le tableau 4.1.1. Dans les tableaux suivants, les 2 résultats ont été repris.

Un grand nombre de laboratoires ont ajouté une remarque à l'identification, comme nous avons déjà mentionné dans le chapitre 3; 60 laboratoires ont mentionné qu'il s'agit d'un MRSA, 1 laboratoire qu'il ne s'agit pas d'un MRSA, 1 laboratoire qu'il s'agit d'un hGISA, 1 laboratoire mentionne MLSB+ en 1 laboratoire mentionne la présence de MSSA et MRSA.

Plusieurs laboratoires ont également pourvu leur antibiogramme d'une remarque:

- Nous avons réalisé 2 antibiogrammes car deux aspects de colonies différentes. Recherche de PLP2a (par agglutination) en routine sur les colonies de *S. aureus* dans les hémocultures positives.
- Nous avons trouvé dans l'échantillon M/7570 un mélange hétérogène de souches *S. aureus* avec des sensibilités différentes aux antibiotiques. Nous avons répondu la souche la plus résistante.
- Nous avons trouvé 2 populations de *S. aureus*: 1 population était sensible à la céfoxitine et à l'oxacilline par Vitek et montrait une croissance sur milieu MRSA (bioMérieux); la 2e population était positive à la céfoxitine et sensible à l'oxacilline et montrait une croissance sur milieu MRSA (bioMérieux).
- Présence de 2 souches, l'une oxa S, l'autre oxa R (petites colonies). La réponse mentionne la souche oxa-R dans la mesure où le traitement doit obligatoirement en tenir compte.
- Souche hétérogène.
- Résistance hétérogène.
- Hétérorésistance à l'oxacilline.
- 1e détermination sur VITEK pas de MRSA: (CMI oxacilline 1 ; céfoxitine screen négatif) 2e détermination sur VITEK MRSA (CMI oxacilline ≥ 4 ; céfoxitine screen positif) 3e détermination VITEK à partir d'une gélose au sang : pas de MRSA

- (CMI oxacilline $\leq 0,25$ céfoxitine screen négatif) ; milieu MRSA: positif pour MRSA; test PBP2 positif.
- Résultats hétérogènes: 3 colonies sur Vitek 2: 1) céfoxitine screen positif; oxacilline CMI ≥ 4 (=R) 2) céfoxitine screen négatif oxacilline CMI 2 (=S) 3) céfoxitine screen négatif oxacilline CMI ≥ 4 (=R). Pour ces 3 souches le test du disque de céfoxitine était négatif (zones 25, 24 et 24), le test PBP2a' est positif. Un ensemencement direct de l'échantillon reconstitué sur milieu MRSA (bioMérieux) n'a pas poussé. Une suspension des colonies mentionnées ci-dessus sur milieu MRSA a poussé.
 - Screen céfoxitine Vitek 2: négatif; disc diffusion: résistant: conclusion: hétérorésistance.
 - Colonies bleues typiques de MRSA sur milieu chromogène de bioMérieux. Le MRSA n'est pas confirmé par le Vitek, ni par le disque de céfoxitine sur Mueller-Hinton (\varnothing 22 mm.) →souche atypique que nous enverrions (présence de mutants??). Tout ceci a été fait sur plusieurs colonies d'aspects semblant différent sur milieu MRSA.
 - Discordance oxacilline (Vitek 2: R; Kirby Bauer: S) de plus céfoxitine screen sur Vitek 2 est positif ainsi que la pousse sur boîte MRSA (bioMérieux) alors que le test céfoxitine 30 μ g est S:→envoi de la souche.
 - Discordance entre carte Vitek AST-P549 avec céfoxitine screen + et milieu gélosé avec disque céfoxitine 60 μ g $\varnothing \geq 25$ donc sensible. Disque oxacilline 1 μ g donne un \varnothing à 24 donc sensible mais repousse dans la zone d'inhibition. Repiquage sur gélose MRSA (bioMérieux): +:→souche BORSA.
 - Discordance Vitek Oxa R et méthode de diffusion en gélose oxa S.
 - Céfoxitine screen sur Vitek = négatif; oxacilline = R et gène mec A = positif: ??→MRSA.
 - Oxacilline S - céfoxitine screen positif au Vitek 2. Test de confirmation par agglutination de la PSP2': positive:→MRSA.
 - Réserve pour l'échantillon M/7570: colonies vertes sur gélose MRSA screen bioMérieux; CMI oxacilline E test = 0.5 CMI oxacilline Vitek = 0.5. Serait envoyé pour gène mecA PCR à cause de la discordance.
 - MRSA screen détection enzyme PLP2a positif.
 - MRSA screen positif.
 - Souche transmise en biologie moléculaire: gène mecA positif: MRSA
 - Sur milieu MRSA (bioMérieux) présence de colonies R à oxa et limites à la céfoxitine: BORSA?
 - A cause de la résistance aux fluoroquinolones, nous avons effectué un antibiogramme par diffusion sur disque et un test d'agglutination. Ce dernier était positif, ce qui nous fait conclure à un MRSA.
 - 1) Etant donné la résistance à la lévofloxacine nous avons effectué un test de sensibilité supplémentaire pour l'oxacilline par agglutination PBP2 (Slidex bioMérieux MRSA) positif et gélose MRSA screen (bioMérieux) 2) screening de la résistance à la vancomycine (Becton Dickinson 6 μ g/mL) = négatif
 - Céfoxitine S ciprofloxacine R: MRSA-ID (gène mecA) effectué: positif: donc MRSA positif.
 - Vu la résistance aux quinolones, passage de la souche en technique manuelle (R oxa) et sur milieu MRSA (positif)→changement de oxa S en R→MRSA
 - Au vu de la résistance aux quinolones, macrolides et lincosamides nous avons effectué un test latex MRSA qui détecte la protéine PBP2. Ce test est positif:→nous lisons la résistance à l'oxacilline.
 - E-test érythro-clinda: + et ofloxacine R→suspect→PBP2a: pos→croissance sur gélose MRSA.
 - Repousse pour la méropénème sur le bord après 24 h. Quid clinique? Patient muco - - réponse clinique.

- La détermination de la sensibilité de ce *S. aureus* mentionne également « MLSB inductible résistance phénotype ».
- Attention présence de SARM! Précaution contact!
- Chaque première isolation de MRSA chez un patient est envoyée au centre de référence pour détermination de phage. S'il s'agit d'une suspicion de CA-MRSA (hémoculture <48 heures d'admission) la souche est envoyée au centre de référence du Prof. Marc Struelens. Les données sans la souche sont envoyées à l'EARSS en cas de bactériémie par *S. aureus* (1e isolation/patient par trimestre).

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline	R	165	3	1	158	3 ¹
Oxacilline	R	148	52 ²	1	92 ³	3 ⁴
Méthicilline	R	1	-	-	1	-
Céfoxitine ⁵	R	128	38 ⁶	-	85 ⁷	5 ⁸
Gentamicine	S	159	157	-	-	2 ⁹
Vancomycine	S	171	163 ¹⁰	1 ¹¹	3	4 ¹²
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	110	2	-	107	1 ¹³
Lévofloxacine	R	45	-	-	45	-
Moxifloxacine	R	17	-	-	17	-
Norfloxacine	R	7	-	-	7	-
Ofloxacine	R	9	-	-	9	-
Quinolone ¹⁴	R	6	-	-	6	-

¹ Trois laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la pénicilline = R)
- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = I)
- 1 laboratoire a répondu les résultats bruts et experts (R) mais a laissé ouvert le résultat final

² Un laboratoire a donné le résultat « S » sur base des disques Rosco Neosensitabs mais a mentionné dans une remarque: « Sur milieu MRSA (bioMérieux) présence de colonies R à oxa et limites à la céfoxitine: BORSA? »

³ Certains laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:

- Résultat confirmé par PCR (gène *mecA* positif)
- Parallèle à l'antibiogramme Vitek2, une boîte "MRSA select" (Biorad) a été ensemencée. Résultat: MRSA: +
- Colonies dans la zone d'inhibition (borderline): →antibiogramme répété: R
- Lecture de la CMI au niveau des colonies repoussées (la CMI de la colonie repoussée a été réensemencée et était 16 µg/mL)
- Avec repousses

⁴ Trois laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de l'oxacilline = S)
- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = S)
- 1 laboratoire a répondu le résultat brut (S) mais a laissé ouvert le résultat final

⁵ Pour les résultats de la céfoxitine screen sur Vitek 2 et Vitek 2 compact nous avons considéré « négatif » comme « S » et « positif » comme « R »

⁶ Un laboratoire a donné le résultat "S" sur base des disques en papier mais a mentionné dans une remarque: « Sur milieu MRSA (bioMérieux) présence de colonies R à oxa et limites à la céfoxitine: BORSA? »

⁷ Certains laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:

- + colonies qui repoussent
- croissance sur milieu MRSA de Biorad: →R à la céfoxitine; la zone est difficile à mesurer sur l'antibiogramme: seules quelques colonies ont repoussées autour de la céfoxitine
- Colonies dans la zone d'inhibition (borderline): →antibiogramme répété: R
- Tout diamètre de la céfoxitine 30 µg compris entre 20 et 24 mm. est contrôlé. Il est connu que des souches MRSA peuvent se situer dans cette gamme de diamètre.

⁸ Cinq laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la céfoxitine = I)
- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = S)
- 3 laboratoires ont laissé le résultat final ouvert: un labo avec résultat brut « R », 1 labo avec résultat brut « négatif » et 1 avec un diamètre de 25 mm.

⁹ Deux laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la gentamicine = S)
- 1 laboratoire a répondu le résultat brut (S) mais a laissé ouvert le résultat final
- ¹⁰ Un laboratoire a pourvu la réponse « S » d'une remarque: « Les VISA's (hétéroresistante) ne sont pas détectés par l'E-test macrométhode ». Un laboratoire a répondu « S » sur base d'une extrapolation: « La zone d'inhibition de la céfoxitine 60 µg (Neosensitabs): >15 mm.: vancomycine S »
- ¹¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « I »: « L'E-test a été effectué avec suspensions de 2 McFarland et de 0.5 McFarland sur Mueller-Hinton »
- ¹² Quatre laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:
 - 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la vancomycine = S)
 - 1 laboratoire a répondu « E-test pour détection GISA/hGISA: vanco 6 et teico 3 → envoi au labo de référence »
 - 2 laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.
- ¹³ Un laboratoire n'a pas fourni de résultat final:
 - 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la ciprofloxacine = R)
- ¹⁴ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

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

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

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

Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Osiris pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans le tableau 4.1.8.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	13 (14)	6 ¹	23	12 – 29	-	-	14	-
Oxacilline	13 (15)	1	17	10 – 23	5	1	8	1 ²
Céfoxitine ³	30 (32)	30	20	16 – 30	7 ⁴	-	23	2 ⁵
Gentamicine	17 (18)	10	22	18 – 30	17	-	-	1 ⁶
Vancomycine	13 (15)	30	18	14 – 22	14	-	-	1 ⁷
Quinolone								
Ciprofloxacine	12 (12)	5	6	6 – 30	1	-	11	-
Lévofloxacine	4 (4)	5	6.5	6 – 7	-	-	4	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	13	13 – 13	-	-	1	-
Norfloxacine	1 (1)	10	6	6 – 6	-	-	1	-
Ofloxacine	3 (3)	5	6	6 – 6	-	-	3	-
Quinolone	- (1)	-	-	-	-	-	1	-

¹ 6 µg = 10 u

² 1 laboratoire a fourni le résultat brut (S) mais a laissé ouvert le résultat final

³ En outre un laboratoire a rapporté un diamètre de 23 mm. avec repousses

⁴ Un laboratoire a donné le résultat "S" sur base des disques en papier mais a mentionné dans une remarque: « Sur milieu MRSA (bioMérieux) présence de colonies R à oxa et limites à la céfoxitine: BORSA? »

⁵ 2 laboratoires ont laissé le résultat final ouvert: un labo avec résultat brut « R » et 1 avec un diamètre de 25 mm.

⁶ 1 laboratoire a fourni le résultat brut (S) mais a laissé ouvert le résultat final

⁷ 1 laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges Neosensitabs ("old") et avec charges CLSI ("new") séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.1.3. a en b. Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres de ces disques sont repris dans les tableaux 4.1.9 a et b.

Tableau 4.1.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge Neosensitabs) pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	16 (19)	5	20.5	12 – 25	-	1	16	2 ¹
Oxacilline ²	16 (22)	1	20	15 – 25	8 ³	-	11	3 ⁴
Méthicilline	1 (1)	29	29	29 – 29	1	-	-	-
Céfoxitine	10 (20)	60	26	23 – 30	5	-	13 ⁵	2 ⁶
Gentamicine	16 (18)	40	28	22 – 32	17	-	-	1 ⁷
Vancomycine	15 (17)	5	17	15 – 27	14	-	2	1 ⁸
Quinolone								
Ciprofloxacine ⁸	11 (14)	10	10	9 – 14	-	-	13	1 ¹⁰
Lévofloxacine	2 (3)	5	9	9 – 9	-	-	3	-
Moxifloxacine	- (1)	-	-	-	-	-	1	-
Ofloxacine	2 (2)	10	9	9 – 9	-	-	2	-

¹ Deux laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la pénicilline = R)

- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = I)

² En outre 2 laboratoires ont mentionné des repousses

³ Un laboratoire a donné le résultat « S » sur base des disques Rosco Neosensitabs mais a mentionné dans une remarque: « Sur milieu MRSA (bioMérieux) présence de colonies R à oxa et limites à la céfoxitine: BORSA? »

⁴ Trois laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de l'oxacilline = S)

- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = S)

- 1 laboratoire réfère au résultat de la CMI qu'il a effectué (R)

⁵ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:

- croissance sur milieu MRSA de Biorad: →R à la céfoxitine; la zone est difficile à mesurer sur l'antibiogramme: seules quelques colonies ont repoussées autour de la céfoxitine

- Colonies dans la zone d'inhibition (borderline): →antibiogramme répété: R

⁶ Deux laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la céfoxitine = I)

- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = S)

⁷ 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la gentamicine = S)

⁸ 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la vancomycine = S)

⁹ En outre 1 laboratoire a mentionné un diamètre < 9 mm. Et deux laboratoires ont répondu « 0 » comme diamètre.

¹⁰ 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la ciprofloxacine = R)

Tableau 4.1.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	1 (2)	10	23	23 – 23	-	-	2
Oxacilline	- (1)	-	-	-	-	-	1
Céfoxitine	2 (3)	30	18	12 – 24	1	-	2
Gentamicine	1 (1)	10	22	22 – 22	1	-	-
Vancomycine	- (2)	-	-	-	1	-	1
Quinolone							
Ciprofloxacine	1 (2)	5	9	9 – 9	-	-	2
Moxifloxacine	- (1)	-	-	-	-	-	1

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

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/8535 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Pénicilline	2	2 x R	0.5 mg/L; 0.75 mg/L
Oxacilline	4	2 x S 2 x R	0.38 mg/L; 0.5 mg/L 0.38 mg/L (modification du résultat brut: S→R); 16 mg/L
Céfoxitine	1	1 x S	8 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	0.19 mg/L; 0.38 mg/L
Vancomycine	8	6 x S 1 x I 1 x *	0.5 mg/L; 1.25 mg/L; 4 x 1.5 mg/L ¹ 8 mg/L ² 6 mg/L ³
Quinolone			
Ciprofloxacine	2	2 x R	

¹ Un laboratoire a pourvu la réponse « S » d'une remarque: « Les VISA's (hétéroresistante) ne sont détectés par l'E-test macromethode ».

² Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « I »: « L'E-test a été effectué avec suspensions de 2 McFarland et de 0.5 McFarland sur Mueller-Hinton »

³ 1 laboratoire a répondu « E-test pour détection GISA/hGISA: vanco 6 et teico 3→ envoi au labo de référence »

Deux laboratoires ont utilisé le test MICE: un laboratoire pour la gentamicine (CMI = 0.25 mg/L; résultat "S") et un laboratoire pour la vancomycine (CMI = 2 mg/L; résultat "S").

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

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Vitek 2				Valeur CMI mentionnée le plus souvent (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Vitek 2 compact				Valeur CMI mentionnée le plus souvent (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	Résultat final						Résultat final					
	S	I	R	*			S	I	R	*		
Pénicilline	1	-	56	1 ¹	≥0.5	32 (58)	2	-	38	-	≥0.5	25 (40)
Oxacilline	15	-	41 ²	-	≥4	25 (56)	21	-	15	-	0.5	13 (36)
Céfoxitine	10	-	26	-	Screen	36 (36)	10	-	7	1 ³	Screen	18 (18)
Gentamicine	59	-	-	-	≤0.5	57 (59)	39	-	-	-	≤0.5	35 (39)
Vancomycine	58	-	-	-	≤1	53 (58)	40	-	-	-	≤1	34 (40)
Quinolone												
Ciprofloxacine	1	-	40	-	≥8	40 (41)	-	-	25	-	≥8	21 (25)
Lévofloxacine	-	-	17	-	≥8	17 (17)	-	-	15	-	≥8	11 (15)
Moxifloxacine	-	-	7	-	≥4	6 (7)	-	-	4	-	4	1 (4)
Norfloxacine	-	-	1	-	≥10	1 (1)	-	-	3	-	≥16	2 (3)
Ofloxacine	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-(1)
Quinolone	-	-	1	-	≥1	1 (1)	-	-	2	-	≥8	2 (2)

¹ 1 laboratoire a répondu les résultats bruts et experts (R) mais a laissé ouvert le résultat final

² Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:

- Résultat confirmé par PCR (gène mecA positif)

- Parallèle à l'antibiogramme Vitek2, une boîte "MRSA select" (Biorad) a été ensemencée. Résultat: MRSA: +

³ Un laboratoire a donné le résultat brut « négatif » 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 la pénicilline 23 laboratoires ont trouvé une CMI ≥0.25 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 0.12 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 9 laboratoires ont trouvé une CMI de 0.25 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 0.12 mg/l
- pour l'oxacilline 16 laboratoires ont trouvé une CMI de 1 mg/L, 10 laboratoires une CMI de 0.5 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤0.25 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 16 laboratoires ont trouvé une CMI ≥4 mg/L, 3 laboratoires une CMI de 1 mg/L, 1 laboratoire une CMI de 2 mg/L et 2 laboratoires une CMI ≤0.25 mg/L
- pour la vancomycine 2 laboratoires ont trouvé une CMI de 2 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤0.25 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a trouvé une CMI <0.5 mg/L
- pour la lévofloxacine 1 laboratoire a trouvé une CMI ≥16 mg/L pour le Vitek 2 compact

La souche a été envoyée à la firme bioMérieux pour contrôle complémentaire; dès que les résultats de ce contrôle seront connus, nous vous les communiquerons.

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

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	-	-	4
Oxacilline	1	-	3
Gentamicine	3	-	-
Vancomycine	4	-	-
Quinolone			
Lévofoxacine	-	-	3
Norfloxacine	-	-	2

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

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pénicilline	-	-	10	≥0.25	10 (10)
Oxacilline	-	-	10	1	7 (10)
Céfoxitine	-	-	9	8	9 (9)
Gentamicine	10	-	-	≤1	10 (10)
Vancomycine	10	-	-	≤1	10 (10)
Quinolone					
Ciprofloxacine	-	-	7	>4	7 (7)
Lévofoxacine	-	-	1	>4	1 (1)
Quinolone	-	-	2	>4	2 (2)

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'oxacilline 2 laboratoires ont retrouvé une CMI de 2 mg/L et 1 laboratoire une MIC >4 mg/L

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.8. et 4.1.9 a et b.

Etant donné que la plupart des 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.

Nous voulons faire un appel à tous les utilisateurs de ces appareils de bien le remplir sur les formulaires de réponse.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	6 (6)	6 ¹	23	8 – 26	-	-	6
Oxacilline	5 (5)	1	17	8 – 20	1	-	4
Céfoxitine	6 (6)	30	21.5	12 – 25	3	-	3
Gentamicine	2 (2)	10	25	22 – 28	2	-	-
Vancomycine	5 (5)	30	18	17 – 20	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	4 (4)	5	6	6 – 6	-	-	4
Lévofloxacine	2 (2)	5	6	6 – 6	-	-	2
Moxifloxacine	1 (1)	5	18	18 – 18	-	-	1

¹ 6µg = 10 U

Tableau 4.1.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges Neosensitabs) pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	10 (11)	5	20	12 – 13	-	-	11	-
Oxacilline	7 (8)	1	21	17 – 23	5	-	3	-
Céfoxitine	7 (11)	60	25	22 – 28	4	-	7 ¹	-
Gentamicine	6 (7)	40	26.5	23 – 32	7	-	-	-
Vancomycine	7 (9)	5	17	16 – 19	8	-	-	1 ²
Quinolone								
Ciprofloxacine	4 (4)	10	9	9 – 9	-	-	4	-
Lévofloxacine	2 (2)	5	9	9 – 9	-	-	2	-
Moxifloxacine	1 (2)	5	14	14 – 14	-	-	2	-
Ofloxacine	2 (2)	10	9	9 – 9	-	-	2	-

¹ Tout diamètre de la céfoxitine 30 µg compris entre 20 et 24 mm. est contrôlé. Il est connu que des souches MRSA peuvent se situer dans cette gamme de diamètre.

² Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire et l'a effectuée

Tableau 4.1.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	5 (5)	10	22	18 – 28	-	-	5
Oxacilline	3 (3)	1	18	13 – 24	-	-	3
Céfoxitine	4 (4)	30	21.5	16 – 25	1	-	3
Gentamicine	4 (4)	10	24.5	20 – 27	4	-	-
Vancomycine	5 (5)	30	17	16 – 20	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	3 (3)	5	9	6 – 9	-	-	3
Lévofloxacine	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1
Ofloxacine	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1

Il reste à mentionner qu'un certain nombre de laboratoires ont utilisé d'autres techniques:

- 1 laboratoire a trouvé la β -lactamase positive et a répondu la pénicilline comme résistant
- 17 laboratoires ont examiné la croissance sur milieux de screening MRSA: 16 laboratoires ont obtenu une croissance et 1 laboratoire n'a pas obtenu de croissance; les milieux ont été produits par les firmes suivantes; Becton Dickinson (1), bioMérieux (8), Biorad (5) et Oxoïd (1); 2 laboratoires n'ont pas mentionné le nom du producteur
- onze laboratoires ont mentionné le résultat du test qu'ils ont utilisé pour rechercher la protéine PBP2a: ce test était positif dans tous les cas
- cinq laboratoires ont mentionné le résultat de la croissance sur le milieu vancoscreen: ce test était négatif dans tous les cas
- Un laboratoire a répondu « S » sur base d'une extrapolation: « La zone d'inhibition de la céfoxitine 60 µg (Neosensitabs): >15 mm.: vancomycine S »

La plupart des laboratoires n'ont pas changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Certains laboratoires ont effectué ces modifications en se basant sur l'utilisation de différentes méthodes:

- La pénicilline:
 - o S→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Osiris: 1 labo
- L'oxacilline:
 - o I→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - o S→R
 - Disques en papier: 4 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Osiris: 2 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Rosco Neosensitabs: 8 labos (3 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Sirscan Neosensitabs: 3 labos
 - Sirscan CLSI: 2 labos
 - E-test: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 7 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 17 labo's (4 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)

- Vitek 2 compact: 2 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
- La céfoxitine
 - I→R
 - Sirscan CLSI: 1 labo
 - S→R
 - Disques en papier: 4 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Rosco Neosensitabs: 4 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Sirscan Neosensitabs: 2 labos
 - Sirscan CLSI: 2 labos
 - Phoenix: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labos
 - Vitek 2 compact: 2 labos
- La lévofloxacine
 - S→R
 - Vitek 2: 1 labo (également basés sur les résultats d'autres techniques)

4.2 Culture M/9720 *Pseudomonas aeruginosa*

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/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	S/I	163	95 ¹	57 ²	10	1 ³
Ceftazidime	S	172	122	40	9	1 ³
Méropénème	S	160	155	-	4 ⁴	1 ³
Imipénème ⁵	S	4	4	-	-	-
Amikacine	S	172	172	-	-	-
Gentamicine	S	159	159	-	-	-
Tobramycine	S	118	118	-	-	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	153	153	-	-	-
Lévofloxacine	S	12	12	-	-	-
Moxifloxacine	S	1	1	-	-	-
Norfloxacine	S	3	2	-	1	-
Ofloxacine	S	7	6	1	-	-
Péfloxacine	S	2	1	1	-	-
Quinolone ⁶	S	3	3	-	-	-

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « S »: « Etant donné que le résultat de la dilution pour la pipéracilline-tazobactam sur Vitek était 64, la sensibilité a été confirmée par antibiogramme manuel (Saegeman et al, Acta Clinica Belgica 2005 60(1): 3-9). »

² Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « I »:
 - CMI 64 pour Pip-tazo→antibiogramme manuel. Développement de microcolonies à l'intérieur de la zone de sensibilité → changement de S en I en attendant les modifications apportées par EUCAST
 - Pipéracilline-tazobactam CMI 64. Directives CLSI: $\leq 64 = S \geq 128 = R$. Le système expert le modifie en R. Par précaution et tenant compte qu'avec les directives EUCAST cette valeur de la CMI deviendra R, la réponse I a été conservée.

³ Un laboratoire a laissé ouverts les résultats de ces 3 antibiotiques, mais a donné la remarque suivante: « Si sur le même antibiogramme on teste également l'imipénème on observe une forte induction de résistance sur Pipéracilline+Tazobactam et Ceftazidime. En testant le Méropénème on observe dans la zone d'inhibition des colonies isolées. Retestées avec le même antibiotique la zone d'inhibition passe de 30 à 19 mm. Ces 2 phénomènes évoquent la présence d'une résistance inductible pour Pipéracilline+Tazobactam et Ceftazidime et la présence d'une carbapénémase. En conclusion nous ne pouvons recommander l'utilisation des 3 premiers antibiotiques soit: Pipéracilline+Tazobactam, Ceftazidime et Méropénème malgré une apparente sensibilité in vitro. »

⁴ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:
 - 1 seule colonie a repoussé autour du méropénème: un nouvel AB a été ensemencé à partir de cette colonie: R au méropénème
 - Présence de colonies mutantes résistantes au méropénème. Absence de carbapénémase de type VIM et IMP.

⁵ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu du méropénème

⁶ 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 ayant utilisé l'appareil Osiris pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans le tableau 4.2.8.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	17 (21)	100+10	23	18 – 25	20	1 ¹	-
Ceftazidime	20 (21)	30	24	21 – 27	20	-	1
Méropénème	17 (18)	10	32	19 – 34	18	-	-
Imipénème	2 (2)	10	26	26 – 26	2	-	-
Amikacine	18 (19)	30	22.5	19 – 25	19	-	-
Gentamicine	19 (20)	10	19	16 – 22	20	-	-
Tobramycine	6 (7)	10	22.5	19 – 24	7	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	19 (21)	5	26	24 – 37	21	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	18	18 – 18	1	-	-
Ofloxacine	2 (2)	5	15.5	14 – 17	1	1	-

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « S »: « Etant donné que le résultat de la dilution pour la pipéracilline-tazobactam sur Vitek était 64, la sensibilité a été confirmée par antibiogramme manuel (Saegeman et al, Acta Clinica Belgica 2005 60(1): 3-9). »

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges Neosensitabs ("old") et avec charges CLSI ("new") séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.1.3. a en b. Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres 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/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	22 (26)	100+10	24	21 – 28	21	3	1 ¹	1 ²
Ceftazidime	22 (27)	30	26	23 – 30	25	-	1	1 ²
Méropénème	18 (23)	10	34.5	15 – 40	20	-	2 ³	1 ²
Imipénème	1 (1)	15	30	30 – 30	1	-	-	-
Amikacine	23 (27)	40	26	23 – 31	27	-	-	-
Gentamicine	20 (23)	40	26	24 – 31	23	-	-	-
Tobramycine	12 (14)	40	30	26 – 34	14	-	-	-
Quinolone								
Ciprofloxacine	17 (23)	10	30	17 – 40	23	-	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	21	21 – 21	1	-	-	-
Ofloxacine	2 (2)	10	21.5	18 – 25	2	-	-	-

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « I »: « CMI 64 pour Pip-tazo → antibiogramme manuel. Développement de microcolonies à l'intérieur de la zone de sensibilité → changement de S en I en attendant les modifications apportées par EUCAST »

² Un laboratoire a laissé ouverts les résultats de ces 3 antibiotiques, mais a donné la remarque suivante: « Si sur le même antibiogramme on teste également l'Imipénème on observe une forte induction de résistance sur Pipéracilline+Tazobactam et Ceftazidime. En testant le Méropénem on observe dans la zone d'inhibition des

colonies isolées. Retestées avec le même antibiotique la zone d'inhibition passe de 30 à 19 mm. Ces 2 phénomènes évoquent la présence d'une résistance inductible pour Pipéracilline+Tazobactam et Ceftazidime et la présence d'une carbapénèmase. En conclusion nous ne pouvons recommander l'utilisation des 3 premiers antibiotiques soit: Pipéracilline+Tazobactam, Ceftazidime et Méropénème malgré une apparente sensibilité en vitro. »

³ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:

- 1 seule colonie a repoussé autour du méropénème: un nouvel AB a été ensemencé à partir de cette colonie: R au méropénème
- Présence de colonies mutantes résistante au méropénème. Absence de carbapénèmase de type VIM et IMP

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	2 (4)	100+10	23.5	23 – 24	4	-	-
Ceftazidime	2 (4)	30	22	21 – 23	4	-	-
Méropénème	1 (3)	10	30	30 – 30	3	-	-
Amikacine	2 (4)	30	22	22 – 22	4	-	-
Gentamicine	2 (3)	10	19	19 – 19	3	-	-
Tobramycine	2 (2)	10	23	23 – 23	2	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	1 (2)	5	22	22 – 22	2	-	-
Moxifloxacine	- (1)	-	-	-	1	-	-
Quinolone	1 (1)	5	23	23 – 23	1	-	-

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/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Pipéracilline-tazobactam	4	4 x S	1 mg/L; 2 x 12 mg/L; 16 mg/L
Ceftazidime	4	4 x S	2 mg/L; 2 x 4 mg/L; 6 mg/L
Méropénème	4	3 x S 1 x R ¹	<0.0313 mg/L; 0.19 mg/L; 0.25 mg/L >32 mg/L
Vancomycine	3	3 x S	4 mg/L; 8 mg/L; 12 mg/L
Gentamicine	3	3 x S	1.5 mg/L; 3 mg/L; 4 mg/L
Tobramycine	1	1 x S	2 mg/mL
Quinolone			
Ciprofloxacine	3	3 x S	0.25 mg/L; 2 x 0.38 mg/L
Moxifloxacine	1	1 x S	<0.0313 mg/L

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « R »: Présence de colonies mutantes résistante au méropénème. Absence de carbapénèmase de type VIM et IMP

Un seul laboratoire a utilisé le test MICE : pour la gentamicine (CMI : 3 mg/L ; interprétation « S »).

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/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact					
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus souvent (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus souvent (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	
	S	I	R			S	I	R	*		
Pipéracilline-tazobactam	15 ¹	33	2	64	48 (50)	6	23 ²	7	1 ³	64	29 (37)
Ceftazidime	26	22	2	8	26 (50)	17	18	4	-	4	16 (39)
Méropénème	49	-	1	≤0.25	47 (50)	39	-	-	-	≤0.25	34 (39)
Amikacine	50	-	-	≤2	41 (50)	39	-	-	-	≤2	27 (39)
Gentamicine	49	-	-	≤1	40 (49)	38	-	-	-	≤1	29 (38)
Tobramycine	48	-	-	≤1	46 (48)	35	-	-	-	≤1	31 (35)
Quinolone											
Ciprofloxacine	47	-	-	≤0.25	40 (47)	36	-	-	-	≤0.25	25 (36)
Lévofloxacine	5	-	-	1	5 (5)	1	-	-	-	-	- (1)
Norfloxacine	-	-	1	1	1 (1)	1	-	-	-	2	1 (1)
Péfloxacine	-	-	-	-	-	1	1	-	-	2	1 (2)
Quinolone	-	-	-	-	-	1	-	-	-	0.5	1 (1)

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « S »: « Etant donné que le résultat de la dilution pour la pipéracilline-tazobactam sur Vitek était 64, la sensibilité a été confirmée par antibiogramme manuel (Saegeman et al, Acta Clinica Belgica 2005 60(1): 3-9). »

² Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « I »:

- CMI 64 pour Pip-tazo → antibiogramme manuel. Développement de microcolonies à l'intérieur de la zone de sensibilité → changement de S en I en attendant les modifications apportées par EUCAST
- Pipéracilline-tazobactam CMI 64. Directives CLSI: ≤64 = S ≥128 = R. Le système expert le modifie en R. Par précaution et tenant compte qu'avec les directives EUCAST cette valeur de la CMI deviendra R, la réponse I a été conservée.

³ Un laboratoire réfère au résultat de la diffusion (S) pour 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 la pipéracilline-tazobactam 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 32 mg/L et 2 laboratoires une CMI ≥128 mg/L pour le Vitek 2 compact
- pour la ceftazidime 18 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 16 mg/L pour le Vitek 2 ; pour le Vitek 2 compact 14 laboratoires ont mentionné une CMI de 8 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 16 mg/L
- pour l'amikacine 7 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2 et 8 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact
- pour la gentamicine 7 laboratoires ont mentionné une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2 et 4 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact
- pour la tobramycine 1 laboratoire a mentionné une CMI de 0.5 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 5 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L en 1 laboratoire une CMI de 1 mg/L

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/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	3	-	-
Ceftazidime	3	-	1
Méropénème	3	-	-
Amikacine	5	-	-
Gentamicine	6	-	-
Tobramycine	5	-	-
Quinolone			
Ciprofloxacine	5	-	-
Norfloxacine	1	-	-

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

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labs ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pipéracilline-tazobactam	9	-	-	16/4	9 (9)
Ceftazidime	9	-	-	8	7 (9)
Méropénème	9	-	-	≤1	9 (9)
Amikacine	9	-	-	4	4 (9)
Gentamicine	8	-	-	≤2	8 (8)
Quinolone					
Ciprofloxacine	7	-	-	≤0.5	5 (7)
Lévofloxacine	1	-	-	2	1 (1)

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 de la CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la ceftazidime 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L
- pour l'amikacine 3 laboratoires ont mentionné une CMI de ≤2 mg/L et 2 laboratoires une CMI ≤8 mg/L
- pour la ciprofloxacine 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.25 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 la plupart des 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.

Nous voulons faire un appel à tous les utilisateurs de ces appareils de bien le remplir sur les formulaires de réponse.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	6 (6)	100+10	23	20 – 27	6	-	-
Ceftazidime	6 (7)	30	22	18 – 26	7	-	-
Méropénème	4 (4)	10	32	23 – 35	4	-	-
Imipénème	1 (1)	10	27	27 – 27	1	-	-
Amikacine	7 (7)	30	19	18 – 23	7	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	16.5	16 – 17	2	-	-
Tobramycine	3 (3)	10	18	17 – 19	3	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	6 (6)	5	28	21 – 30	6	-	-
Lévofloxacine	2 (2)	5	20	17 – 23	2	-	-

Tableau 4.2.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges Neosensitabs) pour l'échantillon M/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	11 (12)	100+10	25	22 – 30	12	-	-
Ceftazidime	11 (12)	30	26	22 – 29	12	-	-
Méropénème	11 (12)	10	35	16 – 38	11	-	1
Amikacine	11 (12)	40	30	20 – 31	12	-	-
Gentamicine	8 (8)	40	28.5	23 – 34	8	-	-
Tobramycine	2 (2)	40	35	34 – 36	2	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	7 (8)	10	32	27 – 34	8	-	-
Lévofloxacine	2 (2)	5	20.5	20 – 21	2	-	-

Tableau 4.2.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/9720 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	5 (5)	100+10	24	23 – 29	5	-	-
Ceftazidime	5 (5)	30	24	21 – 30	5	-	-
Méropénème	4 (4)	10	32	29 – 34	4	-	-
Amikacine	5 (5)	30	20	18 – 25	5	-	-
Gentamicine	4 (4)	10	17.5	16 – 24	4	-	-
Tobramycine	4 (5)	10	22.5	20 – 24	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	5 (5)	5	28	22 – 38	5	-	-

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Certains laboratoires ont effectué ces modifications en se basant sur l'utilisation de différentes méthodes:

- La pipéracilline-tazobactam:
 - o S→I
 - Disques en papier: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Rosco Neosensitabs: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 31 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - o I→R
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - o I→S
 - Vitek 2: 1 labo (en référant au test de diffusion)
- La ceftazidime:
 - o S→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 4 labos
 - o S→I
 - Vitek 2: 18 labo's
 - Vitek 2 compact: 8 labos

5.1 Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang ont été envoyés.
182 laboratoires ont participé à l'enquête.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 66.5%. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter certaines erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/9334:

« Jeune femme congolaise, enceinte, qui se plaint de démangeaisons. »

P/9683:

« Une américaine en voyage en Belgique, est admise à l'hôpital avec une forte fièvre hectique. Les résultats de l'examen de laboratoire montrent une thrombopénie, une leucopénie et une anémie ; la CRP est également fort élevée. Elle avait déjà de la fièvre quand elle est partie des Etats Unis.»

L'échantillon P/9334 contenait des microfilaires de *Loa loa*.

L'échantillon P/9683 contenait des trophozoïtes de *Babesia* species.

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^e échantillon.

5.2 Les résultats pour l'échantillon P/9334

Les 182 laboratoires ont fourni 183 réponses. Cinq laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 176 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et un laboratoire a répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/9334

Résultat	Nombre
<i>Loa loa</i>	156
<i>Loa loa</i> ou <i>Mansonella</i> species	1
<i>Loa loa</i> ou <i>Onchocerca volvulus</i> microfilaires	1
<i>Onchocerca volvulus</i>	7
<i>Mansonella perstans</i>	4
<i>Wuchereria bancrofti</i>	4
<i>Brugia malayi</i>	1
<i>Babesia</i> species	1
<i>Echinococcus multilocularis</i>	1
<i>Plasmodium falciparum</i>	1
Absence de parasites	5
Total	183

Nous proposons aux laboratoires qui ont répondu « Absence de parasites » qu'ils ré-évaluent leur échantillon. Ils peuvent également demander un deuxième échantillon.

La réponse *Babesia* species peut possiblement être due à une inversion des échantillons ; pour l'échantillon P/9683 ce laboratoire a répondu *Pentatrichomonas hominis*.

La réponse *Plasmodium falciparum* par contre n'est pas due à une inversion : pour l'échantillon P/9683 ce laboratoire a également répondu *Plasmodium falciparum*.

Un certain nombre des résultats incorrects sont probablement dus à l'utilisation d'anciens codes. Il est indispensable que les laboratoires utilisent les codes les plus récents (2007, version 2, disponibles sur notre site internet à l'adresse suivante: http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/_fr/parasitologie.htm) ou utilisent le Toolkit.

Le laboratoire ayant répondu la présence de 2 parasites, a mentionné *Loa loa* et *Mansonella perstans*.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Loa loa* sont repris dans le tableau suivant (les résultats des 2 laboratoires ayant mentionné *Loa loa* ou une autre microfilaire sont également repris dans ce tableau).

Tableau 5.2.2. Stades d'évolution de *Loa loa* pour l'échantillon P/9334

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Microfilaires	141
Forme adulte	10
Larve	4
Non précisé	2
Oocyste	1
Total	158

Tous les laboratoires n'ont pas mentionné la quantité de parasites trouvés. La quantité des *Loa loa* retrouvés dans l'échantillon P/9334 est reprise dans le tableau 5.2.3.

Tableau 5.2.3. Médiane, minimum et maximum pour *Loa loa* pour l'échantillon P/9334 (exprimés en nombre par lame).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
127	5	1	15

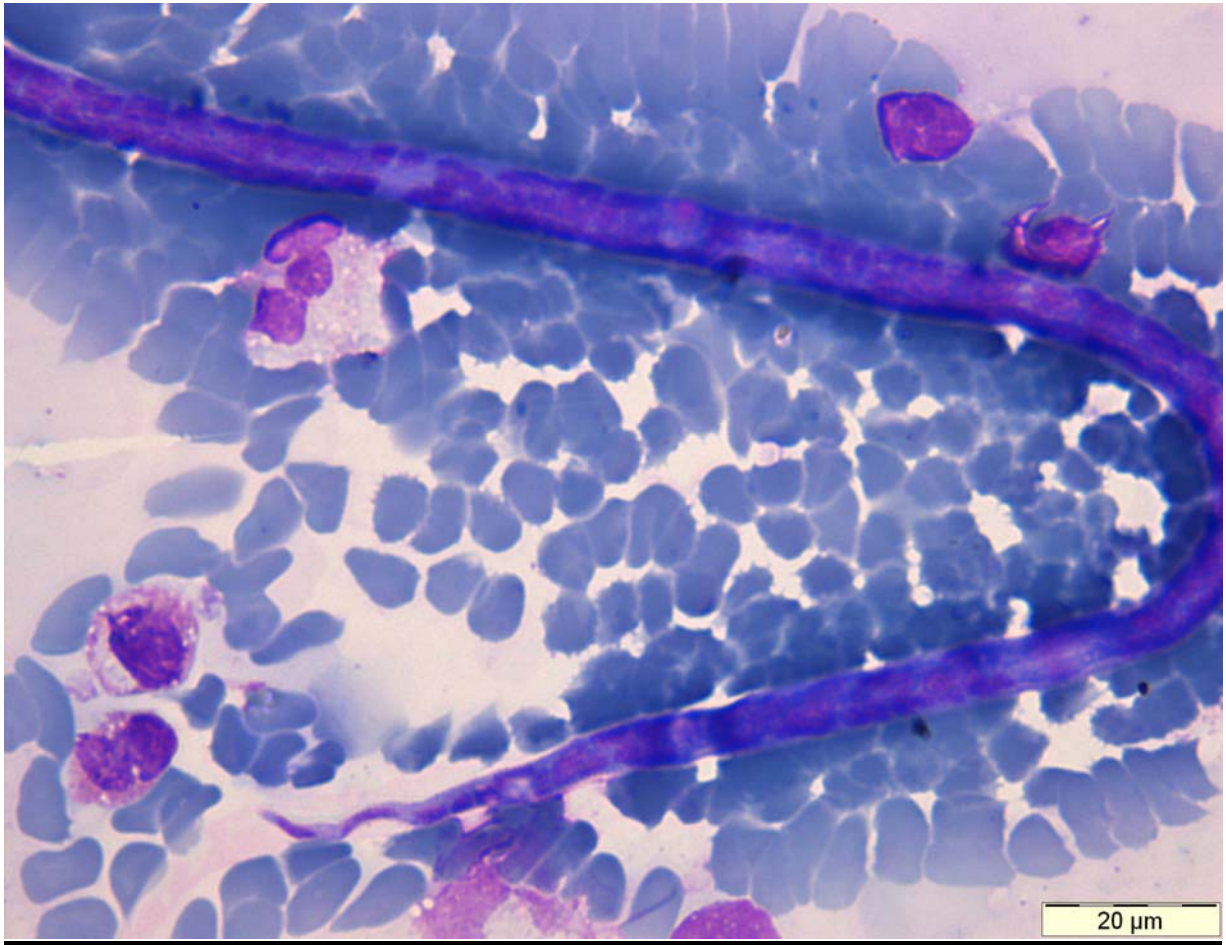
En outre 1 laboratoire a répondu <1, 9 laboratoires ont répondu 1 à 2, 8 ont répondu 2 à 3, 6 ont répondu 3 à 4 et 5 ont répondu 5 à 10; 2 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.

Douze laboratoires ayant répondu *Loa loa*, ont mentionné d'envoyer en routine l'échantillon à un centre de référence pour confirmation. Outre les laboratoires ayant répondu « *Loa loa* ou *Mansonella species* » et « *Loa loa* ou *Onchocerca volvulus* », 3 autres laboratoires (ayant répondu *Loa loa*) ont mentionné dans une remarque qu'il peut s'agir éventuellement d'autres microfilaries; tous ces laboratoires enverraient en routine également l'échantillon à un centre de référence. Deux autres laboratoires qui ont répondu une autre microfilarie, l'enverraient également en routine.

Loa loa a amplement été discuté dans les rapports globaux des enquêtes EEQ 2006/3 et 2003/1.

Ci-dessous vous trouverez quelques photos de l'enquête actuelle :





5.3. Les résultats pour l'échantillon P/9683

Les 182 laboratoires ont fourni 182 réponses. Six laboratoires ont répondu "Absence de parasites" et 176 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite
Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/9683

Résultat	Nombre
<i>Babesia species</i>	131
<i>Babesia species</i> ou <i>Plasmodium species</i>	2
<i>Plasmodium falciparum</i>	19
<i>Plasmodium species</i>	9
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	6
<i>Plasmodium malariae</i>	4
<i>Plasmodium vivax</i>	3
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	1
<i>Acanthamoeba species</i>	1
Absence de parasites	6
Total	182

Nous proposons aux laboratoires qui ont répondu « Absence de parasites » qu'ils ré-évaluent leur échantillon. Ils peuvent également demander un deuxième échantillon.

Un certain nombre des résultats incorrects sont probablement dus à l'utilisation d'anciens codes. Il est indispensable que les laboratoires utilisent les codes les plus récents (2007, version 2, disponibles sur notre site internet à l'adresse suivante: http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm) ou utilisent le Toolkit.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Babesia species* sont repris dans le tableau suivant (les résultats des 2 laboratoires ayant mentionné *Babesia species* ou *Plasmodium species* sont également repris dans ce tableau). Trois laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution différents (1 labo: trophozoïte + gamétocyte et 2 labos: trophozoïte + schizonte).

Tableau 5.3.2. Stades d'évolution de *Babesia species* pour l'échantillon P/9683

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Trophozoïte	126
Non précisée	4
Gamétocyt	2
Schizonte	2
Sporocyste	1
Forme adulte	1
Total	136

Tous les laboratoires n'ont pas mentionné la quantité de parasites trouvés. La quantité du stade d'évolution trophozoïte des *Babesia* species retrouvés dans l'échantillon P/9334 est reprise dans le tableau 5.3.3.

Tableau 5.3.3. Médiane, minimum et maximum pour trophozoïte pour *Babesia* species pour l'échantillon P/9683 (exprimés en nombre par 1000 GR).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
66	3	1	25

En outre 19 laboratoires ont répondu <1, 3 laboratoires ont répondu 1 à 2, 16 ont répondu 2 à 3, 10 ont répondu 3 à 4 et 10 ont répondu 5 à 10; 2 laboratoires n'ont pas fourni de résultat quantitatif.

21 laboratoires ayant répondu *Babesia* species, ont mentionné d'envoyer en routine l'échantillon à un centre de référence pour confirmation (avec ou sans la remarque que la différenciation avec *Plasmodium* species doit être effectuée). Les 2 laboratoires ayant répondu « *Babesia* species ou *Plasmodium* species » enverraient naturellement en routine l'échantillon à un centre de référence. Neuf laboratoires ayant répondu un *Plasmodium*, enverraient en routine également l'échantillon.

Trois laboratoires ont mentionné qu'ils se sont basés pour l'identification également sur les données épidémiologiques (patiente américaine sans séjour aux tropiques).

Cet échantillon a déjà été envoyé lors de l'enquête 2008/1 sous le numéro P/8046.

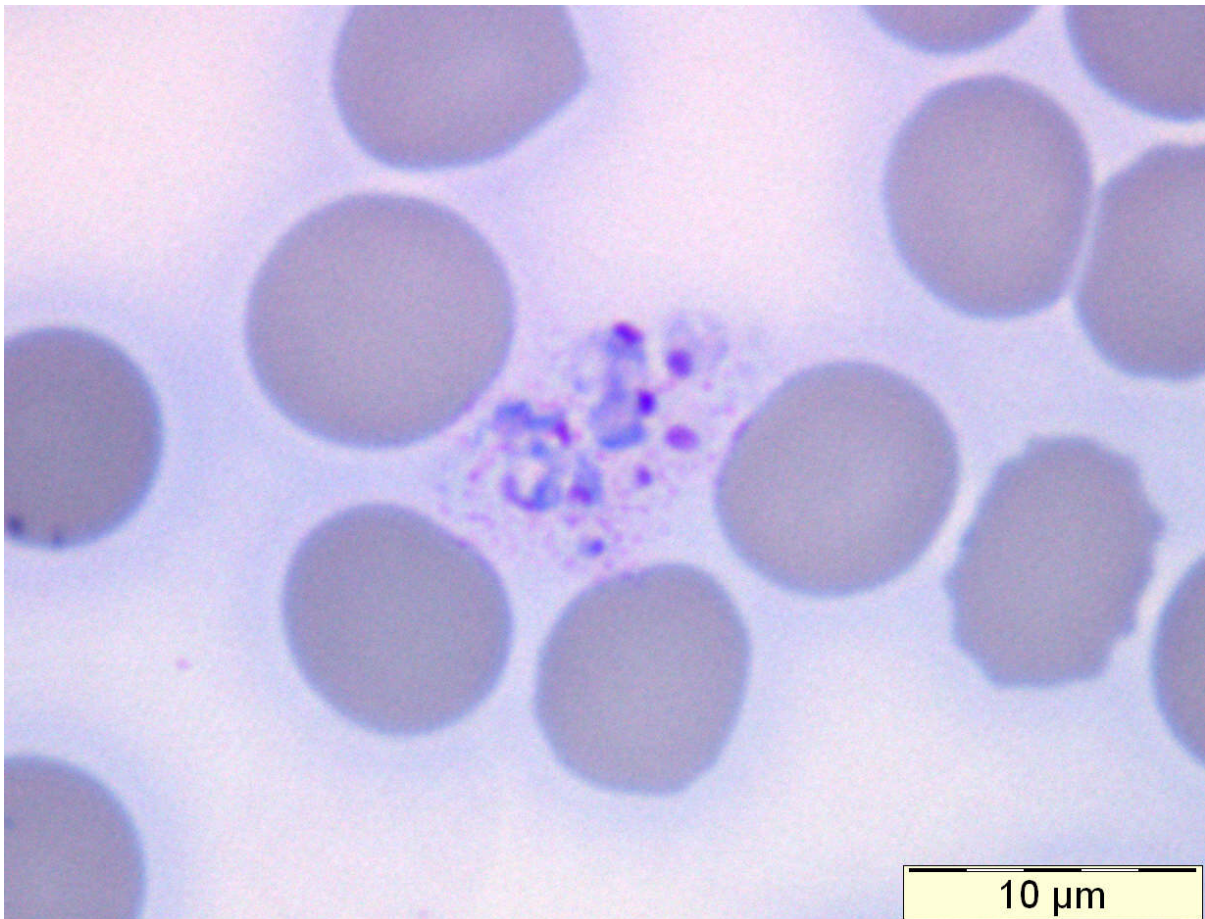
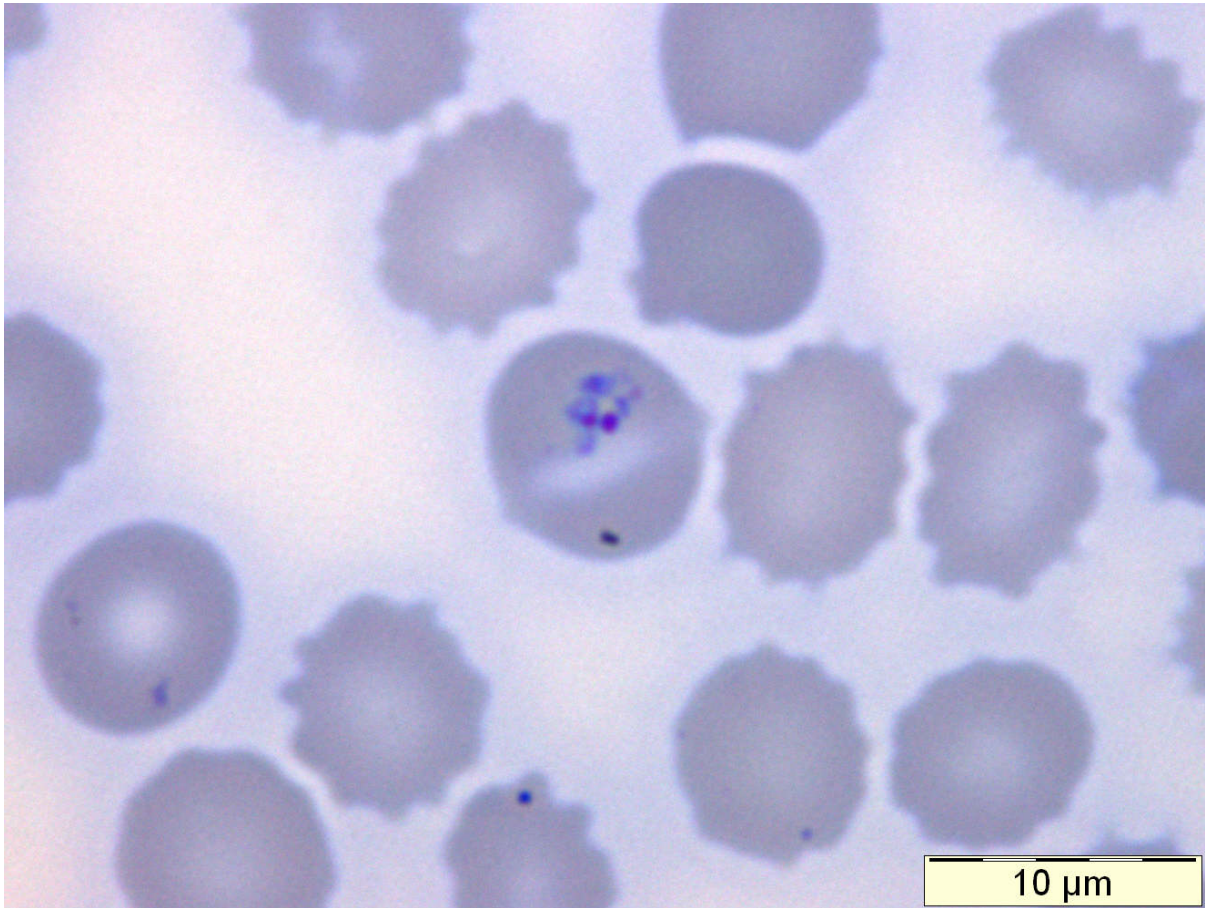
Le tableau suivant présente la comparaison des résultats des 2 enquêtes.

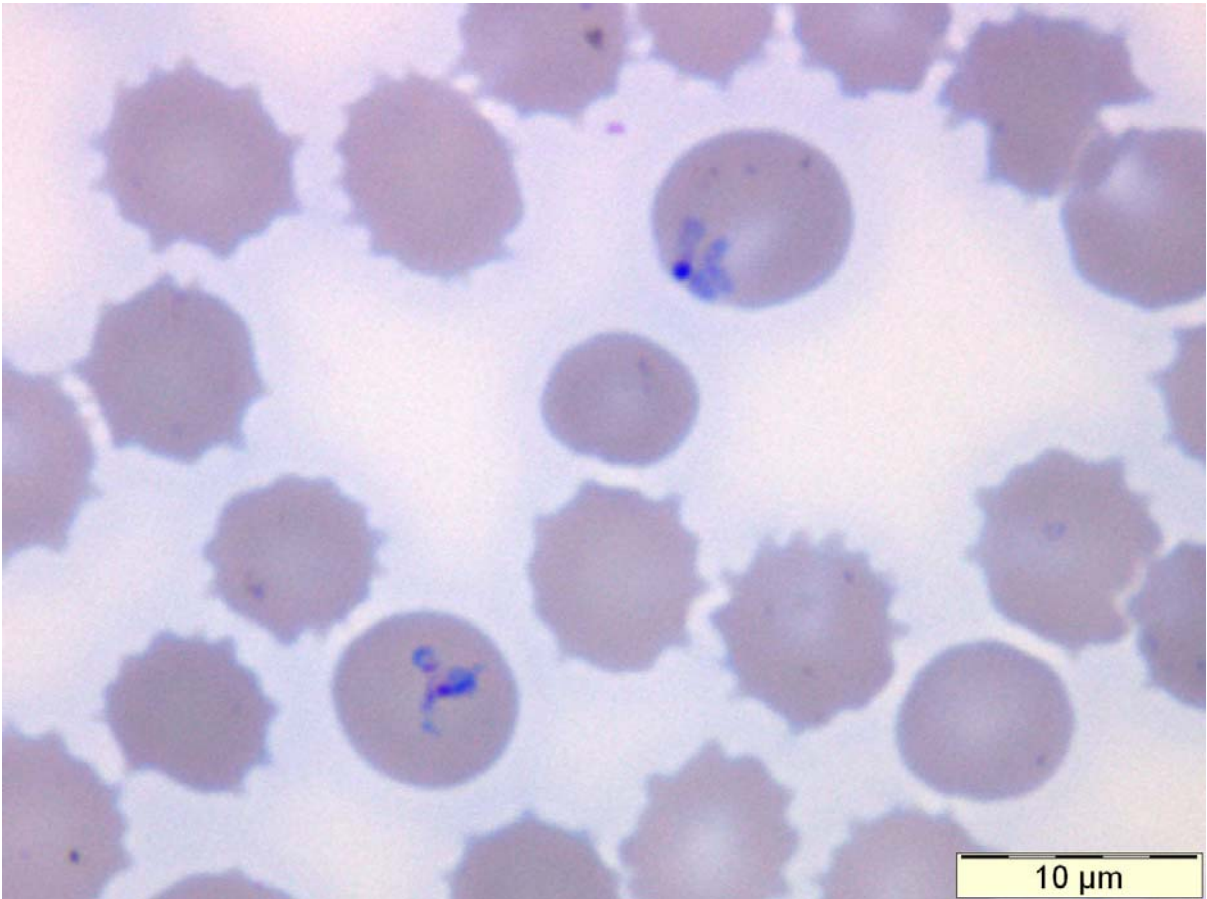
Tableau 5.3.5. Comparaison des résultats pour les échantillons P/8046 (2008/1) et P/9683 (2009/3) (*Babesia* species)

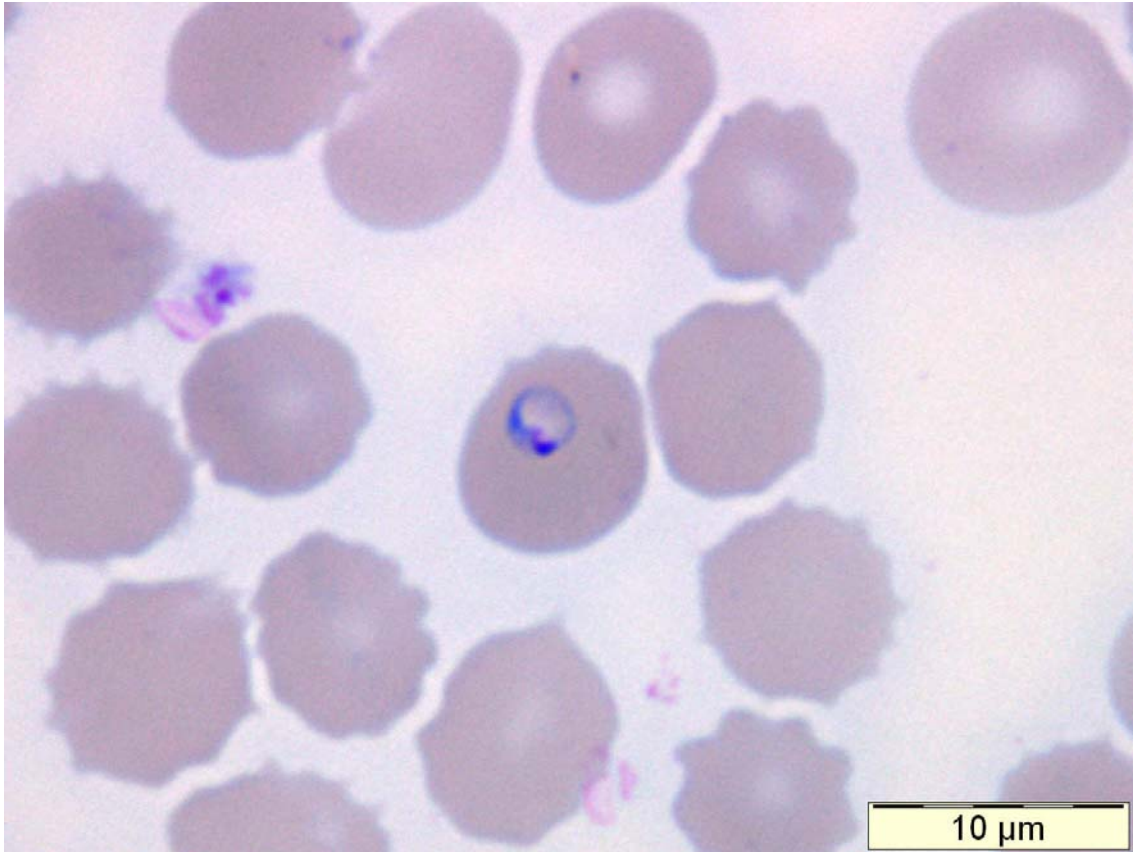
Enquête	% labos avec résultat <i>Babesia</i> sp.	% labos avec résultat <i>Babesia</i> sp. ayant répondu le stade d'évolution trophozoïte
P/8046	60.7	86.4
P/9683	73.1	92.6

Babesia species a amplement été discuté dans le rapport global de l'enquête EEQ 2008/1.

Ci-dessous vous trouverez quelques photos de l'enquête actuelle :







6.1. VIH

6.1.1. Information concernant les échantillons envoyés

2 échantillons « prêt-à-emploi » (S/5621 et S/7743) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon S/5621 était négatif pour les anticorps anti-VIH.

L'échantillon S/7743 était positif pour les anticorps anti-VIH.

6.1.2. Les participants

180 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse : 178 laboratoires belges et luxembourgeois et 2 autres laboratoires étrangers (France). Ces 2 derniers ne sont pas repris dans le traitement de l'enquête.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests de dépistage effectués par laboratoire. Deux laboratoires ont utilisé 2 fois le même test de dépistage : ces résultats ont été considérés comme 1 résultat.

Plusieurs laboratoires ont effectué 2 tests de dépistage différents par échantillon.

Tableau 6.1.1. Tests de dépistage effectués pour la détermination du VIH.

Echantillon	1 test	2 tests	Total
S/5621 (N labos)	163	15	178
S/7743 (N labos)	155	23	178

Au total les laboratoires ont donc effectué 193 tests de dépistage sur l'échantillon S/5621 et 201 sur l'échantillon S/7743.

En outre, 7 participants ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) et 1 laboratoire le résultat qu'il a obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO QUICK (bioMérieux) pour l'échantillon S/5621. Pour l'échantillon S/7743, 6 laboratoires ont rapporté le résultat de l'antigène p24 pour la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA et 1 pour la trousse VIDAS HIV DUO QUICK.

Un laboratoire a déterminé l'Ag p24 avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux) pour l'échantillon S/5621; et 2 laboratoires ont effectués des tests de confirmation : 1 à l'aide de la trousse Inno-LIA HIV Confirmation (Innogenetics) et 1 à l'aide de la trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT (Genelabs).

Trois laboratoires ont déterminé l'Ag p24 avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux) pour l'échantillon S/7743 ; un laboratoire a utilisé la trousse Murex HIV Ag Mab kit (Abbott) dans ce but; 2 laboratoires ont effectué un test de confirmation avec la trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT (Genelabs) et 3 avec la trousse Inno-LIA HIV Confirmation (Innogenetics).

6.1.3. Réactifs utilisés

Le tableau suivant reprend le nombre d'utilisateurs par trousse de réactifs.

Tableau 6.1.2. Réactifs utilisés pour les tests de dépistage du VIH.

Fabricant	Réactif	S/5621	S/7743
Abbott	Architect HIV Ag/Ab Combo	39	39
	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	32	32
	AxSYM HIV-1/2gO	5	5
	Murex HIV Ag/Ab	2	2
	PRISM HIV 0 Plus	2	2
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	1	1
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	18	22
	VIDAS HIV DUO QUICK	14	17
	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	3	3
	VIDIA HIV DUO	1	1
BioRad	Access HIV 1/2 New sur Unicel Dxl 800 ¹	12	12
	Access HIV 1/2 New sur Access ¹	9	9
Inverness Medical Orange medical)	(distributeur Determine HIV-1/2	-	1
Ortho Diagnostics	VITROS ECi anti HIV 1+2	7	7
Roche	HIV Combi 2 nd Generation	21	21
	HIV Combi	3	3
Siemens	ADVIA Centaur EHIV	19	19
	Enzygnost HIV Integral II	4	4
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
Total		193	201

¹ La trousse Access HIV 1/2 New est produite par BioRad ; ces trousses sont néanmoins utilisées sur les appareils distribués par Analis.

6.1.4. Résultats

6.1.4.1. Echantillon S/5621

177 laboratoires ont obtenu un résultat négatif (les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats négatifs avec ces techniques). Un laboratoire a coché la case "positif" (ce laboratoire a cependant obtenu comme résultat quantitatif une indice de 0.36). Ce laboratoire est le seul qui en routine enverrait l'échantillon à un centre de référence.

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

Tous les résultats des tests Ag p24 et des tests de confirmation étaient négatifs.

6.1.4.2. Echantillon S/7743

176 laboratoires ont obtenu un résultat positif avec les tests de dépistage (les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats positifs avec ces techniques). Un laboratoire a obtenu un résultat borderline et un laboratoire un résultat négatif.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et utilisé la même unité). Ils sont présentés dans le tableau 6.1.3. Pour la trousse ADVIA Centaur EHIV 19 laboratoires ont tous fourni le résultat « indice >50 » (Cut-off pour positivité: ≥ 1.0).

Tableau 6.1.3. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les anticorps anti-VIH pour l'échantillon S/7743 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	39	259.89	184.81	378.37	≥ 1.0
AxSYM HIV Ag/Ab Combo (index S/CO) ¹	30	17.76	11.28	22.9	≥ 1.0
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	17	13.21	11.26	17.94	≥ 0.25
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	19	12.43	10.16	21.10	≥ 0.25
Access HIV 1/2 new op Access (index S/CO) ²	8	192.77	125.00	245.55	≥ 1.0
Access HIV 1/2 new op Unicef Dxl 800 (index S/CO)	11	143.22	121.12	171.60	≥ 1.0
VITROS ECI anti HIV 1+2 (index)	7	47.8	40.1	56.0	≥ 1.0
Cobas Combi 2 nd generation (index)	21	200.2	177.9	232.8	≥ 1.0

¹ En plus 2 laboratoires ont mentionné les résultats 214 et 281.

² En plus 1 laboratoire a mentionné le résultat 14.4.

Le laboratoire ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO QUICK et 5 des laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA, ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé »; un laboratoire a répondu « négatif ». Pour la plupart des laboratoires il est clair que la réponse « ND » signifie qu'une forte réaction pour la détermination des anticorps peut empêcher la détermination de l'Ag p24 et qu'une conclusion adéquate au sujet de cet antigène est impossible. Pour le laboratoire pour lequel ceci n'était pas clair nous rappelons qu'un tel résultat de l'Ag p24 ne peut pas être interprété comme « négatif ». L'Ag p24 devrait être déterminé avec une autre technique.

Les résultats de la trousse VIDAS HIV p24 II étaient tous négatifs avec une valeur <3 pg/ml. Le résultat de la trousse Murex HIV Ag Mab était également négatif.

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

172 laboratoires enverraient en routine cet échantillon à un centre de référence. Six ne le feraient pas; outre le laboratoire ayant obtenu un résultat négatif, il s'agit principalement de laboratoires qui effectuent eux-mêmes des tests de confirmation.

6.1.5. Commentaire

Cette enquête devenue traditionnelle pour la recherche d'anticorps anti-VIH nous conforte dans l'idée que la grande majorité des laboratoires offre des résultats fiables, le seul problème réel étant un résultat négatif dans un seul laboratoire pour l'échantillon positif.

Il est peut-être bon de rappeler que les tests combinés de détection antigène et anticorps, ont pour but d'améliorer la sensibilité tout au début d'une infection. Ils ne sont pas destinés à doser l'antigène. Le seul test permettant actuellement une réponse différenciée (Vidas Duo Ultra) ne donne pas de réponse pour l'antigène, lorsque le résultat est positif pour les anticorps. La bonne réponse dans ces cas est ND (non déterminé).

La plupart des laboratoires enverraient l'échantillon positif pour confirmation dans un des laboratoires de référence SIDA, ce qui est la bonne procédure, et elle semble bien entrée dans les habitudes.

Après un résultat positif confirmé, il est impératif de prélever un second échantillon du même patient, afin d'éviter toute confusion due à des erreurs administratives ou d'échantillonnage. Un résultat positif est en effet très important pour la personne, puisque au-delà de 18 mois (anticorps passifs) il signe une infection par le VIH.

Le laboratoire de référence considère une personne comme positive si deux échantillons ont été analysés avec le même résultat positif. Il accompagne sa réponse d'une demande de renseignements épidémiologiques. Leur collecte fait partie intégrante des obligations des laboratoires de référence SIDA. Ces données sont indispensables pour pouvoir suivre l'évolution de l'épidémie dans notre pays. Les résultats codés non nominatifs sont analysés par un secrétariat commun et seule l'analyse globale est disponible pour les autorités et le public.

6.2. CMV

6.2.1. Information concernant l'échantillon envoyé

Un échantillon (S/9685) a été envoyé pour effectuer la sérologie de CMV et EBV. Les laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair ont cependant reçu un échantillon différent sous ce même numéro.

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes:

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

Les résultats attendus pour le CMV étaient :

Laboratoires pairs: IgG positif
IgM positif
Laboratoires impairs: IgG positif
IgM positif

Nous avons demandé d'effectuer une interprétation combinée des résultats de CMV et EBV ; les résultats de cette question sont traités dans le chapitre 6.4.

6.2.2. Les participants

168 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 436 tests.

En plus trois laboratoires de firme ont effectué ces tests avec des résultats corrects. Ils ont utilisé les trousseaux suivantes :

- recomBlot CMV IgG, recomBlot CMV IgM et recomBlot CMV IgG avidity (Mikrogen, distributeur Euribel)
- Liaison CMV IgG, Liaison CMV IgM et Liaison CMV IgG avidity (DiaSorin)
- ELISA CMV IgG, ELISA CMV IgM et ELISA CMV IgG avidity (Euroimmun, distributeur Biognost)

Les 96 laboratoires pairs ont effectué 257 tests (98 IgG, 104 IgM et 55 déterminations de l'avidité).

Les 72 laboratoires impairs ont effectué 179 (1 détermination des anticorps totaux, 73 IgG, 76 IgM et 29 déterminations de l'avidité).

Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.1.

Tableau 6.2.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Type test	Laboratoires pairs	Laboratoires impairs
1 test	IgG	-	1
2 tests	IgG + IgM	37	39
	IgG + Ac. totaux	-	1
3 tests	IgG + IgM + avidité	51	24
	IgG + IgM + IgM	2	2
4 tests	IgG + IgM + IgM + avidité	4	4
	IgG + IgG + IgM + avidité	-	1
	IgG + IgG + IgM + IgM	2	-
Total		96	72

6.2.3. Réactifs utilisés

6.2.3.1 Pour la détermination des anticorps totaux

Le laboratoire ayant effectué ce test a utilisé la trousse Enzywell CMV Screen (Diesse).

6.2.3.2 Pour la détermination des IgG

Tableau 6.2.2.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps IgG anti-CMV.

Fabricant	Trousse	S/9685
Abbott	AxSYM CMV IgG	32
	Architect CMV IgG	31
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DxI CMV IgG	6
bioMérieux	VIDAS CMV IgG	42
Diamedix	CMV IgG	1
Diasorin	Liaison CMV IgG	34
	ETI-CYTOK-G Plus	2
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus CMV IgG	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products CMV IgG	1
Roche	Modular CMV IgG	2
	Cobas CMV IgG	1
Siemens	Immulite CMV IgG	13
	Enzygnost anti CMV IgG	5
Total		171

6.2.3.3. Pour la détermination des IgM

Tableau 6.2.4.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps IgM anti-CMV.

Fabricant	Trousse	S/9685
Abbott	Architect CMV IgM	30
	AxSYM CMV IgM	22
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DxI CMV IgM	6
bioMérieux	VIDAS CMV IgM	55
	VIDIA CMV IgM	1
Diamedix	CMV IgM	1
Diasorin	Liaison CMV IgM	36
	ETI-CYTOK-M reverse Plus	3
Diesse	Chorus CMV IgM	2
Roche	Modular CMV IgM	6
Siemens	Immulite CMV IgM	12
	Enzygnost anti CMV IgM	6
Total		180

6.2.3.4. Pour la détermination de l'avidité

Tableau 6.2.5.: Réactifs utilisés pour la détermination de l'avidité des IgG anti-CMV.

Fabricant	Trousse	S/9685
Abbott	Architect CMV IgG avidity	4
bioMérieux	VIDAS CMV IgG avidity	60
Diasorin	Liaison CMV IgG avidity	16
Diesse	Chorus CMV IgG avidity	2
Euroimmun (distributeur Biognost)	CMV avidity determination IgG	1
In house	In house	1
Total		84

6.2.4. Résultats

6.2.4.1 Laboratoires pairs

IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif (les laboratoires ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques).

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.2.5.

Tableau 6.2.5. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps anti-CMV IgG pour l'échantillon S/9685 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires pairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect CMV IgG (AU/mL)	14	51.0	32.8	111.0	6
AxSYM CMV IgG (AU/mL)	21	120.4	64.0	181.9	15
VIDAS CMV IgG (AU/mL)	24	34	27	40	6
Liaison CMV IgG (IU/mL)	19	3.7	2.6	6.1	0.6
Immulite CMV IgG (index)	8	4.8	4.1	5.5	1.1

IgM

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif (les laboratoires ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques).

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.2.6.

Tableau 6.2.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps anti-CMV IgM pour l'échantillon S/9685 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires pairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect CMV IgM (index)	15	3.27	2.64	9.85	1
AxSYM CMV IgM (index)	11	2.01	1.63	2.44	0.5
VIDAS CMV IgM (index)	32	1.35	1.21	1.57	0.90
Liaison CMV IgM (AU/mL)	20	79.9	69.7	102.0	30
Modular CMV IgM (index)	5	4.43	4.25	4.72	1.0
Immulite CMV IgM (index)	7	2.35	2.26	3.00	1.1

L'avidité

44 laboratoires ont obtenu une avidité faible, 10 laboratoires une avidité intermédiaire et 1 laboratoire a répondu « élevé » (avec comme résultat quantitatif: ratio = 9).

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat). Ils sont présentés dans le tableau 6.2.7. Pour la simplicité des calculs, tous les résultats ont été recalculés en % (autant que possible).

Tableau 6.2.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour l'avidité de CMV pour l'échantillon S/9685 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires pairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%)				
Interprétation "faible"	29	24	12	31
Interprétation "intermédiaire"	8	24	20	31
Liaison CMV IgG avidity (%) ¹	13	15	8	22

¹ Le laboratoire ayant obtenu une avidité de 22% a répondu « intermédiaire »; tous les autres laboratoires ont répondu « faible ».

6.2.4.2 Laboratoires impairs

Anticorps totaux

Le laboratoire ayant effectué ce test a obtenu un résultat positif.

IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif (les laboratoires ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques).

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.2.8.

Tableau 6.2.8. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps anti-CMV IgG pour l'échantillon S/9685 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires impairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect CMV IgG (AU/mL)	17	34.8	23.1	71.5	6
AxSYM CMV IgG (AU/mL)	11	74.0	49.4	117.7	15
VIDAS CMV IgG (AU/mL)	18	16	13	20	6
Liaison CMV IgG (IU/ml) ¹	14	2.8	1.9	3.6	0.6
Immulate CMV IgG (index)	5	3.96	2.31	4.31	1.1

¹ En outre 1 laboratoire a répondu 60 IU/mL

IgM

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif (les laboratoires ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques).

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.2.9.

Tableau 6.2.9. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps anti-CMV IgM pour l'échantillon S/9685 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires impairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect CMV IgM (index)	15	10.13	6.40	11.62	1
AxSYM CMV IgM (index)	9	5.70	3.75	6.36	0.5
VIDAS CMV IgM (index)	20	2.41	2.29	2.55	0.90
Liaison CMV IgM (AU/mL) ¹	11	190	112	240	30
Immulate CMV IgM (index)	5	6.94	5.60	7.14	1.1

¹ En outre 5 laboratoires ont répondu >240 AU/mL.

L'avidité

28 laboratoires ont obtenu une avidité faible et 1 laboratoire a répondu « élevé » (avec comme résultat quantitatif: index = 1.05).

Pour la trousse la plus utilisée (VIDAS) nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat). Ils sont présentés dans le tableau 6.2.10. Pour la simplicité des calculs, tous les résultats ont été recalculés en % (autant que possible).

Tableau 6.2.10. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour l'avidité de CMV pour l'échantillon S/9685 pour l'appareil VIDAS (laboratoires impairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%)	20	9.0	7.3	15.0

6.3. EBV

6.3.1. Information concernant l'échantillon envoyé

Nous référons au chapitre 6.2.1. pour la description de l'échantillon.

Les résultats attendus pour l'EBV étaient :

Laboratoires pairs: Ac. hétérophiles : négatif
IgG (totaux, VCA, EBNA): positif
IgM (totaux, VCA): négatif

Laboratoires impairs: Ac. hétérophiles : négatif
IgG (totaux, VCA, EBNA): positif

6.3.2. Les participants

158 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 490 tests.

En plus trois laboratoires de firme ont effectué ces tests. Ils ont utilisé les trousse suivantes :

- recomLine EBV IgG et recomLine EBV IgM (Mikrogen, distributeur Euribel)
- Liaison VCA IgG, Liaison EBV IgM, Liaison EBNA IgG et Liaison EA IgG (DiaSorin)
- Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa, Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa, Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa Epstein Barr virus, early antigen (EBV-EA) IgG Elisa et Epstein Barr virus early antigen (EBV-EA) IgM Elisa (Euroimmun, distributeur Biognost)

Les 92 laboratoires pairs ont effectué 285 tests (56 Ac. hétérophiles, 10 IgG totaux, 11 IgM totaux, 62 VCA IgG, 11 VCA-EA IgG, 78 VCA IgM, 47 EBNA IgG, 9 EA IgG et 1 EA IgM).

Les 66 laboratoires impairs ont effectué 205 tests (42 Ac. hétérophiles, 6 IgG totaux, 6 IgM totaux, 42 VCA IgG, 6 VCA-EA IgG, 58 VCA IgM, 38 EBNA IgG, 6 EA IgG et 1 EA IgM).

Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 6.3.1.

Remarque: quelques techniques permettent de déterminer plusieurs paramètres en même temps et de les rapporter séparément; il s'agit des trousse RecomLine EBV IgG (qui permet de déterminer VCA IgG, EBNA IgG et EA IgG), Tru EBV G (qui permet de déterminer VCA IgG et EBNA IgG), 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 le tableau mentionné ci-dessus (et dans les tableaux suivants) à chaque fois pour les différents paramètres.

Les trousse Enzygnost anti-EBV IgG et IgM kits par contre donnent une appréciation globale des IgG et des IgM respectivement. La trousse VIDAS VCA-EA IgG donne une appréciation globale de ces 2 paramètres sans les distinguer.

Tableau 6.3.1. Combinaisons des tests effectués par les participants

Nombre de tests	Paramètre	Laboratoires pairs	Laboratoires impairs	
1 test	Ac. hétérophiles	4	1	
	EBNA IgG	1	1	
2 tests	Ac. hétérophiles + VCA IgM	1	-	
	VCA IgG + VCA IgM	13	12	
	VCA-EA IgG + VCA IgM	2	-	
	EBNA IgG + VCA IgM	1	3	
	IgG totaux + IgM totaux	1	2	
3 tests	Ac. hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM	14	7	
	Ac. hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM	2	2	
	Ac. hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux	6	3	
	Ac. hétérophiles + EBNA IgG + VCA IgM	2	6	
	Ac. hétérophiles + EBNA IgG + EA IgM	1	1	
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	8	4	
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	3	2	
	IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	1	-	
	4 tests	Ac. hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	17	12
		Ac. hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	2	2
Ac. hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG		1	1	
Ac. hétérophiles + VCA IgG + 2 VCA IgM		-	1	
Ac. hétérophiles + VCA-EA IgG + 2 VCA IgM		1	-	
2 Ac. hétérophiles + VCA IgM + EBNA IgG		1	-	
VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG		4	-	
VCA-EA IgG + VCA IgG + 2 VCA IgM		1	-	
5 tests		Ac. hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	3	6
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG + EA IgM	1	-	
	IgG totaux + IgM totaux + VCA IgG + EBNA IgG + EA IgG	1	-	
Total		92	66	

6.3.3. Réactifs utilisés

6.3.3.1. Anticorps hétérophiles

Tableau 6.3.3. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps hétérophiles

Fabricant	Trousse	S/9685
Biokit	Monogen	10
Dipromed (distributeur International Medical)	Mononucleosis (Qualitative Rapid Test)	1
Fumouze	MNI-test Mononucleose	5
Immunotics (distributeur BMD)	Monocol	2
Inverness Medical	Clearview IM	49
Meridian	Monospot	3
	Monospot Latex	5
Microgen	Infectious Mononucleosis Screening Reagent	2
Omega Diagnostics	Avitex IM	2
Oxoïd	Infectious Mononucleosis Test	2
	Dryspot I.M. Kit	2
Plasmatec (distributeur Forlab)	IM Latex test kit	1
Servibio (distributeur Biognost)	Servitex MNI	4
Spinreact (distributeur Lameris)	IM Latex	1
Stanbio	Rapet IM	8
Non précisé	Non précisé	1
Total		98

6.3.3.2. IgG

Les 16 déterminations des IgG totaux ont été effectuées avec la trousse Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens).

Les 17 déterminations des VCA-EA IgG ont été effectuées avec la trousse VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux).

Tableau 6.3.3. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps VCA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	S/9685
bioMérieux	Vironostika EBV-VCA IgG	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgG Elisa	2
DiaSorin	Liaison VCA IgG	49
	ETI-VCA-G	1
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr VCA IgG	6
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa	17
Focus	EBV VCA IgG IFA	1
Genbio (distributeur BMD)	EBV VCA IgG-EIA	2
	Immuno Dot Mono-G	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgG	7
	Premier EBV VCA IgG	2
	Tru EBV G	1
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomLine EBV IgG	1
Novatec (distributeur BMD)	Epstein Barr Virus (VCA) IgG ELISA	3
Serion	EBV VCA IgG	1
Siemens	Immulite EBV VCA IgG	7
	Novagnost anti EBV IgG	2
Total		104

Tableau 6.3.4. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps EBNA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	S/9685
bioMérieux	VIDAS EBV EBNA IgG	14
	Vironostika EBV-EBNA IgG	1
Biotest	Anti-EBV EBNA IgG Elisa	5
DiaSorin	Liaison EBNA IgG	35
	ETI-EBNA-G	2
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr EBNA IgG	4
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa	9
	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA) IgG IFA	1
Genbio (distributeur BMD)	EBNA-1 IgG EIA	3
	Immuno Dot Mono-G	1
Meridian	Tru EBV G	1
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomLine EBV IgG	1
Novatec (distributeur BMD)	EBV EBNA IgG ELISA	1
Siemens	Immulite EBV EBNA IgG	3
	Novagnost EBV EBNA IgG	3
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus (EBNA-1) IgG	1
Total		85

Tableau 6.3.5. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps EA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	S/9685
DiaSorin	Liaison EA IgG	11
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr EA IgG	1
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus early antigen (EBV-EA) IgG Elisa	2
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomLine EBV IgG	1
Total		15

6.3.3.3. IgM

Les 17 déterminations des IgM totaux ont été effectuées avec la trousse Enzygnost anti-EBV IgM II (Siemens).

Tableau 6.3.6. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps VCA anti-EBV IgM

Fabricant	Trousse	S/9685
bioMérieux	VIDAS EBV VCA IgM	18
	Vironostika EBV-VCA IgM	1
Biotest	Anti-EBV VCA IgM Elisa	3
DiaSorin	Liaison EBV IgM	50
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr VCA IgM	6
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa	20
	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM IFA	1
Focus (distributeur Forlab)	EBV VCA IgM RIFA	3
Genbio (distributeur BMD)	EBV VCA IgM-EIA	4
	Immuno Dot Mono-M	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgM	9
	Premier EBV VCA IgM	3
	Tru EBV M	1
Novatec (distributeur BMD)	Epstein Barr Virus (VCA) IgM ELISA	4
Serion	EBV VCA IgM	1
Siemens	Immulite EBV VCA IgM	8
	Novagnost anti EBV IgM	2
Trinity	CAPTIA Epstein Barr Virus VCA IgM	1
Total		136

Les déterminations des EA IgM ont été effectuées avec les troupes Anti-EBV EA IgM Elisa (Biotest) et Chorus Epstein Barr EA IgM (Diesse, distributeur International Medical).

6.3.4. Résultats

6.3.4.1. Laboratoires pairs

Anticorps hétérophiles

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif (le laboratoire ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes a obtenu des résultats négatifs avec ces 2 techniques).

IgG

IgG totaux

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.
Un aperçu des résultats quantitatifs est repris dans le tableau 6.3.7.

Tableau 6.3.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Enzygnost anti-EBV IgG pour les laboratoires pairs; les résultats sont exprimés en U/mL.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Enzygnost anti-EBV IgG	10	305	248	454	*

* Le cutoff de la trousse Enzygnost EBV IgG est de 0.200 en valeur DO. Pour chaque nouveau lot d'Enzygnost EBV IgG, une « mastercurve », caractérisée par ses propres valeurs Alpha et Bêta, est déterminée à l'aide d'une trentaine de courbes de titration. En outre, un contrôle positif est lu sur la courbe dans l'unité de production à Marburg et mentionné dans l'insert de la trousse. Sur les plateformes BEP 2000 (processeur ELISA) et BEP III, ces valeurs spécifiques sont introduites dans le système de management du lot et les densités optiques sont calculées en U/mL à l'aide de la formule: $\text{LOG Titre} = \text{Alpha} \times (\text{DO corrigée})^{\text{Bêta}}$. Etant donné que la « mastercurve » peut différer d'un lot à un autre, l'insert ne reprend pas de valeur cutoff en U/mL. L'évaluation clinique est basé sur une valeur de DO de 0.200 (il n'y a pas de zone grise). Pour 2 lots récents (38844 et 39145) les valeurs U/mL correspondant au cutoff (0.200 DO) ont été calculées. Ces valeurs cutoffs sont proches mais pas identiques: pour le lot 38844: cutoff= 47 U/mL et pour le lot 39148 cutoff: 50 U/mL.

VCA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Pour 2 trousse avec un nombre suffisant de participants nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ces résultats sont repris dans le tableau 6.3.8.

Pour la trousse EBV-CA IgG Elisa (Euroimmun) les résultats quantitatifs ont été mentionnés en différentes unités ; les autres trousse n'avaient pas assez de participants pour un calcul statistique pertinent.

Tableau 6.3.8. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les trousse les plus utilisées pour les VCA IgG pour l'échantillon S/9685 pour les laboratoires pairs.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Liaison VCA IgG (AU/mL) ¹	30	190.5	128.0	254.0	20.0
Immulate EBV VCA IgG (ratio)	4	31.8	30.6	38.2	1.1

¹ En outre 1 laboratoire a répondu 910 AU/mL.

VCA-EA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.
Un aperçu des résultats quantitatifs est repris dans le tableau 6.3.9.

Tableau 6.3.9. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse VIDAS EBV VCA/EA IgG pour les laboratoires pairs; les résultats sont exprimés en index.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
VIDAS EBV VCA/EA IgG	9	2.75	2.19	2.99	0.21

EBNA IgG

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

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.3.10.

Tableau 6.3.10. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les EBNA IgG pour l'échantillon S/9685 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires pairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
VIDAS EBV EBNA IgG (index)	9	6.48	5.93	8.62	0.21
Liaison EBNA IgG (U/mL) ¹	19	283	192	347	20

¹ En outre 1 laboratoire a répondu 1365 U/mL.

EA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

IgM

IgM totaux

Tous les laboratoires qui ont effectué ce test ont obtenu un résultat négatif.

VCA IgM

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.3.11. Un laboratoire a obtenu des résultats différents pour les trousse qu'il a utilisées; un autre a obtenu un résultat négatif avec les 2 techniques qu'il a utilisées.

Tableau 6.3.11. Résultats des VCA IgM pour les laboratoires pairs.

Résultat	N labos
Négatif	60
Positif	12
Borderline	3
Positif/Négatif	1
Total	76

EA IgM

Le laboratoire ayant effectué ce test a obtenu un résultat positif.

6.3.4.2. Laboratoires impairs

Anticorps hétérophiles

41 laboratoires ont obtenu un résultat négatif ; un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

IgG

IgG totaux

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat.

Un aperçu des résultats quantitatifs est présenté dans le tableau 6.3.12.

Tableau 6.3.12. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Enzygnost anti-EBV IgG pour les laboratoires impairs; les résultats sont exprimés en U/ml.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Enzygnost anti-EBV IgG	6	359	314	404	*

* Voir l'explication sous le tableau 6.3.7.

VCA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Pour 1 trousse avec un nombre suffisant de participants nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ces résultats sont repris dans le tableau 6.3.13.

Pour la trousse EBV-CA IgG Elisa (Euroimmun) les résultats quantitatifs ont été mentionnés en différentes unités ; les autres trousse n'avaient pas assez de participants pour un calcul statistique pertinent.

Tableau 6.3.13. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Liaison VCA IgG pour les laboratoires impairs; les résultats sont exprimés en U/mL.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Liaison VCA IgG (AU/mL)	19	168	127	207	20

VCA-EA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Un aperçu des résultats quantitatifs est repris dans le tableau 6.3.14.

Tableau 6.3.14. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse VIDAS EBV VCA/EA IgG pour les laboratoires impairs; les résultats sont exprimés en index.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
VIDAS EBV VCA/EA IgG	4	2.06	1.84	2.16	0.21

EBNA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.3.15.

Pour la trousse Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa (Euroimmun) les résultats quantitatifs ont été mentionnés en différentes unités ; les autres trousse n'avaient pas assez de participants pour un calcul statistique pertinent.

Tableau 6.3.15. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les EBNA IgG pour l'échantillon S/9685 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires impairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
VIDAS EBV EBNA IgG (index)	4	9.41	8.12	9.89	0.21
Liaison EBNA IgG (U/mL)	15	195	172	233	20

EA IgG

Trois laboratoires ont obtenu un résultat positif, deux un résultat borderline et un laboratoire un résultat négatif.

IgM

IgM totaux

Tous les laboratoires qui ont effectué ce test ont obtenu un résultat négatif.

VCA IgM

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.3.16. Un laboratoire a obtenu des résultats différents pour les trousse qu'il a utilisées.

Tableau 6.3.16. Résultats des VCA IgM pour les laboratoires impairs.

Résultat	N labos
Négatif	27
Positif	25
Borderline	4
Positif/Négatif	1
Total	57

EA IgM

Le laboratoire ayant effectué ce test a obtenu un résultat positif.

6.4 Interprétations pour le CMV et EBV S/9685

A l'occasion de cette enquête nous vous avons demandé d'interpréter le CMV et l'EBV ensemble.

Des propositions d'interprétation adaptées étaient prévues pour les laboratoires qui n'effectuent qu'un des 2 paramètres.

171 laboratoires ont effectué les tests de la sérologie de l'EBV et/ou du CMV: 155 laboratoires les 2 sérologies, 3 laboratoires uniquement la sérologie de l'EBV et 13 laboratoires uniquement la sérologie de l'HCV.

168 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse des interprétations:

- 151 laboratoires (88 pairs et 63 impairs) ont renvoyé une interprétation combinée pour les 2
- 16 laboratoires (8 pairs et 8 impairs) ont renvoyé leur interprétation pour le CMV : les 13 laboratoires n'effectuant que la sérologie du CMV et 3 laboratoires qui ont effectué la sérologie du CMV et déterminé les anticorps hétérophiles
- 1 laboratoire (impair) a renvoyé son interprétation pour l'EBV (un des laboratoires n'effectuant que la sérologie de l'EBV)
- 3 laboratoires n'ont renvoyé leur interprétation: deux laboratoires qui n'ont déterminé que les anticorps hétérophiles et un laboratoire effectuant la sérologie de l'EBV et du CMV

6.4.1 Laboratoires pairs

6.4.1.1 Les laboratoires qui n'ont répondu que l'interprétation du CMV

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

Tableau 6.4.1. Interprétation par les laboratoires pairs (CMV seul).

Interprétation	N labos
Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire par:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 17 a + b)	2
Tests supplémentaires (code 17 a)	3
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV (code 16)	2
Est considéré comme donneur CMV-positif dans le contexte d'une banque de sang ¹	1
Total	8

¹Réponse fournie par une banque de sang

Tableau 6.4.2. présente l'aperçu des tests supplémentaires proposés par les laboratoires

Tableau 6.4.2. Tests supplémentaires proposés par les laboratoires pairs pour le code 17

Test supplémentaire	N labos
CMV IgG avidité	2
CMV IgG avidité + PCR	1
Sérologie EBV	1
Autres marqueurs, autres méthodes	1
Total	5

6.4.1.2. Les laboratoires qui ont répondu l'interprétation du CMV et de l'EBV

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation "Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV". Un nombre non sans importance de laboratoires ont choisi « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ; sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire ». D'autres laboratoires ont proposé des interprétations différentes.

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.3.:

Tableau 6.4.3. Interprétation par les laboratoires pairs (CMV + EBV).

Interprétation	N labos
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV (code 3).	56
Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ; sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire par:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 11 a + b)	2
Tests supplémentaires (code 11 a)	12
Un nouveau prélèvement (code 11 b)	8
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et sérologie positive dans l'essai IgM pour EBV; afin d'exclure une infection primaire par EBV une confirmation est nécessaire par:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 2 a + b)	1
Tests supplémentaires (code 2 a)	2
Un nouveau prélèvement (code 2 b)	2
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:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 1 a + b)	1
Tests supplémentaires (code 1a)	2
Sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV et sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire par :	
Tests supplémentaires (code 5a)	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV; sérologie négative pour EBV (code 4).	1
Total	88

Tableau 6.4.4. présente l'aperçu des tests supplémentaires proposés par les laboratoires ayant répondu le code 11a.

Tableau 6.4.2. Tests supplémentaires proposés par les laboratoires pairs pour le code 11a

Test supplémentaire	N labos
CMV IgG avidité	12
CMV IgG avidité + culture des urines pour CMV	2
Total	14

Les laboratoires ayant répondu le code 2a, ont proposé les tests suivants:

- EBV EA IgG + IgM et EBNA IgG
- CMV IgG avidité et EBV EA
- PCR pour CMV et EBV, sang EDTA pour EBV, culture des urines pour CMV

Les laboratoires ayant répondu le code 1a ont proposé les tests suivants:

- EBV EA IgG + IgM et EBNA IgG + IgM (il s'agit du laboratoire qui a également proposé - un nouveau prélèvement; il a également fourni la remarque: « CMV IgG avidité = inconclusif pour le moment »)
- CMV IgG avidité
- EBV EBNA + EA

Le laboratoire ayant répondu le code 5a a proposé le test suivant:

- CMV IgG avidité

6.4.2. Laboratoires impairs

6.4.2.1. Les laboratoires qui n'ont répondu que l'interprétation du CMV

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.5.:

Tableau 6.4.5. Interprétation par les laboratoires impairs (CMV seul).

Interprétation	N labos
Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire par:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 17 a + b)	1
Tests supplémentaires (code 17 a)	1
Un nouveau prélèvement (code 17 b)	1
Le labo n'a précisé comment la confirmation doit être effectuée	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV (code 16)	2
Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV	1
Pas de résultat IgM -> interprétation impossible 1	1
Total	8

[†] Réponse fournie par une banque de sang

Les 2 laboratoires ayant proposé des tests supplémentaires, ont conseillé d'effectuer le test d'avidité IgG anti-CMV.

6.4.2.2. Le laboratoire qui n'a répondu que l'interprétation de l'EBV

Ce laboratoire a donné l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV » (code 22).

6.4.2.3. Les laboratoires qui ont répondu l'interprétation du CMV et de l'EBV

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation "Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV". Un nombre non sans importance de laboratoires ont choisi « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ; sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire ». D'autres laboratoires ont proposé des interprétations différentes.

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.6.:

Tableau 6.4.6. Interprétation par les laboratoires impairs (CMV + EBV).

Interprétation	N labos
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV (code 3).	32
Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ; sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire par:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 11 a + b)	7
Tests supplémentaires (code 11 a)	6
Un nouveau prélèvement (code 11 b)	2
Le labo n'a précisé comment la confirmation doit être effectuée	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et sérologie positive dans l'essai IgM pour EBV; afin d'exclure une infection primaire par EBV une confirmation est nécessaire par:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 2 a + b)	4
Tests supplémentaires (code 2 a)	3
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:	
Tests supplémentaires et un nouveau prélèvement (code 1a + b)	2
Un nouveau prélèvement (code 1 b)	1
Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV et d'une infection ancienne par EBV. (code 10).	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV (code 3); éventuellement prélever un échantillon de suivi (évolution des titres) ou déterminer l'avidité (en cas de grossesse ou s'il y a un souhait de grossesse).	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV (code 3); envoi si la patiente est enceinte.	1
Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ; sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire par tests supplémentaires (code 1a), à savoir EBNA dot-blot, virémie CMV, CMV IgG avidité. Mais réaction faux positive dans les IgM CMV et/ou EBV IgM car RA-test ++	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV (Test IgM fortement positif et confirmé en méthode Vidas).	1
Interférence probable au niveau du test EBV IgM très légèrement positif. Paul et Bunnel négatif. Un second prélèvement 3 semaines après serait souhaitable afin de montrer un accroissement significatif du taux des IgG. NB : un test d'avidité CMV IgG n'est réalisé chez nous que dans le contexte d'une femme enceinte.	
Total	63

Tableau 6.4.7. présente l'aperçu des tests supplémentaires proposés par les laboratoires ayant répondu le code 11a.

Tableau 6.4.7. Tests supplémentaires proposés par les laboratoires impairs pour le code 11a

Test supplémentaire	N labos
CMV IgG avidité	9
CMV IgG avidité + culture des urines pour CMV	1
CMV IgG avidité + CMV PCR	1
CMV IgG avidité si femme enceinte	1
CMV IgG avidité, transaminases, CRP, COFO	1
Total	13

Tableau 6.4.8. présente l'aperçu des tests supplémentaires proposés par les laboratoires ayant répondu le code 2a.

Tableau 6.4.8. Tests supplémentaires proposés par les laboratoires impairs pour le code 2a

Test supplémentaire	N labos
EBV EBNA IgG ¹	3
CMV IgG avidité	2
CMV IgG avidité + EBV EBNA IgG	1
EBV EBNA + EA	1
Total	7

¹ Un de ces laboratoires a proposé comme alternatif: « ou suivi des CMV IgG et EBV IgG après 2-3 semaines »

Les laboratoires ayant répondu le code 1a ont proposé les tests suivants:

- EBV EBNA + CMV IgG avidité
- EBV EBNA + EA

6.5. Commentaire CMV/EBV

Arrière-plan:

L'interprétation de la sérologie des virus herpétiques est en général compliquée par l'augmentation des IgG vis-à-vis des virus hétérologues. Ce fait est bien connu pour les infections par varicella-zoster et herpes simplex ; les titres élevés des IgG anti-HHV-6 (herpès virus humain 6, Human HerpesVirus 6) sont également retrouvés lors des infections par d'autres virus herpétiques. Lors des infections par l'Epstein-Barr virus (EBV) et le cytomegalovirus (CMV) on retrouve souvent des concentrations d'IgM à des niveaux mesurables contre les 2 virus. Ces réactivités peuvent être dues à de vrais anticorps de réactions croisées, réactivation du virus hétérologue, stimulation sélective des cellules mémoires de type B par des anticorps apparentés, ou une stimulation polyclonale des cellules B par l'infection virale (1).

EBV (HHV-4)

L'interprétation des différents paramètres sérologiques devrait permettre une détermination spécifique du stade d'une infection par EBV. La réponse humorale à une infection par EBV consiste en un spectre de réponses d'anticorps caractéristiques contre les antigènes viraux spécifiques.

Les anticorps hétérophiles ont une réactivité croisée contre différentes espèces et sont donc loin d'être spécifiques pour l'EBV. Ils résultent typiquement d'une stimulation polyclonale et ne sont donc pas uniquement retrouvés en cas de mononucléose infectieuse. Ils peuvent montrer une coïncidence transitoire avec la présence des anticorps IgM spécifiques anti-EBV. Dix à 50% des enfants < 5 ans ne sont pas capables de produire des anticorps hétérophiles.

Une infection primaire est définie sérologiquement par l'apparition précoce des IgM anti-VCA (Viral Capsid Antigen) circulantes et puis par leur décroissance subséquente à un niveau indétectable. Presque parallèlement il y a une croissance des IgG anti-VCA; ces anticorps persisteront à vie chez des personnes normales. Une infection passée par EBV est caractérisée par l'absence des IgM anti-VCA et la présence des IgG anti-VCA et anti-EBNA (Epstein Barr Nuclear Antigen).

Les IgG anti-Early Antigen-D (composant diffuse EA) sont développés transitoirement chez environ 80% des personnes infectées. Les IgG anti-EBNA (EBV-determined nuclear antigen) sont absents lors de l'infection aiguë. Ils ne sont produits qu'après des semaines voire des mois. Les anti-EA-R (composant restreint EA) sont rarement présents dans la phase précoce d'une mononucléose infectieuse, mais ils apparaissent transitoirement dans la phase tardive de convalescence et dans certaines infections primaires silencieuses lors de l'enfance ou dans des cas plus chroniques d'infections par EBV telles que le lymphome de Burkitt.

Chez les personnes immunocompétentes, le problème clef du diagnostic de l'EBV est la détection ou l'exclusion d'une infection primaire ou passée, ou l'absence d'anticorps spécifiques pour l'EBV correspondant à une susceptibilité pour l'EBV. La sérologie prévoit à ce sujet des critères rationnels pour une interprétation state-of-the-art (Tableau 1), même si les marqueurs sérologiques de l'EBV ont un grand degré de variabilité. Chez la plupart des personnes immunocompétentes il n'y a que 3 paramètres sérologiques qui sont essentiels dans la détection d'anticorps spécifiques à l'EBV: VCA-immunoglobuline G (IgG), VCA IgM et EBNA-1 IgG (2,3). La présence des anticorps EBNA-1 exclut définitivement une infection primaire récente. Il est à noter que toutes les personnes ne produisent pas d'anticorps EBNA-1 IgG (même si la plupart en produisent), et certains groupes de chercheurs ont démontré que 30% des patients peuvent rester séronégatifs jusque 6 mois après la phase aiguë (4). En plus les EBNA-1

IgG peuvent être perdus secondairement dans certaines circonstances et donc ne pas persister à vie (6).

Tableau 1.

Table 1. Interpretation of EBV-specific serological profiles for diagnosis					
Atypical lymphocytes	Heterophile antibodies	VCA IgG	VCA IgM	EBNA-1 IgG	Interpretation
-	-	-	-	-	No infection
+/-	+/-	+	+	-	Acute infection
-	-	+	-	+	Past infection
-	-	+	+	+	Past infection most probable
+/-	+/-	+	-	-	Past infection**
-	-	-	+	-	Undetermined*
-	-	-	-	+	Impossible***

*Follow-up serum necessary to evidence seroconversion IgG (early phase infection)

** Additional testing could be useful in specific circumstances, e.g. VCA-IgG avidity testing, Western blotting, or PCR

***Exceptionally when used in combination with an insensitive VCA-IgG test

Au cours de l'infection uniquement les anticorps avec une avidité élevée sont sélectionnés, ce qui permet de mesurer in vitro la maturation in vivo des IgG par la détermination de l'avidité. In vivo les cellules B changent de l'isotype IgM à l'isotype IgG. Les premiers IgG produits ont une faible avidité. Au fil du temps les IgG mûriront par une hypermutation somatique dans la région ADN codant pour les IgG, et les clones des cellules B-produiront finalement des anticorps IgG d'avidité (affinité) relativement plus élevée. Ce processus de maturation a une variabilité interindividuelle, cependant il peut déjà être complet quelques semaines après l'infection primaire par EBV.

Chez les patients immunodéprimés, on déconseille d'effectuer des tests sérologiques pour plusieurs raisons telles que les dysfonctions dans la production et le maintien des anticorps. Les préparations d'immunoglobulines thérapeutiques, le processus dynamique de maladie et la production des anticorps influencent l'interprétation. Jusqu'à ce jour seule la détection de la charge virale par technique PCR est un paramètre établi pour les personnes immunodéprimées (7). Cependant, lié à la pathogenèse des maladies relatives à l'EBV, certains patients répliquent l'EBV même à des titres élevés sans progression de la maladie ; en même temps il existe de (rares) patients où la charge de l'EBV reste en dessous de la limite de détection malgré une maladie relative à l'EBV. A tout ça s'ajoute le problème de la matrice utilisée pour la détection de la charge virale: plasma ou sérum sans cellules ; ou leucocytes.

Un aperçu des possibilités diagnostiques en cas de suspicion clinique d'infection par EBV est présenté dans le *Tableau 2*.

CMV (HHV5)

Le diagnostic d'une infection primaire par CMV est 100% clair et certain en cas d'une séroconversion vis-à-vis du CMV. Les IgM anti-CMV sont un bon indicateur d'une infection aiguë ou récente mais ne sont pas toujours corrélés à une infection primaire. On peut produire des IgM pendant des réactivations ou des réinfections. En outre les IgM peuvent être retrouvés chez certaines personnes 6 à 9 mois après la fin de la phase aiguë d'une infection primaire, les résultats faux positifs sont fréquents et peuvent surgir chez des personnes souffrant d'autres infections virales (parvovirus B19, EBV,...).

Si les IgM anti-CMV sont détecté chez une femme enceinte le diagnostic reste ouvert. Etant donné que la production des IgM anti-CMV ne se fait pas uniquement en cas d'infections primaires mais également en cas de réactivations ou de réinfections, des études récentes indiquent que moins de 10% des femmes, positives en IgM, transmettent congénitalement une infection à leur fœtus ou au nouveau-né (8).

Le test d'avidité anti-CMV IgG est à ce jour la procédure sérologique la plus fiable pour exclure une infection primaire des dernières 12 semaines avant la prise du prélèvement (en cas d'une avidité élevée). Les anticorps produits lors de la première réponse immunitaire possèdent une avidité pour l'antigène beaucoup plus faible que celle des anticorps produits plus tard (cf. EBV). Un indice faible d'avidité indique la présence d'IgG avec une avidité faible, causée par une infection par CMV primaire récente (en général, mais plein d'exceptions cf. infra), tandis que les indices élevés d'avidité (IgG d'avidité élevée) n'ont pas de corrélation avec une infection primaire actuelle ou récente.

La culture virale de CMV (surtout à partir d'échantillons urinaires, alternativement: échantillons salivaires ou écouvillons vaginaux) peut contribuer au diagnostic mais est plus utile pour les infections primaires qu'en cas de réactivation secondaire, mais il ne faut pas oublier le problème de l'excrétion intermittente. Les tests moléculaires sur le liquide amniotique ont également leur apport au diagnostic, mais c'est une autre histoire. Chez les patients immunodéprimés, il faut également utiliser les analyses moléculaires pour la détection (détection de la réactivation déjà chez les patients asymptomatiques afin de pouvoir cibler la thérapie le plus vite possible) et le suivi des virus herpétiques (guider la thérapie à l'aide des charges virales consécutives, dont la fréquence varie faiblement dépendant de la population de patients de 2 fois/semaine à 1 fois/2 semaines).

Discussion des résultats

EBV

LABORATOIRES PAIRS

Les laboratoires pairs ont reçu un échantillon de sérum correspondant à une infection ancienne et les résultats obtenus sont dans la ligne de ce que nous attendions. Comme on pouvait s'y attendre, personne n'a détecté d'anticorps hétérophiles. Tous les laboratoires ont détecté aussi bien les IgG totaux, les IgG VCA que les IgG VCA-EA. Les résultats, qui sont présentés pour la plupart des trousse dans le tableau 6.3.4.1., étaient clairement situés au-dessus du cut-off de positivité. Il y avait une uniformité (presque complète) en ce qui concerne les réponses pour les anticorps IgG, mise à part le fait que deux laboratoires ont mentionné un résultat négatif pour les IgG EBNA. Il peut s'agir d'un problème technique (par exemple pipetage inefficace de l'échantillon) ou d'un test ELISA pour les IgG EBNA qui est moins sensible, où la limite de détection est un peu élevée.

Les résultats pour les IgM totaux étaient satisfaisants.

Dans la détection des IgM VCA par contre, on peut retrouver un certain nombre de discordances. Ces trousse sont plus sensibles aux réactions croisées chez certaines firmes que chez d'autres (et donc la spécificité manque parfois). 12 laboratoires ont obtenu un résultat positif et ce principalement avec des trousse EIA (10/12 vis-à-vis 2/12 avec IFA) dont 8 ont été obtenus avec la trousse Epstein Barr virus capsid antigen (EBC-CA) IgM (Euroimmun), qui a également fourni 2 résultats "Borderline" (2/3). Ces IgM VCA "aspécifiques" pourraient éventuellement influencer l'interprétation, mais en

insistant sur les anticorps EBNA-1 IgG dans la conclusion finale cette présence des VCA-IgM ne devrait pas avoir trop d'influence sur l'exactitude de l'interprétation.

LABORATOIRES IMPAIRS

Pour cet échantillon nous remarquons également des résultats cohérents (négatifs) pour les anticorps hétérophiles et également des résultats cohérents (positifs) pour toutes les déterminations des IgG, aussi bien les IgG totaux, VCA, VCA-EA qu'EBNA, à l'exception des IgG EA. En plus il s'agissait dans tous les cas de résultats très positifs, situés nettement au dessus du cut-off.

La détermination des IgM totaux a été effectuée par 17 laboratoires avec la même trousse de Siemens (Enzygnost anti-EBV IgM II kit). Ce test de dépistage a donné dans tous les cas des résultats clairement négatifs; il est bien connu que cette trousse est peu sensible aux réactions croisées, ni aux réactivations, mais qu'elle est par contre très sensible et spécifique pour les infections primaires par EBV.

Si nous évaluons les résultats des tests d'IgM VCA nous observons une grande variation de réponses et les laboratoires sont également distribués dans des groupes positif (25 résultats sur 58) et négatif (27/58), en plus il y a six résultats borderline. Ces observations confirment les résultats du même sérum envoyé lors des enquêtes 2003/1 et 2005/3. A cette époque il y avait 346 résultats positifs, 4 négatifs et 1 douteux parmi les 351 tests d'IgG VCA ou IgG totaux effectués; tous les IgG EBNA étaient positifs et les IgM étaient également distribués entre négatif et positif avec une légère prépondérance (ca.56%) des résultats négatifs. Donc il y a également dans ce groupe de tests commerciaux un nombre important de kits qui sont soit un peu plus ou soit un peu moins sensibles aux réactivations/réinfections, mais cliniquement cela n'induit pas des grands problèmes (voir Discussion de l'interprétation des résultats).

Plusieurs études ont démontré des différences importantes entre les méthodes d'analyse sérologique pour les anticorps spécifiques à l'EBV (4, 5). Entre autres *Rea et al.* ont constaté que les IgM VCA persistants peuvent être détecté pendant une période plus longue lors du suivi des patients après (ré-) infection si on utilise des tests ELISA (et moins longtemps en utilisant des tests IFA) et qu'une détection plus précoce des IgG EBNA est possible par IFA (que par ELISA).

Mais étant donné que dans le cas de l'échantillon envoyé dans l'EEQ il ne s'agissait pas d'infection primaire par EBV, les IgM ne devaient pas être positifs. Quand on interprète une sérologie d'EBV, il faut toujours faire prévaloir les IgG EBNA aux IgM VCA.

CMV

Les résultats des IgG et IgM anti-CMV obtenus étaient très réconfortants aussi bien pour les laboratoires pairs que pour les laboratoires impairs. Les résultats positifs étaient toujours situés nettement au dessus du cut-off. Un fait plutôt inquiétant est que dans les 2 groupes il y avait un laboratoire qui a répondu une avidité élevée, ce qui changera l'interprétation et pourrait aboutir à un schéma diagnostique fautif. En outre nous remarquons que 10 laboratoires pairs ont répondu une avidité intermédiaire. Les tests d'avidité ne sont pas difficiles à effectuer en pratique, mais il faut rester attentif pour le calcul manuel. Dans un laboratoire clinique avec une routine importante, on ne peut pas exclure qu'un technicien fortement sollicité se trompe dans ce calcul; il est donc conseillé d'effectuer un contrôle par une deuxième personne avant d'introduire l'indice obtenu dans le LIS, ou un meilleur alternatif serait l'utilisation des feuilles de calcul standards afin d'éviter des erreurs humaines. Ce problème disparaît également en utilisant des déterminations de l'avidité totalement automatisées (p.e. Architect, Abbott).

En plus il existe une importante variabilité interindividuelle en ce qui concerne la maturation des IgG au cours du temps. Il se peut donc que certains patients ont des IgG anti-CMV avec une avidité élevée après 3 mois, tandis que d'autres patients ne développent une avidité élevée qu'après 9 mois. Et comme toujours en médecine, il existe des exceptions: une petite minorité ne développera pas d'anticorps avec avidité élevée. Le pourcentage de la population générale qui développera des anticorps avec avidité élevée dépend d'un côté des tests de laboratoire utilisés et de l'autre côté du cut-off fixé.

Discussion de l'interprétation de CMV et/ou EBV

Dans cette EEQ, il s'agissait aussi bien pour les laboratoires pairs que pour les laboratoires impairs d'un sérum suggestif d'une infection récente primaire à CMV (ou moins probable d'une réinfection ou réactivation secondaire sans maturations des IgG, c.à.d. avec une avidité basse).

Pour l'EBV par contre il s'agissait pour les laboratoires pairs clairement d'une infection passée. Pour les laboratoires impairs il s'agissait probablement également d'une infection ancienne vu les EBNA-1 IgG positifs. Ici nous avons par contre remarqué une variation plus ample des résultats et il pourrait concerner possiblement d'une réactivation secondaire, dont l'intérêt clinique dans un groupe des patients immunocompétents est négligable. Tous les kits commerciaux ne détectent pas les réactivations avec la même efficacité et ce fait est clairement visible dans cet EEQ, mais pour le patient même cela ne changera pas grand chose et les conséquences cliniques sont inexistantes.

La plupart des laboratoires ont donné une interprétation acceptable des analyses de sérologie; beaucoup d'entre eux ont mentionné la nécessité d'effectuer des tests complémentaires.

Le profil sérologique est toujours à interpréter en considérant tous les paramètres obtenus ensemble afin d'obtenir une conclusion finale, et donc on ne devrait jamais se fixer sur un paramètre isolé. Un aspect important de cette EEQ est le rôle du biologiste clinique dans la limitation de la surconsommation (où certains tests, parfois plus coûteux, devraient être limités à des groupes de risque spécifiques) et le rôle de conseiller qu'il peut avoir vis-à-vis du demandeur concernant une interprétation adéquate. Les tests d'avidité par exemple doivent être réservés pour les femmes enceintes et les patients à haut risque chez qui une infection aiguë peut avoir des conséquences négatives, par exemple les patients cancéreux avant le début de la chimiothérapie d'induction.

Tableau 2.

Méthodes diagnostiques pour la détection de l'EBV			
Méthode		Analyte, antigène, ou substrat	Commentaire
Sérologie			
IFA		Lignes de cellules e.a. P3HR-1 et Raji	Méthode classique; golden standard; hautement spécifique. Possibilité de déterminer le stade de l'infection par EBV avec un seul échantillon de sérum.
Fixation de complément		Lysat de lignée de cellules transformée par EBV	Moins sensible, moins spécifique, pas très répandu Impossible de déterminer le stade de l'infection par EBV avec un seul échantillon de sérum.
EIA, ELISA, CLIA		Lysat de lignée de cellules transformée par EBV; lysat d'EBV; combinaison de lysat et protéines recombinantes	Rapide, ultra-sensible, adapté à l'automatisation Les peptides synthétiques sont moins sensibles comme antigène et moins spécifiques (épitopes cryptiques en molécules natives) Possibilité de déterminer le stade avec un seul échantillon de sérum.
Techniques "blot" (e.a. Western blot, line blot test)		Lysat de lignée de cellules transformée par EBV; lysat d'EBV; combinaison de lysat et protéines recombinantes ; protéines recombinantes	Hautement spécifique; souvent utilisé comme test de confirmation. Possibilité de déterminer le stade de l'infection par EBV avec un seul échantillon de sérum.
Avidité des IgG		Titration des anticorps en présence et absence de quantités croissantes d'urée ou autres réactifs chaotropes.	Méthode relativement spécialisée pour la confirmation de résultats "indéterminés" (Tableau.1)
Agglutination hétérophiles	des anticorps	Antigènes Paul-Bunnell; érythrocytes bovins	Moins sensible et peu spécifique; 10-50% des enfants < 5 ans ne produisent pas d'anticorps hétérophiles.
Isolation de virus			
		Lignées de cellules lymphoblastoïdes à partir des lymphocytes du patient	Uniquement effectué dans des laboratoires spécialisés; (4-8 semaines test de longue durée (4-8 semaines avant croissance).
Détection des acides nucléiques			
PCR		Lymphocytes, plasma, sérum,	Méthode de choix en cas de méningo-encéphalite

	liquide céphalorachidien, tissu	associée à l'EBV à partir du LCR; utilisée pour la détection de la charge virale et les réactivations.
Hybridation in situ, PCR in situ	Tissu tumoral; coupes parafinées	Utilisé pour la détection de tumeurs associées à l'EBV

Antigènes virales, immunohistochimie & immunocytologie

	Tissu tumoral; coupes parafinées	Utilisé pour la détection de tumeurs associées à l'EBV
--	----------------------------------	--

Marijke Reynders, Laboratoire Porte de Hal, Bruxelles

References

1. Linde, A et al. 1990. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays with two synthetic peptides of Epstein-Barr virus for diagnosis of infectious mononucleosis. *J Infect Dis.* 161(5):903-9.
2. Gärtner, BC et al. 2003. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference method. *Clin Diagn Lab Immunol.* 10:78-82.
3. Hess, RD. 2004. Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the laboratory Perspective: Still Challenging after 35 Years. *J Clin Microbiol.* 42:3381-87.
4. Rea, TD et al. 2002. A systematic study of Epstein-Barr virus serologic assays following acute infection. *Am J Clin Pathol.* 117:156-161.
5. Gerber, MA et al. 1996. Evaluations of enzyme-linked immunosorbent assay procedure for determining specific Epstein-Barr virus serology and of rapid test kits for diagnosis of infectious mononucleosis. *J Clin Microbiol.* 34:3240-3241.
6. Bauer, G. 2001. Simplicity through complexity: immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology. *Clin Lab.* 47:223-230.
7. Holmes, RD and Sokol RJ. 2002. Epstein-Barr virus post-transplant lymphoproliferative disease. *Pediatr Transplant.* 6:456-464.
8. Lazzarotto, T et al. 2008. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol.* 41:192-197.
9. Revello, MG; Gerna, G. 2002. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus and newborn infant. *Clin Microbiol Rev.* 15:680-715.