

**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**

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2010/01

Microbiologie

Streptococcus agalactiae

Enterococcus faecium

Bordetella bronchiseptica

Non-pathogènes

Vibrio cholerae (EEQ 2009/3)

Parasitologie

Hymenolepis nana

Cryptosporidium parvum

Tests rapides antigène malaria

Sérologie

Rubella

Syphilis

ISP-10/01/Micro/Séro/Para/78

Service Biologie Clinique
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS EN MICRO/SERO/PARA

ISP (secrétariat)	:	02/642.55.21 – FAX : 02/642.56.45
(Dr. VERNELEN K.)	:	02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coordinateur)	:	e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
Pharm. 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
Pharm. 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	:	050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
	:	e-mail : marijke.reynders@azsintjan.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

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm

Table des matières

I. Remarques générales	1
II. Identifications	2
2.1 Culture M/5244 <i>Streptococcus agalactiae</i>	2
2.2 Culture M/8788 <i>Enterococcus faecium</i>	7
2.3 Culture M/9694 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	7
2.4 Culture M/9829 Non pathogènes	9
2.5 Culture M/9259 <i>Vibrio cholerae</i> (addendum 2009/3)	12
2.6 Culture M/7570 <i>S. aureus</i> (remarque 2009/3)	14
III. Résultats des identifications	15
3.1 Culture M/5244 <i>Streptococcus agalactiae</i>	15
3.2 Culture M/8788 <i>Enterococcus faecium</i>	16
3.3 Culture M/9694 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	17
3.4 Culture M/9829 Non pathogènes	18
IV. Antibiogramme	20
4.1 Culture M/5244 <i>Streptococcus agalactiae</i>	20
4.2 Culture M/8788 <i>Enterococcus faecium</i>	27
V. Parasitologie	35
5.1 Les échantillons	35
5.2 Les résultats pour l'échantillon P/7374	36
5.3 Les résultats pour l'échantillon P/9839	37
5.4 Commentaire <i>C. parvum</i>	39
VI. Sérologie	44
6.1 La rubéole	44
6.1.1 Information concernant les échantillons envoyés	44
6.1.2 Les participants	44
6.1.3 Réactifs utilisés	45
6.1.4 Résultats	46
6.1.4.1 Anticorps totaux	46
6.1.4.2 IgG	46
6.1.4.3 Cut-off pour l'immunité (IgG)	48
6.1.4.4 IgM	50
6.1.4.5 Cut-off pour la positivité des IgM	52
6.1.5 Commentaire	54
6.2 Syphilis	56
6.2.1 Information concernant l'échantillon envoyé	56
6.2.2 Les participants	56
6.2.3 Réactifs utilisés	57
6.2.4 Résultats	58
6.2.4.1 Echantillon S/8693	58
6.2.4.1.1. Tests non-tréponémiques	58
6.2.4.1.2. Tests tréponémiques	59
6.2.4.1.3. Interprétations cliniques	61
6.2.4.2 Echantillon S/8684	63
6.2.4.2.1. Tests non-tréponémiques	63
6.2.4.2.2. Tests tréponémiques	64
6.2.4.2.3. Interprétations cliniques	65
6.2.5 Commentaires sur les résultats de l'enquête	66
Echantillon S/8683	66
Echantillon S/8684	67
VII. EEQ tests rapides Malaria 2010	68
7.1 Les échantillons	68
7.2 Les participants	68

7.3 Réactifs utilisés	69
7.4 Résultats	70
Echantillon P/10085	70
Echantillon P/10086	71
Echantillon P/10087	72
7.5 Réponses au questionnaire	73
7.6 Commentaire	79

I. Remarques générales

Pour la 1^e enquête du cycle 2010 (enquête 2010/1), le matériel suivant a été expédié le 11 janvier 2010.

1.1 Trois échantillons lyophilisés et 1 échantillon clinique pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2 Deux suspensions formolées de selles pour la recherche de parasites

1.3 Quatre échantillons de plasma pour la sérologie de la rubéole et de la syphilis.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

- | | |
|--|-----|
| 1. Pour les identifications et antibiogrammes: | 175 |
| 2. Pour la parasitologie: | 189 |
| 3. Pour la sérologie | |
| Rubella: | 163 |
| Syphilis: | 165 |

Nous remercions Marc Lontie 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.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/microbiologie.htm

et puis cliquer sous « Codes » sur « Germes envoyés »

Pour la parasitologie :

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm

et puis cliquer sous « Codes » sur « Parasites déjà envoyés »

Pour la sérologie infectieuse :

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/inf_serologie.htm

et puis cliquer sur « Liste des paramètres évalués »

II. Identifications

2.1 Culture M/5244 *Streptococcus agalactiae* ou streptocoque (β -hémolytique) du groupe B

Nombre de participants = 174

Streptococcus agalactiae est l'espèce désignant les streptocoques appartenant au groupe B de Lancefield (GBS). Son identification ne pose habituellement pas de problème comme le confirment les résultats de cette enquête : la souche a été correctement identifiée par l'ensemble des laboratoires.

Cette espèce a déjà fait l'objet de commentaires publiés dans les rapports des enquêtes 2005/2 et 2008/1 auxquels nous référons en particulier pour les informations détaillées sur les caractéristiques d'identification, les conditions de culture standard ou de culture dans le cadre d'un dépistage de colonisation recto-vaginale, les mécanismes de résistance aux macrolides et sur leur signification clinique.

Pour rappel :

Les GBS sont des bactéries commensales du tractus intestinal (réservoir principal) et du tractus génital. Mais GBS représente aussi la première cause d'infection bactérienne sévère chez le nouveau-né et il peut aussi être responsable d'infections invasives chez l'adulte pendant ou en dehors de la grossesse (1-4). La colonisation vaginale est habituellement asymptomatique mais occasionnellement elle peut être associée à une vulvo-vaginite symptomatique avec réponse inflammatoire (nombreux leucocytes à l'examen microscopique). (5)

Pour prévenir les infections néonatales précoces, diverses stratégies ont été proposées. Actuellement, en Belgique comme aux Etats-Unis et dans de nombreux pays européens et d'Amérique du Nord, les recommandations sont d'administrer une antibioprophylaxie I.V. intrapartum aux parturientes à risque (6,7). Le risque pris en considération est la colonisation recto-vaginale par GBS identifiée par un dépistage universel réalisé chez toutes les femmes enceintes entre 35 et 37 semaines de gestation (voir les conditions particulières de culture dans le rapport de 2008/1). La pénicilline, en raison de son efficacité et de son spectre d'activité étroit, est l'antibiotique de choix pour l'antibioprophylaxie intrapartum. Des alternatives sont proposées en cas d'allergie connue à la pénicilline : la céfazoline pour les patientes allergiques à faible risque anaphylactique et la clindamycine dans les autres cas. Comme chez de nombreuses espèces de streptocoques, une augmentation importante de la résistance à la clindamycine a aussi été observée parmi les GBS (8). Le taux de résistance observée est variable dans le temps et géographiquement. Une antibioprophylaxie avec de la clindamycine ne peut être réalisée que sur base des résultats de l'antibiogramme (6,7,9). En cas de résistance à la clindamycine, l'alternative recommandable est la vancomycine (6).

Pour le traitement des infections invasives du nouveau-né, de l'adulte ou autre patient, l'antibiotique de première ligne reste la pénicilline. Empiriquement le traitement est commencé avec un antibiotique à spectre plus large, mais dès que l'identification de GBS est confirmée la pénicilline est indiquée pour la poursuite du traitement. Le dosage et la durée des traitements dépendent du type d'infection. (2,3)

La colonisation asymptomatique, même pendant la grossesse ne doit pas être traitée. Mais, si la patiente est enceinte, une antibioprofylaxie intrapartum doit être prévue (6,7).

Actuellement 10 sérotypes capsulaires sont décrits (Ia, Ib, et II - IX). Parmi ceux-ci, le sérotype III est particulièrement important parce qu'il est responsable de près de 50% des infections néonatales précoces et de la plupart des cas d'infections néonatales tardives. Le typage a un intérêt épidémiologique très important notamment pour la détermination de la composition des vaccins en développement, mais pas pour la prise en charge individuelle des patients. Pour cette surveillance épidémiologique, nous rappelons que tous les laboratoires sont invités à envoyer leurs isolats d'infections invasives au centre national de référence des GBS.

Sensibilité aux antibiotiques

Sensibilité à la pénicilline et aux β -lactames : *S. agalactiae* reste sensible aux β -lactames y compris les céphalosporines et carbapénèmes, cependant depuis peu quelques souches de sensibilité intermédiaire à la pénicilline G, à l'ampicilline et aux céphalosporines ont été décrites au Japon et aux Etats-Unis (10,11). Cette diminution de sensibilité est due à des mutations dans le gène *pbp2x*. Le CLSI 2010 ainsi que l'EUCAST 2010 recommandent de répéter le test de sensibilité d'une souche qui apparaîtrait non sensible et de toujours faire confirmer ce résultat par un laboratoire de référence. Au laboratoire, la détermination de la sensibilité à la pénicilline permet d'inférer la sensibilité aux autres β -lactames y compris les céphalosporines et carbapénèmes (CLSI 2010 et EUCAST 2010) (9,12).

Résistance aux macrolides et lincosamides : comme déjà écrit précédemment, les taux de résistance aux macrolides et à la clindamycine sont variables géographiquement et peuvent atteindre 30 à 40% (8). Les mécanismes de résistance sont décrits dans le rapport de l'enquête 2005/2. Parmi les souches résistantes à l'érythromycine, 20% présentent une résistance isolée, par un mécanisme actif d'efflux conféré par le gène *mef* et 80% présentent une résistance croisée avec la clindamycine, par un mécanisme de modification de cible au site de liaison conférée par le gène *erm*. Environ la moitié des souches résistantes à la clindamycine démontre une résistance constitutive mais les autres souches ont une résistance inductible. Pour la détermination de la résistance inductible à la clindamycine, aussi bien le CLSI 2010 que l'EUCAST 2010 recommandent pour les souches résistantes à l'érythromycine la réalisation systématique d'un D-test en diffusion de disques. Les laboratoires utilisant une méthode en milieu liquide, y compris les systèmes automatisés, devraient aussi inclure un Dtest en diffusion (9,12). Les souches présentant un résultat positif au Dtest sont considérées avoir une résistance inductible à la clindamycine et sont présumées résistantes à cet antibiotique. Un commentaire comme celui ci-après devrait être rapporté : « *Cet isolat est présumé résistant à la clindamycine sur base de la détection d'une résistance inductible. Cependant la clindamycine pourrait encore être efficace chez certains patients* ». Rarement, une résistance isolée à la clindamycine et pas à l'érythromycine peut être observée ; celle-ci est associée à une modification du gène *linB*. Les taux de résistance observés à l'érythromycine et à la clindamycine justifient la nécessité de réaliser un antibiogramme lorsque ces molécules sont susceptibles d'être utilisées pour une antibioprofylaxie ou un traitement.

L'évolution des taux de résistance des GBS à la pénicilline, à l'érythromycine et à la clindamycine en Belgique de 1999 à 2009 est présentée dans le tableau ci-après.

Tableau : Evolution des résistances à la pénicilline, à l'érythromycine et à la clindamycine de souches de GBS isolées d'infections invasives chez le nouveau-né et chez l'adulte, de 1999 à 2009 (Données du centre de référence des streptocoques du groupe B) (8)

Agent antimicrobien	1999-2000 N= 326 % résistant	2001-2002 N= 125 % résistant	2005 N= 133 % résistant	2006 N= 104 % résistant	2007 N= 58 % résistant	2009 N= 88 % résistant
Pénicilline	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Erythromycine	10,4%	19,2%	30,8%	27,9%	27,6%	32,9%
Clindamycine		15,2%	24,8%	25%	20,7%	22,3%

Résistances et sensibilités diverses : depuis 2003, des souches résistantes aux fluoroquinolones ont été décrites au Japon (13). En 2007, une étude rapporte 23% de résistance aux fluoroquinolones parmi des souches japonaises. En Europe et en Amérique du Nord les taux de résistance aux fluoroquinolones restent très faible (0 à 5% ; moins de 1% en Belgique en 2008-2009, données non publiées du Centre de référence des streptocoques B). Les résistances décrites sont dues à des substitutions d'acides aminés dans les gènes *gyrA* et *parC*.

Toutes les souches restent sensibles à la vancomycine. Plus de 85% des souches de GBS sont résistantes aux tétracyclines.

Commentaires sur l'antibiogramme des streptocoques du groupe B

Pour la détermination de la sensibilité aux β -lactames, la molécule recommandée est la pénicilline et le résultat obtenu est étendu à l'ensemble des β -lactames. Si le CLSI 2010 donne encore des valeurs d'interprétation pour la pénicilline, l'ampicilline et les céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération, L'EUCAST ne donne des critères d'interprétation que pour la pénicilline (9,12).

Pour la détermination de sensibilité aux macrolides le CLSI mentionne que le résultat de sensibilité obtenu pour l'érythromycine suffit pour la prédiction de sensibilité ou résistance à l'azithromycine, clarithromycine et dirithromycine ; néanmoins il donne aussi des critères d'interprétation pour la méthode de diffusion et pour la détermination de CMI pour ces autres macrolides (9).

L'EUCAST notifie également que la sensibilité ou résistance à l'érythromycine peut être extrapolée à l'azithromycine, clarithromycine et roxithromycine. Pour la méthode de diffusion seule l'érythromycine a des critères d'interprétation alors que des critères sont donnés pour la détermination des CMI des autres macrolides. Concernant la clindamycine, et la recommandation de réaliser des Dtests, les commentaires ont déjà été développés ci-dessus.

Pour les fluoroquinolones, seules 2 molécules utilisées en Belgique, la lévofloxacine et l'ofloxacine ont des critères d'interprétation CLSI et seules la lévofloxacine et la moxifloxacine ont des critères d'interprétation EUCAST (9,12). De nombreux laboratoires ont cependant communiqué des résultats pour la ciprofloxacine et quelques uns pour la norfloxacine !

La souche M/5244 était bien sensible à la pénicilline, à l'érythromycine, à la clindamycine et aux fluoroquinolones. L'antibiogramme a été réalisé par différentes techniques. Tous les laboratoires ont bien déterminé la sensibilité aux β -lactames. Par contre pour les autres molécules un certain nombre de résultats résistants (erreurs majeures) et intermédiaires (erreurs mineures) ont été rapportés. Si on regarde les résultats des méthodes les plus utilisées : concernant les méthodes de diffusion en disque, 3,1% d'erreurs mineures sont observées avec les disques papier « CLSI », 4,6% d'erreurs mineures et 2% d'erreurs majeures avec les disques Néosensitabs « charge classique », 3,8% d'erreurs mineures et 7,7% d'erreurs majeures avec les disques Néosensitabs « nouvelle charge ». Pour les systèmes automatisés, les plus utilisés sont les systèmes Vitek pour lesquels 2,5% d'erreurs majeures ont été observées.

Faut-il systématiquement réaliser un antibiogramme sur les isolats de streptocoques du groupe B mis en évidence lors d'un dépistage de colonisation prénatale ?

En Belgique, comme le CDC, USA, les recommandations concernant ce point particulier disent : « *Pour les femmes à risque élevé d'anaphylaxie à la pénicilline, un test de sensibilité à la clindamycine et à l'érythromycine devrait être effectué sur les GBS isolés à l'occasion du dépistage prénatal de colonisation par GBS. Les femmes dont les isolats sont sensibles à la clindamycine devraient recevoir 900 mg de clindamycine par intraveineuse toutes les 8 heures jusqu'à l'accouchement.* ». En Belgique les recommandations du Conseil Supérieur de la Santé (2003) ajoutent : « *Si la souche est résistante à la clindamycine, l'avis d'un infectiologue devrait être sollicité dès que cette information est disponible.*» Le CLSI 2010, dans la case commentaire des critères d'interprétation de la sensibilité aux macrolides-lincosamides des streptocoques bêta-hémolytiques reprend cette même recommandation et l'EUCAST ne fait pas d'allusion au dépistage chez la femme enceinte mais bien aux méthodes à utiliser pour déterminer l'éventuelle R inductible pour la clindamycine.

Le comité national de l'antibiogramme (Belgian NAC), établi depuis janvier 2010, est encore un peu jeune pour avoir fait ce type de recommandation, il a actuellement d'autres priorités ; mais ce serait certainement une position qu'il pourrait prendre.

Concernant les recommandations de prévention, le CDC vient de revoir ces recommandations en insistant sur ce point. Il faut aussi savoir que la littérature rapporte des échecs de prophylaxie à la clindamycine utilisée chez des femmes colonisées par des GBS reconnus a posteriori « résistants » à la clindamycine. Si cette information de résistance ou sensibilité à la clindamycine n'est pas connue à l'accouchement, la recommandation dans ces cas d'allergie est théoriquement la vancomycine !!! (Dommage d'utiliser une telle molécule quand ce n'est pas nécessaire).

Comme le montrent les commentaires donnés par certains laboratoires lors de cette enquête, les attitudes et modes d'organisation en Belgique sont différents et certains laboratoires gèrent cette question tout à fait dans la lignée américaine. D'autres laboratoires comme le laboratoire de référence des streptocoques du groupe B, estiment qu'ils ne peuvent pas garantir de toujours avoir l'information requise et préfèrent réaliser systématiquement un antibiogramme sur les streptocoques du groupe B isolés lors des cultures de dépistage prénatal.

Les recommandations belges (Conseil Supérieur de la Santé) vont être revues dans les prochains mois par un groupe de travail composé de gynécologues, de pédiatres et de microbiologistes. Ce point sera ainsi abordé par les différents partenaires des cultures de dépistages et une réponse consensuelle devrait être donnée à la question de systématiser ou non un antibiogramme minimum sur les isolats de dépistage.

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

Références

1. Anthony BF, Okada DM, Hobel CJ. Epidemiology of group B streptococcus: longitudinal observation during pregnancy. *J Infect Dis* 1978;**137**:524-30
2. Schuchat A, 1999. Group B streptococcus. *Lancet* **353**:51-6
3. Streptococcal infections. In *Streptococcal Infections – Clinical aspects, Microbiology, and molecular pathogenesis*, Edited by Steves DL and Kaplan EL, Oxford University Press 2000 ; 221-37
4. Sendi P, Johansson L, Norrby-Teglund A. 2008, Invasive Group B Streptococcal Disease in Non-pregnant Adults: A Review with Emphasis on Skin and Soft-tissue Infections. *Infection* **36**:100–111
5. Maniatis AN, Palermos J, Kantzanou M et al, 1996. *Streptococcus agalactiae*: a vaginam pathogen? *J Med Microbiol.* **44**:199-202
6. CDC.Prevention of perinatal Group B streptococcal disease: Revised guidelines from CDC. *MMWR* 2002;**51** (RR11);1-22.
7. Recommandations du Conseil Supérieur d'Hygiène, 2003 (CSH 7721): Prévention des infections périnatales à streptocoques du groupe B.
 - a. http://www.health.belgium.be/internet2Prd/groups/public/@public/@shc/documents/ie2divers/4448391_fr.pdf
 - b. http://www.health.belgium.be/internet2Prd/groups/public/@public/@shc/documents/ie2divers/4448391_nl.pdf
8. Melin P, 2010. Table 3 Resistance of *Streptococcus agalactiae* in Belgium. In : *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2010-2011 Belgian / Luxembourg Edition* (in press)
9. CLSI – *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S20*. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010
10. Kimura K, Suzuki S, Wachino J, et al, 2008. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**:2890-2897
11. Dahesh S,Hensler ME, Van Sorge NM, Gertz RE, Schrag SN, Zet V and Beall BW 2008 Point Mutation in the Group B Streptococcal *pbp2x* Gene Conferring Decreased Susceptibility to β -Lactam Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*, **52**:2915–2918
12. EUCAST- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing: EUCAST Clinical Breakpoint Table v.1.1 2010-04-27: 21-4 version .pdf <http://www.eucast.org/>
13. Kawamura Y, Fujiwara H, Mishima N, Tanaka Y, Tanimoto A, Ikawa S, et al. 2003 First *Streptococcus agalactiae* isolates highly resistant to quinolones, with point mutations in *gyrA* and *parC*. *Antimicrob Agents Chemother.***47**:3605–9.

2.2 Culture M/8788 *Enterococcus faecium*

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

Il sera repris comme annexe dans le rapport global 2010/2.

Avec toutes nos excuses.

2.3 Culture M/9694 *Bordetella bronchiseptica*

La plupart des laboratoires (97.1%) ont obtenu une identification correcte tandis que quelques uns ont confondu cette souche avec d'autres bacilles à gram négatif inertes. La majorité des laboratoires n'aurait pas envoyé cette souche à un laboratoire de référence, tandis que d'autres l'auraient fait pour des raisons épidémiologiques ou pour confirmation: ce n'est pas nécessaire, étant donné que cette espèce n'a pas du tout la même signification épidémiologique que *B. pertussis*, l'agent de la coqueluche. Par contre, cette dernière espèce fait l'objet d'une surveillance tout comme *B. parapertussis* qui lui est étroitement apparentée et peut causer une forme atténuée de la maladie.

Un laboratoire a très justement fait la remarque que l'interprétation d'une culture d'expectoration doit tenir compte des résultats de la coloration de Gram. Cela pose la question de la signification de la présence de *Bordetella bronchiseptica* dans le tractus respiratoire.

Le genre *Bordetella* comprend neuf espèces, dont quatre seulement ont été associées à des infections respiratoires chez l'homme et d'autres mammifères: *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* et *B. holmesii*. Ces quatre espèces présentent très peu de diversité génétique et l'on parle du cluster de *B. bronchiseptica* comprenant trois sous-espèces, et dans lequel *B. pertussis* et *B. parapertussis* de l'homme sont deux dérivés du progéniteur, *B. bronchiseptica*, qui se sont adaptés à l'homme. Malgré sa proximité sur base du rDNA 16S et du polymorphisme des éléments IS, *B. holmesii* est à part car cette bactérie ne sécrète aucune des protéines de virulence sécrétées par les autres membres de ce cluster. Il est à noter que l'espèce *B. parapertussis* isolée chez le mouton est clairement différente de celle d'origine humaine.

B. bronchiseptica infecte un large éventail d'animaux et parfois l'homme. Cette espèce est la cause de trachéobronchite chez le chien (toux des chenils) et de rhinite atrophique chez le porc, ainsi que d'infections respiratoires chez le chat, notamment ceux vivant en collectivité. Chez l'homme, elle est principalement décrite comme source d'infections pulmonaires, souvent cavitaires chez des patients immunodéprimés dont la moitié et atteinte du SIDA. Des cas de sinusites, bronchites et même un tableau similaire à une coqueluche atténuée ont également été rapportés chez l'enfant. La colonisation asymptomatique est peu étudiée, ce qui pose problème pour l'interprétation du diagnostic moléculaire des infections à *B. pertussis*. En effet le gène le plus souvent amplifié lors de la PCR coqueluche est l'élément d'insertion IS481, suite à son nombre élevé de copies, qui augmente la sensibilité de la PCR. Cela peut cependant mener à des résultats faussement positifs étant donné que 5% des *B. bronchiseptica* (ainsi que tous les *B. holmesii*) arborent aussi cet élément. Malgré le manque d'études de la prévalence du portage, celui-ci est généralement considéré comme négligeable.

Les membres du genre *Bordetella* sont des coccobacilles ou de courts bacilles à Gram négatif. A l'exception de *B. petrii*, ce sont des aérobies stricts ayant une température optimale de croissance comprise entre 35 et 37°C. Ils ne métabolisent pas les carbohydrates. Les caractères biochimiques sont donnés dans le tableau ci-joint. *B. bronchiseptica* est relativement sensible à la céphalexine et ne présente pas toujours une

croissance sur les milieux utilisés pour isoler *B. pertussis* tel le milieu de Regan-Lowe. *B. bronchiseptica* pousse en 24 à 48 heures sur gélose au sang et sur MacConkey. D'autres bacilles à gram négatif oxydase + peuvent être confondus, ea *Oligella ureolytica* qui ne réduit pas les nitrites et est sensible à la pénicilline et *Cupriavidus pauculus* (*Ralstonia paucula*) qui réduit les nitrates. Il est conseillé de contrôler ces caractères lors de l'identification par des kits commerciaux qui reconnaissent souvent bien *B. bronchiseptica* mais la confondent parfois avec ces espèces apparentées. Le profil des acides gras cellulaires peut aussi être utilisé mais *Alcaligenes* et *Achromobacter* spp. devront être différenciés sur base d'autres techniques. Finalement, l'expérience acquise lors de l'utilisation du Maldi-TOF MS est encore limitée, mais il faut souligner que cette technique distingue difficilement les membres du genre *Bordetella* et certainement les trois espèces du complexe de *B. bronchiseptica* et *B. holmesii*.

Les données concernant le traitement des infections à *B. bronchiseptica* sont limitées, mais cette espèce est souvent résistante aux macrolides et sensible aux aminoglycosides, aux pénicillines anti-pseudomonas, aux céphalosporines à large spectre, aux tétracyclines, aux quinolones et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole. En dehors de l'hôpital, les enfants sont souvent traités par le triméthoprime-sulfaméthoxazole et les adultes par une quinolone ou une tétracycline.

Caractères biochimiques des *Bordetella* spp¹.

Caractère	B.per-tussis	B.para-pertussis	B.bronchi-septica	B.holmesii	B.avium	B.hinzii	B.trema-tum	B.petrii	B.ansor-pii ²
Oxidase	+	-	+	-	+	+	-	+	V (faible)
Réduction de nitrate	-	-	+	-	-	-	V	-	-
Uréase	-	+	+	-	-	V	-	-	-
Mobilité	-	-	+	-	+	+	+	-	+
Croissance sur gélose au sang	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance sur MacConkey	-	V (lente)	+	+	+	+	+	+	+

¹ Adapté de Loeffelholz MJ, Sanden GN, Bordetella, in Murray PR et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th edition, ASM Press, 2007.

² Sur base de Ko KS et al. J Clin Microbiol. 2005;43:2516-9 et Fry NK et al. J Med Microbiol. 2007;56:993-5.

Voyez aussi Mattoo S, Cherry JD. Clin Microb Rev 2005;18:326-382.

D. Pierard, UZ Brussel

2.4 Culture M/9829 Non pathogènes (Staphylocoque à coagulase négative et lactobacilles d'un écouvillon vaginal)

L'envoi M/9829 était un échantillon simulé de frottis vaginal, constitué d'un mélange de lactobacilles et de Staphylocoques à coagulase négative dans un rapport 3/1 sans ajout de cellules.

Les informations cliniques étaient les suivantes : « Ecouvillon vaginal, prélevé chez une jeune femme sexuellement active; leucorrhée ; coloration de Gram: globules blancs +++.

Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

L'échantillon original a été prélevé chez une femme souffrant d'une infection vulvo-vaginale à Herpes simplex, ce qui expliquait la présence de nombreux globules blancs.

Chez les femmes en âge de procréation, il existe une sécrétion normale physiologique journalière qui est composée de desquamations d'épithélium, de sécrétions endocervicales et glandulaires, d'une transsudation, de produits bactériens ... La quantité, la couleur et la consistance des sécrétions physiologiques varient entre autres avec le statut hormonal (péri-ovulatoire, femme enceinte, sous pilule contraceptive, ...).

Etant donné que le vagin est en contact direct avec le monde extérieur, une symbiose complexe se développe entre la flore bactérienne et la muqueuse vaginale. Cet écosystème microbien est impressionnant : dans des circonstances normales on retrouve $>10^9$ CFU / ml de sécrétion et des dizaines d'espèces différentes (dont un certain nombre sont difficiles ou impossibles à faire croître).

Les lactobacilles sont largement prédominants. Ils produisent de l'acide lactique et de l'eau oxygénée qui aident à préserver le degré d'acidité du vagin (pH 4.0 à 4.5). Les staphylocoques (principalement les Staphylocoques à coagulase négative), les streptocoques, les corynéformes, les entérobactériacées et les anaérobies sont présents en moindre quantité mais peuvent tous être considérés comme occupants normaux du vagin.

Cet écosystème complexe peut cependant facilement être perturbé par des influences internes (changements hormonaux, traitement antibiotique, ...) ou externes (relations sexuelles, irritation physique ou chimique, objet étranger,...). Chez la femme adulte on propose le diagnostic de 'vaginite' en cas de plaintes de leucorrhée anormale et/ou d'inconfort vulvo-vaginal. On estime que dans le monde occidental, chaque année 10% des femmes ont par an une période de plaintes vaginales plus ou moins importantes. Environ 40-50% de ces épisodes de vaginite sont causés par une vaginose bactérienne, 20-30 % sont dus à une infection par *Candida* et 5-20 % à une infection par *Trichomonas vaginalis*.

L'anamnèse et l'examen clinique donnent déjà souvent une orientation du diagnostic.

L'examen de la sécrétion vaginale peut déjà être effectué par le clinicien : la couleur, la quantité ou d'autres caractéristiques sont peu fiables, mais une mesure du pH, un test de KOH (test d'amine ou « sniffest ») et la microscopie (examen direct pour *T.vaginalis* ou *Candida*) peuvent fournir une orientation. Le prélèvement d'un écouvillon cervical et/ou vaginal sera indiqué uniquement si cet examen ne donne pas de réponse définitive ou s'il y a une suspicion de MST. (Le 'clinical microbiological procedures handbook' de l'ASM mentionne explicitement: *Do not accept vaginal swabs from women in childbearing years for "routine genital culture" ! ...require that the disease or agent sought be ordered specifically.*)

Si ce type d'échantillon est apporté au labo, on recherchera un premier lieu les *T.vaginalis* et *Candida*.

La coloration de Gram est et reste la méthode la plus appropriée pour avoir un aperçu global et est p.ex. la seule méthode fiable pour diagnostiquer une vaginose bactérienne.

En cas de suspicion spécifique d'une MST, on recherchera *Neisseria gonorrhoeae* et *Chlamydia trachomatis*. Il est conseillé de limiter la recherche d'autres germes. D'un autre part, il est important de reconnaître et de rapporter un *Streptococcus pyogenes*, surtout en période post-partum ou après une opération ou chez les très jeunes filles.

La présence de *Streptococcus agalactiae* (en dehors de la grossesse), *Staphylococcus aureus* (sauf dans le cadre de la surveillance des MRSA), *Streptococcus pneumoniae* et *Gardnerella vaginalis* doit uniquement être mentionnée si elle est prédominante (ou pour

surveillance du MRSA dans le cadre d'une politique de dépistage). Ceci doit être rapporté avec la plus grande prudence, en corrélation avec la clinique et la coloration de Gram.

Il ne faut jamais rechercher et mentionner spécifiquement les entérobactériacées (chez les très jeunes filles les *Shigella.sp* peuvent être retrouvés exceptionnellement), les streptocoques viridans, les Staphylocoques à coagulase négative, les entérocoques et les corynébactéries mais ils peuvent être indicateurs d'une flore perturbée (p.ex. après traitement antibiotique ou en cas de vaginite atrophique). Ceci peut être rapporté en tant que tel.

Rapport adéquat:

Cet échantillon a été inclus dans le contrôle de qualité afin d'évaluer l'attitude des laboratoires quand ils reçoivent un échantillon génital d'une patiente.

Presque 77 % des laboratoires participants ont répondu de façon convaincante que cet échantillon ne contenait pas de pathogènes. Environ 10% des participants ont répondu de façon plus incertaine: ils ont bien écrit « flore commensale » ou « absence de pathogènes » mais ils ont mentionné 'en passant' la présence de « Staphylocoques à coagulase négative », « *Lactobacillus acidophilus* », etc... La spécification des germes appartenant à la flore commensale n'a aucune valeur ajoutée et peut induire le clinicien en erreur. L'exécution et le rapportage d'un antibiogramme dans de tels cas est même dangereux parce qu'il induit souvent un traitement antibiotique qui aggravera encore plus la perturbation de l'écologie vaginale.

D'un autre côté il est encourageant de constater que beaucoup de laboratoires ont remarqué la discordance entre le résultat et les données cliniques et qu'ils ont ajouté un commentaire : p.ex. demande d'un échantillon de contrôle, suggestion d'un examen direct pour recherche de *T.vaginalis* ou mention d'autres tests supplémentaires.

Hans De Beenhouwer, OLV-ziekenhuis, Aalst

Références

Clinical microbiology procedures handbook . 2nd ed revised

Isenberg HD editors. Washington, D.C.: ASM Press; 2007

Diagnostic approach to women with vaginal discharge or vulvovaginal symptoms.

UpToDate.com accessed 01/03/2010

Acute Vulvovaginitis.

Ecker L. New England Journal of Medicine - 21 september 2006 (Vol 337, 26, 1896-1903)

Vaginitis.

Jack D. Sobel New England Journal of Medicine - 25 december 1997 (Vol 355:1244-52)

Quality assurances: Decreasing clinically irrelevant testing from clinical microbiology laboratories, part I

Joan Barenfanger Clinical Microbiology Newsletter - 1 February 2006 (Vol. 28, Issue 3, Pages 17-24)

Quality assurances: Decreasing clinically irrelevant testing from clinical microbiology laboratories, part II

Joan Barenfanger Clinical Microbiology Newsletter - 15 February 2006 (Vol. 28, Issue 4, Pages 25-29)

Managing microbiology specimen workups: Top 10 list of Do's and Don'ts

Mary K. York Clinical Microbiology Newsletter - 1 June 2006 (Vol. 28, Issue 11, Pages 81-87)

2.5 Addendum: commentaire sur la culture M/9259 *Vibrio cholerae* (enquête 2009/3)

Vibrio cholerae

Généralités

Vibrio cholerae est un bacille Gram négatif droit ou incurvé, relativement court (1,5-3 µm) non sporogène, monotriche, oxydase positif, fermentant le glucose, le saccharose et le mannitol, possédant une lysine et une ornithine décarboxylase.

Sa croissance est favorisée par un pH de 7,6 à 9,5 et une concentration en NaCl de 3 à 8 %. La bactérie est identifiée sur base de ses caractères biochimiques. La diversité de ses antigènes somatiques O permet de différencier près de 200 sérogroupes.

Deux sérogroupes sont associés à des épidémies de choléra : O1 et O139.

Le sérotype O1 se divise en deux sérotypes, Inaba et Ogawa, selon l'agglutination de l'antisérum. Un troisième sérotype, Hikojima, est décrit bien qu'il soit très rare pendant une flambée ou une épidémie.

V. cholerae O1 est également différencié en 2 biotypes, classique et El Tor, ce dernier est identifié sur base de la résistance à la polymyxine B, de la positivité de la réaction de Vogues Proskauer, de l'agglutination des érythrocytes de poulet et de l'hémolyse de sang de mouton. Des hybrides de ces 2 biotypes sont de plus en plus souvent rapportés.

Seules les souches toxigènes sont associées au choléra humain et représentent un danger pour la santé publique.

Les *Vibrio cholerae* qui n'agglutinent pas avec les antisérums O1 et O139 sont appelés *Vibrio cholerae* non-O1 et non-O139. Ces bactéries peuvent être pathogènes ; rarement, elles sont associées à de petites épidémies de diarrhée. Elles provoquent parfois des infections extra-intestinales sévères, comme des septicémies, ou des infections de plaies, particulièrement chez les sujets immunodéprimés ou en cas de maladie hépatique chronique.

Culture et identification

Dans les selles, la recherche spécifique ne se fait, en Belgique, que sur une demande clinique précise ; celle-ci devrait être justifiée par l'apparition d'une diarrhée aqueuse aiguë au retour d'une région à risque de choléra. En ce qui concerne la mise en évidence de ces bactéries dans les selles, un milieu de transport de type Cary-Blair est nécessaire si le délai d'inoculation dépasse quelques heures. Une eau peptonée alcaline (EPA) peut également servir de milieu de transport, pour un écouvillon par exemple.

Macroscopiquement, en phase aiguë de choléra, les selles ont un aspect « eau de riz » et l'examen microscopique à frais permet de visualiser des bacilles extrêmement mobiles. L'ajout d'antisérum correspondant immobilise immédiatement les vibrions.

Vibrio cholerae se cultive facilement sur des milieux non spécifiques comme le milieu de MacConkey, de Drigalski, en gélose nutritive alcaline ou encore en Mueller Hinton ou plus spécifiquement sur le TCBS.

Pratiquement, les selles sont inoculées sur TCBS, qui est un milieu sélectif inhibant la flore fécale et permettant la croissance des vibrions, incubé une nuit, à 35°C, en aérobiose.

De plus, l'échantillon devrait être inoculé dans un tube d'EPA pour enrichissement (moins de 10% de selles), celle-ci est ensuite incubée 6 à 8 heures puis repiquée sur gélose TCBS (prélèvement à l'ose juste sous la surface de l'EPA non agitée préalablement) traitée comme ci-dessus.

Sur le TCBS, les colonies apparaissent arrondies, bombées, et presque toujours jaunes (fermentation du saccharose). Sur celles-ci, une recherche d'oxydase est réalisée et, si cette dernière est positive, une agglutination est réalisée pour la recherche des sérotypes O1 et O139.

Il faut noter que les colonies prélevées sur TCBS sont souvent auto-agglutinables et la détection d'oxydase y est aléatoire. En cas de difficulté pour la réalisation de ces tests, il est recommandé de sous-cultiver sur un milieu non sélectif (comme une gélose nutritive alcaline) à partir du TCBS avant de repratiquer les tests.

Sur les milieux non sélectifs, les colonies suspectes sont rondes, de taille moyenne, translucides.

Par la suite une confirmation peut être faite par identification biochimique sur API 20E ou NE. La spectrométrie de masse (MALDI-TOF) permet un diagnostic facile et rapide au niveau de l'espèce.

Les souches de *Vibrio cholerae* sont de plus en plus fréquemment résistantes au composé vibriostatique O 129.

La confirmation de la pathogénicité des *V. cholerae* isolés est réalisée par la mise en évidence de la toxine cholérique; classiquement, celle-ci peut être faite sur anse intestinale ligaturée de lapin, sur cellules Y1 ou encore par ELISA ; de manière plus sensible et plus aisée, cette détection procède actuellement par la détection des gènes *ctxA* qui codent pour la portion active de la toxine

Les gènes *ctxA* et *ctxB* de la toxine cholérique sont localisés sur le phage filamenteux lysogénique CTX ϕ formant un îlot de pathogénicité de 4,5 kb. Les souches dépourvues de ce phage ne sont donc, en principe, pas pathogènes.

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques doit être pratiquée. La fréquence de souches de *V. cholerae* résistantes fluctue dans le temps mais ne semble pas augmenter. Dans les pays où le choléra est endémique, ont été rapportées des souches résistantes à : ampicilline, tétracycline, co-trimoxazole, chloramphénicol, gentamicine. Plus récemment, des souches résistantes aux fluoroquinolones ont été identifiées en Inde.

L'antibiogramme est réalisé sur gélose Mueller Hinton ou en milieu liquide dans les systèmes automatisés.

***Vibrio cholerae* non-O1 et non-O139**

Ces souches sont retrouvées également en zones non endémiques de choléra. Comme mentionné ci-dessus, elles peuvent être associées à des cas sporadiques de diarrhée, à de petites épidémies, à des localisations extra-intestinales comme infections de plaies, des bactériémies, mais aussi à des infections urinaires ou encore respiratoires, en particulier chez des sujets immunocompromis. Exceptionnellement, elles produisent de l'entérotoxine cholérique.

Ce sont des bactéries qui font partie de l'écosystème normal des estuaires et des régions côtières, elles sont présentes en Europe et, dans nos régions en particulier, on les retrouve dans les canaux et dans les eaux saumâtres. Le contact avec l'eau contaminée et l'ingestion de fruits de mer colonisés sont le plus souvent à l'origine d'infection. Ces bactéries sont plus abondantes dans les mois chauds de l'été.

Patrick De Mol, CHU de Liège

La souche envoyée ne produisait pas de toxine et a été isolée de l'aspiration trachéale d'un patient polytraumatisé admis aux soins intensifs après un accident de voiture. Une autre souche de *V. cholerae*, isolée d'un frottis auriculaire d'un patient souffrant d'une otite externe, a récemment été retrouvée par le même laboratoire.

2.6 Remarque concernant l'échantillon M/7570, *S. aureus*, envoyé dans l'EEQ 2009/3

Comme mentionné dans le rapport de l'EEQ 2009/3 nous avons envoyé l'échantillon M/7570 à la firme bioMérieux, afin de leur permettre d'examiner cet échantillon.

Ci-dessous vous trouverez les résultats de leur examen:

"Tests effectués :

Méthodes de référence:

- Slidex MRSA = résultat positif (MRSA)
- Dilution en agar pour l'oxacilline : OXA CMI=0.5 mg/l (S) et OXA CMI=2 mg/l (S) après induction.

Méthodes alternatives:

- diffusion par disque pour induction avec les standards CASFM ou CLSI:
CASFM : OXA d=14 mm (R) avec des colonies dans la zone d'inhibition => souche hétérogène
CXT (I) d=25 mm, MOX (S) d=26 mm

CLSI : OXA (S) d=25 mm, CXT (S) d=24 mm => pas de détection. Ceci est la méthode de référence, utilisée pour le développement de l'OXSf (test de dépistage céfoxitine Vitek2).
- diffusion par disque après induction avec les standards CASFM et CLSI:
CASFM : OXA (R), CXT (R), MOX (S)
CLSI : OXA (S), CXT (R)
- ATB Staph : OXA S (acquired penicillinase) mais une faible croissance au bord de la cupule.
- ChromID MRSA : colonies vertes après 24 heures (MRSA).

Sur Vitek 2 (software PC V4.02, standard EUCAST 2008) avec la carte AST-P549 :

- test de dépistage céfoxitine négatif et CMI Oxacilline variables, en raison de l'hétérogénéité de la souche. Le phénotype modification de PBP a été recherché chez l'OXA CMI ≥ 4 mg/l (et le test de dépistage céfoxitine a été corrigé par le système expert en positif).
En cas d'OXA CMI = 1 ou 2 mg/l, nous avons obtenu le phénotype acquired penicillinase.

CONCLUSION DE L'EXAMEN :

La souche a été confirmée comme hétérogène, avec un bas niveau de résistance à l'oxacilline.

III. Résultats des identifications

176 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 175 laboratoires belges et luxembourgeois et 1 laboratoire letton. Ce dernier n'a pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1. Culture M/5244 *Streptococcus agalactiae* (sécrétion vaginale)

<u><i>Streptococcus agalactiae</i></u>	145	82.9%
<u><i>Streptococcus agalactiae</i> (groupe B)</u>	16	9.1%
<u><i>Streptococcus</i> β-hémolytique de groupe B</u>	11	6.3%
<u><i>Streptococcus</i> de groupe B</u>	2	1.1%
L'échantillon est envoyé	1	

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

Réponse	N labos
Autres raisons (le laboratoire qui, en routine, envoie toujours de telles souches)	1
N'est pas envoyé	172
Pas de réponse à la question	2
Total	175

3.2. Culture M/8788 *Enterococcus faecium* (hémoculture)

<i>Enterococcus faecium</i>	167	95.4%
<i>Streptococcus faecium</i>	1	
<i>Enterococcus</i> species (pas <i>E. faecalis</i>)	1	
<i>Enterococcus</i> species	2	
Viridans <i>Streptococcus</i>	1	
<i>Leuconostoc</i> species	2	
L'échantillon est envoyé	1	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique ¹	34
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	31
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ³	45
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (recherche du mécanisme de la résistance)	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ⁴ + autres raisons (recherche du gène Van A)	4
Autres raisons (tester la teicoplanine)	1
Autres raisons (le laboratoire qui, en routine, envoie toujours de telles souches)	1
N'est pas envoyé	57
Pas de réponse à la question	1
Total	175

¹ Un laboratoire a mentionné: « uniquement en cas de plusieurs souches d'un même département »

² Un laboratoire a mentionné que l'échantillon serait envoyé pour tester la « genta 120 »; un laboratoire l'enverrait pour la confirmation de la vancomycine et de la teicoplanine; et 2 laboratoires pour la vancomycine

³ Deux laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme

⁴ Un laboratoire a mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme

3.3. Culture M/9694 *Bordetella bronchiseptica* (expectoration)

<i>Bordetella bronchiseptica</i>	170	97.1%
<i>Pseudomonas</i> species	2	
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	1	
Bacille à Gram négatif, non fermentant	1	
Absence de germes pathogènes	1	

Un laboratoire a fourni la remarque suivante: « Comment est la coloration de gram de l'expectoration: globules blancs >>> cellules épithéliales ? *B. bronchiseptica* est potentiellement pathogène chez des personnes fortement immunosupprimées. Est-ce le cas pour le patient en question? Je dirais: potentiellement pathogène s'il s'agit d'un bon échantillon (purulent: globules blancs >>> cellules épithéliales), isolation répétitive chez un patient immunodéprimé. »

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	6
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	15
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	1
N'est pas envoyé	148
Pas de réponse à la question	5
Total	175

¹ Un laboratoire a mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification

3.4. Culture M/9829 Non pathogènes (écouvillon vaginal)

<u>Absence de pathogènes/flore commensale</u> ¹	151	86.3%
<u>Négatif pour <i>N. gonorrhoeae</i>, <i>G. vaginalis</i> et <i>Candida</i> sp.</u>	1	0.6%
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	9	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	
<i>Lactobacillus</i> species	4	
<i>Lactobacillus gasseri</i>	2	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1	
<i>Actinomyces israelii</i>	1	
<i>Enterococcus avium</i>	1	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	
<i>Mycoplasma hominis</i>	1	
L'échantillon est envoyé	1	

¹ Pour simplifier, nous avons regroupé tous les résultats « absence de pathogènes », « flore commensale », « flore vaginale », « flore banale », « négatif »,...

Un certain nombre de laboratoires ayant répondu « absence de pathogènes » ont aussi mentionné la présence de non-pathogènes:

- 8 laboratoires ont mentionné des lactobacilles (2 d'entre eux les ont identifiés jusqu'au niveau de l'espèce: *L. acidophilus*)
- 1 laboratoire a mentionné « staphylocoque à coagulase négatif »
- 5 laboratoires ont mentionné « lactobacilles + staphylocoque à coagulase négatif »
- 2 laboratoires ont mentionné « lactobacilles + *S. epidermidis* »
- 1 laboratoire a mentionné « lactobacilles + *S. haemolyticus* + *S. alactolyticus* + corynebactéries »
- 1 laboratoire a mentionné « *L. paracasei* + *S. haemolyticus* » (ce laboratoire a également mentionné que l'examen direct pour *T. vaginalis* et la PCR pour *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* étaient négatifs)

Quelques laboratoires ont mentionné en plus du résultat « absence de pathogènes », les résultats d'autres tests qu'ils ont effectués:

- PCR pour *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* et culture pour *Ureaplasma* négatives
- examen direct pour *T. vaginalis* négatif (sous réserve étant donné que cet examen doit être effectué sur un échantillon frais)
- *C. trachomatis* négatif

Quelques laboratoires ayant répondu « absence de pathogènes » ont conseillé d'effectuer des tests supplémentaires

- PCR pour *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis*
- PCR pour *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* et culture pour *Ureaplasma* et *Mycoplasma*
- PCR pour *C. trachomatis*
- Le contraste avec la clinique doit "en clinique" faire demander un nouvel échantillon pour rechercher les pathogènes (parasites, mycoses, gonocoques, *Gardnerella* et germes divers)
- renouveler le prélèvement en cas de persistance des signes cliniques.

Quelques laboratoires ont transmis une remarque avec la réponse « absence de pathogènes »

- Il n'est plus possible de mettre en culture les pathogènes avec ce type de transport; éventuellement on peut faire une PCR pour *N. gonorrhoeae*, mais on ne peut pas effectuer des tests de sensibilité
- Ayant identifié une *Listeria grayi* (cf. API) (considérée comme non pathogène pour ce type de prélèvement), nous préférons envoyer cette souche au laboratoire de référence pour confirmation et identification
- Désaccord entre les informations cliniques et l'échantillon: interversion d'échantillons? *Mycoplasma*? Viral?
- La culture de *Trichomonas vaginalis* n'a pas été effectuée étant donné que les exigences pré-analytiques ne sont pas remplies. Information du gynécologue ?
- *Gardnerella vaginalis* non exclue: pas de cellules sur le frottis pour diagnostic microscopique
- Les gonocoques ne sont pas recherchés en routine

Deux laboratoires ont transmis une remarque avec la réponse "*Staphylococcus haemolyticus*"

- 2e échantillon: absence de *Trichomonas*, de levures et pas de leucocytes en grand nombre
- Recherche culture *Ureaplasma*: négative. *S. haemolyticus* normalement pas considéré comme pathogène

Un laboratoire a transmis une remarque avec la réponse « lactobacilles »: vaginite ou vaginite cytolitique.

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

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	1
Autres raisons (le laboratoire qui, en routine, envoie toujours de telles souches)	1
Autres raisons (en cas de demande spécifique pour un germe qui n'est pas recherché en routine)	1
N'est pas envoyé	126
Pas de réponse à la question	46
Total	175

¹ Cette réponse a été fournie par le laboratoire qui a obtenu l'identification *L. grayi*.

NB Un certain nombre de laboratoires qui n'ont pas répondu à la question, ont donné la remarque que cette question était sans intérêt vu la nature de l'échantillon.

IV. Antibiogramme

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

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

Nombre de participants = 174 (le laboratoire qui enverrait les échantillons n'a évidemment pas effectué d'antibiogrammes pour aucun des échantillons).

4.1 Culture M/5244 (*Streptococcus agalactiae*)

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.

Deux laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme mais ont donné les remarques suivantes:

- Pour *S. agalactiae*, le commentaire suivant apparaît sur les protocoles ; « Tous les *S. agalactiae* sont sensibles à la pénicilline et à l'ampicilline. En cas d'allergie à la pénicilline, veuillez prendre contact avec le laboratoire endéans les 24h. »
- Pour la culture M/5244 nous n'effectuons en routine pas d'antibiogramme.

Deux autres laboratoires, qui ont effectué l'antibiogramme, ont également donné une remarque:

- Un antibiogramme est effectué uniquement sur demande (p.e. allergie à la pénicilline) et pas sur chaque échantillon de routine
- En routine pour 1 streptocoque B nous répondons dans un commentaire: « Le traitement recommandé du streptocoque B est la Pénicilline V. Si allergie, préférer clindamycine. AB à votre demande si nécessaire ».

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	153	153	-	-	-
Amoxicilline ¹	S	2	2	-	-	-
Pénicilline ²	S	11	11	-	-	-
Erythromycine	S	169	162	3	3	1 ³
Clarithromycine ⁴	S	2	2	-	-	-
Clindamycine	S	169	164	2	2	1 ⁵
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	40	34	5	1	-
Lévofloxacine	S	71	65	1	5	-
Moxifloxacine	S	25	24	-	1	-
Norfloxacine	S	6	2	1	3	-
Ofloxacine	S	12	11	1	-	-
Quinolone ⁶	S	4	4	-	-	-

¹ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

² Neuf laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline au lieu de l'ampicilline; deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline et à l'amoxicilline.

³ Un laboratoire a donné le résultat brut et expert (I) mais a laissé ouvert le résultat final.

⁴ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu de l'érythromycine; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la clarithromycine et à l'érythromycine.

⁵ Un laboratoire a donné le résultat brut et expert (I) mais a laissé ouvert le résultat final.

⁶ 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.

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 selon CLSI pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	20 (22)	10	28	34 – 34	22	-	-
Pénicilline	2 (3)	10	29	27 – 31	2	-	-
Erythromycine	23 (26)	15	24	18 – 32	25	1	-
Clarithromycine	1 (1)	15	23	23 – 23	1	-	-
Clindamycine	24 (26)	2	21	20 – 30	26	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	5 (5)	5	23	17 – 25	3	2	-
Lévofloxacine	6 (6)	5	21	18 – 22	6	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	21.5	21 – 22	2	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	17	17 – 17	1	-	-
Ofloxacine	3 (3)	5	17	16 – 18	3	-	-
Quinolone	1 (1)	5	19	19 – 19	1	-	-

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs (« old ») et avec les nouvelles charges (« 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 classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	31 (37)	33	32	25 – 40	37	-	-	-
Amoxicilline	2 (2)	30	32	30 – 34	2	-	-	-
Pénicilline	2 (2)	5	27	25 – 29	2	-	-	-
Erythromycine	37 (42)	78	30	22 – 38	38	2	1	1 ¹
Clindamycine	37 (42)	25	30	20 – 40	39	1	1	1 ¹
Quinolone								
Ciprofloxacine	11 (13)	10	22	19 – 30	11	2	-	-
Lévofloxacine	4 (6)	5	22	21 – 22	6	-	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	21.5	20 – 23	2	-	-	-
Norfloxacine	2 (2)	10	14.5	14 – 15	-	1	1	-
Ofloxacine	5 (5)	10	22	18 – 23	4	1	-	-

¹ Un laboratoire a donné le résultat brut et expert (« I » pour les 2 antibiotiques) mais a laissé ouvert le résultat final.

Tableau 4.1.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	4 (6)	10	28	26 – 33	6	-	-
Pénicilline	1 (1)	10	41	41 – 41	1	-	-
Erythromycine	5 (7)	15	23	22 – 38	6	-	1
Clindamycine	6 (7)	2	22	19 – 41	6	-	1
Quinolone							
Ciprofloxacine	1 (2)	5	25	25 – 25	2	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	16	16 – 16	-	1	-
Norfloxacine	2 (2)	5	18	16 – 20	2	-	-

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/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	4	4 x S	0.047 mg/L; 0.064 mg/L; 0.094 mg/L; 0.125 mg/L
Erythromycine	2	2 x S	0.094 mg/L; 0.19 mg/L
Clarithromycine	1	1 x S	≤ 0.19 mg/L
Clindamycine	2	2 x S	0.12 mg/L; 0.125 mg/L
Quinolone			
Moxifloxacin	1	1 x S	0.19 mg/L

Un seul laboratoire a utilisé le test MICE pour l'ampicilline avec une valeur CMI de 0.12 mg/L et l'interprétation « 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/5244 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	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			S	I	R		
Ampicilline	46	-	-	≤0.25	44 (46)	27	-	-	≤0.25	23 (27)
Pénicilline	1	-	-	≤0.12	1 (1)	-	-	-	-	-
Erythromycine	47	-	-	≤0.25	46 (47)	30	-	-	≤0.25	27 (30)
Clindamycine	47	-	-	≤0.25	46 (47)	30	-	-	≤0.25	27 (30)
Quinolone										
Ciprofloxacine	8	-	1	≤0.5	8 (9)	8	-	-	≤0.5	7 (8)
Lévofloxacine	25	-	3	1	23 (28)	15	-	2	1	11 (17)
Moxifloxacin	8	-	1	≤0.25	8 (9)	9	-	-	≤0.25	6 (9)
Norfloxacine	-	-	-	-	-	-	-	1	4	1 (1)
Quinolone	4	-	-	≤0.25	2 (4)	-	-	-	-	-

Dans la plupart des cas la « valeur CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'ampicilline un laboratoire a trouvé une CMI ≤ 2 mg/L et un laboratoire une CMI ≤ 25 mg/L avec le Vitek 2 ; avec le Vitek 2 compact un laboratoire a trouvé une CMI ≤ 2 mg/L et un laboratoire une CMI ≤ 25 mg/L
- pour l'érythromycine un laboratoire a trouvé une CMI ≤ 25 mg/L avec le Vitek 2 et un laboratoire ce même résultat avec le Vitek 2 compact
- pour la clindamycine un laboratoire a trouvé une CMI ≤ 25 mg/L avec le Vitek 2 et un laboratoire ce même résultat avec le Vitek 2 compact
- pour la ciprofloxacine un laboratoire a trouvé une CMI de 1 mg/L avec le Vitek 2 et un laboratoire une CMI < 0.25 mg/L avec le Vitek 2 compact
- pour la lévofloxacine 2 laboratoires ont retrouvé une CMI de 0.5 mg/L et 3 laboratoires une CMI de 2 mg/L avec le Vitek 2; avec le Vitek 2 compact un laboratoire a trouvé une CMI de 2 mg/L et 4 laboratoires une CMI ≤0.5 mg/L

- pour la moxifloxacine un laboratoire a trouvé une CMI de 0.5 mg/L avec le Vitek 2; avec le Vitek 2 compact un laboratoire a trouvé une CMI de 1 mg/L et un laboratoire une CMI \leq 25 mg/L

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.1.6.

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	2	-	-
Pénicilline	1	-	-
Erythromycine	4	-	-
Clindamycine	4	-	-
Quinolone			
Lévofloxacine	3	-	-
Norfloxacine	1	-	-

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

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		
Ampicilline	4	-	-	*	* (4)
Pénicilline	1	-	-	-	- (1)
Erythromycine	5	-	-	\leq 0.0625	3 (5)
Clindamycine	5	-	-	0.0625	2 (5)
Quinolone					
Lévofloxacine	5	-	-	1	4 (5)
Moxifloxacine	1	-	-	\leq 0.25	1 (1)
Ofloxacine	1	-	-	1	1 (1)
Quinolone					

* pour l'ampicilline les laboratoires ont répondu les valeurs CMI: \leq 0.032 mg/L, \leq 0.25 mg/L et \leq 0.125 mg/L

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'érythromycine un laboratoire a retrouvé une CMI de 0.25 mg/L et un laboratoire une CMI \leq 0.06 mg/L
- pour clindamycine un laboratoire a retrouvé une CMI \leq 0.03 mg/L, un laboratoire une CMI \leq 0.03125 et un laboratoire une CMI de 0.062 mg/L
- pour la lévofloxacine un laboratoire a retrouvé une CMI \leq 0.25 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.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (5)	10	34	18 – 37	5	-	-
Erythromycine	6 (6)	15	25	23 – 26	6	-	-
Clindamycine	6 (6)	2	23	21 – 24	6	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	2 (2)	5	20.5	20 – 21	2	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	19	19 – 19	1	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	21	21 – 21	1	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	13	13 – 13	-	-	1
Ofloxacine	2 (2)	5	16.5	16 – 17	2	-	-

Tableau 4.1.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (5)	33	30	28 – 40	5	-	-
Pénicilline	1 (2)	5	37	37 – 37	2	-	-
Erythromycine	7 (8)	78	28	23 – 29	7	-	1
Clindamycine	7 (8)	25	28	26 – 29	7	1	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	1 (2)	10	20	20 – 20	2	-	-
Lévofloxacine	4 (4)	5	19	18 – 22	4	-	-

Tableau 4.1.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/5244 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	3 (3)	10	40	29 – 43	3	-	-
Erythromycine	3 (3)	15	29	26 – 30	3	-	-
Clindamycine	3 (3)	2	24	24 – 26	3	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	2 (2)	5	21	20 – 22	1	1	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	26	26 – 26	1	-	-

Il reste à mentionner qu'un laboratoire a déclaré l'ampicilline comme sensible basé sur l'extrapolation du résultat de la pénicilline.

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

- La lévofloxacine:
 - o S→R
 - Vitek 2: 2 labos
 - o I→R
 - Vitek 2 compact: 1 labo
- La moxifloxacine:
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo

4.2 Culture M/8788 (*Enterococcus faecium*)

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

Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque concernant cet échantillon:

- Van A: 6 labos
- Van A+, Van B-: 1 labo
- Van A- like: 3 labos
- Van A probable: 6 labos
- VRE: 14 labos
- Résistance aux glycopeptides: 1 labo
- En routine, nous enverrions une telle souche d'*E. faecium* multi-résistante en provenance des hémocultures au laboratoire de surveillance UZA Prof. Goossens: 1 labo
- En routine nous testerions et rapporterions le linézolid pour cette souche: 1 labo

Ce dernier laboratoire a testé le linézolid pour l'échantillon M/8788 avec comme résultat: « S ». Deux autres laboratoires ont testé le linézolid et la tigécycline avec comme résultat « S » dans tous les cas.

NB : dans les tableaux suivants, la mention « sensible (« S ») » doit être interprétée comme présence de synergie de la gentamicine à haut niveau avec les β -lactamines et/ou les glycopeptides. Pour des raisons de lisibilité nous l'avons repris dans les tableaux comme « S ».

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	R	172	-	-	172	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Pénicilline ²	R	1	-	-	1	-
Gentamicine	S	161	135	5	13 ³	8 ⁴
Vancomycine	R	173	-	-	172 ⁵	1 ⁶
Teicoplanine	R	136	-	4	131	1 ⁷

¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la pénicilline au lieu de l'ampicilline.

³ Deux laboratoires ont fourni une explication pour leur réponse « R » pour la gentamicine:

- étant donné que le germe est résistant à l'ampicilline, la gentamicine ne peut pas fonctionner en synergie et doit donc être répondu comme R
- l'utilisation des aminoglycosides est basée sur la synergie avec les β -lactamines (qui sont résistantes pour ce germe)

⁴ Huit laboratoires ont fourni une remarque comme résultat final pour la gentamicine:

- un laboratoire a répondu la gentamicine à bas niveau comme « R » mais a fourni une remarque que la gentamicine à haut niveau est « S »
- un laboratoire a répondu la gentamicine à bas niveau comme « R » mais a laissé ouvert le résultat final de la gentamicine à haut niveau
- un laboratoire a répondu « bas niveau de résistance »
- un laboratoire a répondu « absence de résistance à haut niveau »
- un laboratoire a répondu « gentamicine non testé par système Vitek car résistance naturelle de ce germe à cet antibiotique »
- un laboratoire a répondu « SYN-S = synergie possible avec β lactamines et les glycopeptides mais ici cette synergie sera inefficace car β -lactamines R et vanco R teico R »
- un laboratoire a donné un résultat brut « I » pour la gentamicine à bas niveau mais a laissé ouvert le résultat final avec la remarque « Ne disposant pas de gentamicine 250 μ g nécessaire pour la détection du HLR aux

aminosides, nous avons testé la genta 40 µg (sans interprétation). En routine cette souche serait dans tous les cas envoyée à un sous-traitant pour confirmation de l'antibiogramme avec genta 250 µg. »

- un laboratoire a donné un résultat brut « R » pour la gentamicine à bas niveau mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « CMI suggérée »

⁵ Deux laboratoires ont fourni une remarque pour leur réponse « R » pour la vancomycine:

- à faire CMI
- ceci n'est pas le bon dosage et CMI doit être fait dans ce cas

⁶ Un laboratoire a donné un résultat brut « R » mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « CMI suggérée »

⁷ Un laboratoire a donné un résultat brut « R » mais à laissé ouvert le résultat final

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.10. 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 4.2.9.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	21 (22)	10	6	6 – 8	-	-	22	-
Gentamicine								
Charge 10 ¹	5 (5)	10	10	6 – 14	-	-	3 ²	2 ³
Charge 120 ⁴	11 (11)	120	22	17 – 27	8	-	2	1 ⁵
Vancomycine	20 (21)	30	6	6 – 11	-	-	19	2 ⁶
Teicoplanine	4 (4)	30	9	6 – 12	-	-	4	-

¹ Il s'agit de la gentamicine à bas niveau, qui n'est PAS appropriée pour tester la sensibilité des entérocoques

² Dans ce groupe est également repris le résultat d'un laboratoire qui a aussi testé la gentamicine à haut niveau (charge correcte), pour laquelle il a laissé ouvert le résultat final

³ Deux laboratoires ont fourni une remarque comme résultat final pour la gentamicine:

- un laboratoire a répondu la gentamicine à bas niveau comme « R » mais a fourni une remarque que la gentamicine à haut niveau est « S »
- un laboratoire a donné un résultat brut « R » pour la gentamicine à bas niveau mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « CMI suggérée »

⁴ Il s'agit de la gentamicine à haut niveau, qui doit être utilisée pour tester la sensibilité des entérocoques

⁵ Ceci est le laboratoire mentionné ci-dessus qui a répondu « R » pour la gentamicine à bas niveau et a laissé ouvert le résultat final pour la gentamicine à haut niveau

⁶ Un laboratoire a donné un résultat brut « R » mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « CMI suggérée ». Un laboratoire a donné un résultat brut « R » mais pour le résultat final il a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat « R »).

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs (« old ») et avec les nouvelles charges (« 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 4.2.10 a et b.

Tableau 4.2.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline ¹	28 (30)	33	10	6 – 10	-	-	29	1 ²
Amoxicilline	1 (1)	30	18	18 – 18	-	-	1	-
Gentamicine								
Charge 40 ³	7 (7)	40	20	17 – 23	1	1	3	2 ⁴
Charge 250 ⁵	26 (26)	250	27	19 – 32	23	1	1 ⁶	1 ⁷
Charge non mentionnée ⁸	- (1)	-	-	-	1	-	-	-
Vancomycine ^{9, 10}	23 (30)	5	10	6 – 12	-	-	28 ¹¹	1 ¹²
Teicoplanine ¹³								
Charge 30	4 (5)	30	10	9 – 12	-	-	4	1 ¹⁴
Charge 60	9 (9)	60	15	10 – 24	-	-	8	1 ¹⁵
Charge non mentionnée ⁸	- (2)	-	-	-	-	-	2	-

¹ En outre un laboratoire a rapporté un diamètre < 9 mm.

² Un laboratoire a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat « R »).

³ Il s'agit de la gentamicine à bas niveau, qui n'est PAS appropriée pour tester la sensibilité des entérocoques

⁴ Un laboratoire a donné un résultat brut « I » pour la gentamicine à bas niveau mais à laissé ouvert le résultat final avec la remarque « Ne disposant pas de gentamicine 250 µg nécessaire pour la détection du HLR aux aminosides, nous avons testé la genta 40 µg (sans interprétation). En routine cette souche serait dans tous les cas envoyée à un sous-traitant pour confirmation de l'antibiogramme avec genta 250 µg. » Un autre laboratoire a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat « S-synergie »)

⁵ Il s'agit de la gentamicine à haut niveau, qui doit être utilisée pour tester la sensibilité des entérocoques

⁶ Un laboratoire a fourni une explication pour son résultat "R" pour la gentamicine: « étant donné que le germe est résistant à l'ampicilline, la gentamicine ne peut pas fonctionner en synergie et doit donc être répondu comme R »

⁷ Un laboratoire a répondu « bas niveau de résistance »

⁸ Un laboratoire n'a pas mentionné la charge utilisée

⁹ Deux laboratoires ont mentionné d'avoir utilisé la méthode en prédiffusion

¹⁰ En outre un laboratoire a rapporté un diamètre < 9 mm.

¹¹ Un laboratoire a mentionné: « ceci n'est pas le bon dosage et CMI doit être fait dans ce cas »

¹² Un laboratoire a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat « R »).

¹³ Pour la teicoplanine les laboratoires ont également mentionné différentes charges.

¹⁴ Un laboratoire a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat « R »).

¹⁵ Un laboratoire a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat « I »).

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (7)	10	9	9 – 9	-	-	7
Gentamicine							
Charge 10 ¹	1 (1)	10	18	18 – 18	1	-	-
Charge 250 ²	4 (4)	250	27	19 – 30	4	-	-
Charge non mentionnée ³	- (1)	-	-	-	1	-	-
Vancomycine	4 (6)	30	9	9 – 9	-	-	6 ⁴
Teicoplanine	5 (6)	30	9	9 – 10	-	-	6

¹ Il s'agit de la gentamicine à bas niveau, qui n'est PAS appropriée pour tester la sensibilité des entérocoques

² Il s'agit de la gentamicine à haut niveau, qui doit être utilisée pour tester la sensibilité des entérocoques

³ Un laboratoire n'a pas mentionné la charge utilisée

⁴ Un laboratoire a ajouté à son résultat « R » que la CMI doit être déterminée.

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/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/l)
Ampicilline	7	7 x R	7 x ≥256 mg/L
Gentamicine	3	3 x S	3 mg/L; 4 mg/L; 12 mg/L
Vancomycine	32	32 x R	30 x ≥256 mg/L; 1 x 32 mg/L; 1 x « surcroissance complète »
Teicoplanine	22	4 x I 18 x R	3 x 16 mg/L; 1 x 24 mg/L 1 x 16 mg/L; 3 x 24 mg/L; 7 x 32 mg/L; 6 x 48 mg/L; 1 x ≥ 32 mg/L

Les résultats obtenus avec le test MICE sont repris dans le tableau 4.2.5.

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec le test MICE pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/l)
Ampicilline	3	3 x R	3 x ≥256 mg/L
Gentamicine	2	1 x R 1 x *	> 32 mg/L 8 mg/L
Vancomycine	7	7 x R	7 x ≥256 mg/L
Teicoplanine	1	1 x I	16 mg/L

* un laboratoire a répondu « absence de résistance à haut niveau des aminoglycosides »

Un seul laboratoire a utilisé le MIC test strip, à savoir pour la vancomycine (CMI: > 256 mg/L; interprétation R).

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.2.6.

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Vitek 2				Vitek 2 compact						
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	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			S	I	R	*		
Ampicilline	-	-	60	≥32	59 (60)	-	-	35	-	≥32	32 (35)
Gentamicine	55	3	-	*	(58)	30	-	1	1 ¹	*	(33)
Vancomycine	-	-	56	≥32	49 (56)	-	-	36	-	≥32	30 (36)
Teicoplanine	-	-	55	≥32	53 (55)	-	-	36	-	≥32	34 (36)

* Le Vitek ne donne pas de résultat quantitatif mais la réponse SYN-S pour gentamicine et les entérocoques

¹ Un laboratoire a répondu « SYN-S = synergie possible avec β lactamines et les glycopeptides mais ici cette synergie sera inefficace car β lactamines R et vanco R teico R »

Dans la plupart des cas la « valeur CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'ampicilline un laboratoire a mentionné une CMI >256 mg/L avec le Vitek 2
- pour la vancomycine 5 laboratoires ont retrouvé une CMI de 16 mg/L et un laboratoire une CMI ≥64 mg/L avec le Vitek 2; avec le Vitek 2 compact 3 laboratoires ont retrouvé une CMI de 16 mg/L et un laboratoire une CMI ≥256 mg/L
- pour la teicoplanine un laboratoire a mentionné une CMI >320 mg/L avec le Vitek 2

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.2.7. La plupart des laboratoires ont mentionné seulement le résultat (S, I ou R) et n'ont pas mentionné les valeurs obtenues.

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	4
Gentamicine	2	-	1 ¹
Vancomycine	-	-	4
Teicoplanine	-	-	3

¹ Un laboratoire a donné la remarque: « l'utilisation des aminoglycosides est basée sur la synergie avec les β-lactamines (qui sont résistantes pour ce germe) »

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.2.8.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	8	>8	7 (8)
Gentamicine	5	-	3	≤500	5 (8)
Vancomycine	-	-	8	>16	7 (8)
Teicoplanine	-	-	8	>16	7 (8)

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

- pour l'ampicilline, un laboratoire a mentionné une CMI >256 mg/L
- pour la gentamicine, trois laboratoires ont retrouvé une CMI de 8 mg/L et un a mentionné une CMI de 4 mg/L
- pour la vancomycine, un laboratoire a mentionné une CMI >32 mg/L
- pour la teicoplanine, un laboratoire a mentionné une CMI >32 mg/L

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.2.9. et 4.2.10 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.

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	3 (3)	10	6	6 – 6	-	-	3
Pénicilline	1 (1)	6	6	6 – 6	-	-	1
Gentamicine	2 (2)	120	21	20 – 22	2	-	-
Vancomycine	3 (3)	30	6	6 – 6	-	-	3

Tableau 4.2.10.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	6 (7)	33	9	9 – 10	-	-	7	-
Gentamicine								
Charge 40 ¹	1 (1)	40	20	20 – 20	-	-	1	-
Charge 250 ²	5 (5)	250	29	25 – 32	5	-	-	-
Charge non mentionné ³	- (1)	-	-	-	1	-	-	-
Vancomycine	5 (6)	5	9	9 – 9	-	-	5	1 ⁴
Teicoplanine ⁵								
Charge 60	1 (1)	60	13	13 – 13	-	-	-	1 ⁶
Charge 80	1 (1)	80	9	9 – 9	-	-	1	-

¹ Il s'agit de la gentamicine à bas niveau, qui n'est PAS appropriée pour tester la sensibilité des entérocoques. Le résultat vient d'un laboratoire qui a aussi testé la gentamicine à haut niveau (avec l'interprétation « S »)

² Il s'agit de la gentamicine à haut niveau, qui doit être utilisée pour tester la sensibilité des entérocoques

³ Un laboratoire n'a pas mentionné la charge utilisée

⁴ Un laboratoire a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat « R »).

⁵ Pour la teicoplanine les laboratoires ont également mentionné différentes charges.

⁶ Un laboratoire a mentionné un résultat brut « R » mais a laissé ouvert le résultat final

Tableau 4.2.10.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/8788 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	3 (3)	10	6	6 – 9	-	-	3
Gentamicine ¹	- (3)	-	-	-	3	-	-
Vancomycine	3 (3)	10	6	6 – 6	-	-	3
Teicoplanine	1 (1)	30	9	9 – 9	-	-	1

¹ Chacun des trois laboratoires ont mentionné une charge différente; un des trois a mentionné l'utilisation de la gentamicine à bas niveau (interprétation « R ») et à haut niveau (interprétation « S »).

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a fourni la réponse suivante pour la gentamicine: « gentamicine non testé par système Vitek car résistance naturelle de ce germe à cet antibiotique »
- quatre laboratoires ont mentionné le résultat du milieu vancoscreen : trois laboratoires ont répondu « R », dont 1 laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire et les 2 autres ont répondu le résultat de la CMI qu'ils ont effectué (« R ») ; le 4^e laboratoire n'a pas donné de résultat pour le milieu vancoscreen mais a référé au résultat de la CMI qu'il a effectué (« R »)

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Souvent cette modification était en relation avec la remarque qu'ils ont fournie (cfr. le début de ce chapitre); certains laboratoires ont effectué ces modifications en se basant sur l'utilisation de différentes méthodes:

- La gentamicine:
 - o S→I
 - Rosco Neosensitabs haut niveau: 1 labo
 - o S→R
 - Disques en papier haut niveau: 1 labo
 - ATB: 1 labo (avec la remarque: l'utilisation des aminoglycosides est basée sur la synergie avec les β -lactamines (qui sont résistantes pour ce germe))
 - Phoenix: 1 labo
 - o I→R
 - Disques en papier bas niveau: 1 labo
 - Sirscan bas niveau: 1 labo
- La vancomycine:
 - o I→R
 - Vitek 2: 4 labos
 - Vitek 2 compact: 3 labos
- La teicoplanine:
 - o I→R
 - Disques en papier: 1 labo

5.1 Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles formolées ont été envoyés. 169 laboratoires ont participé à l'enquête.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 49.7%. 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/7374:

« Un enfant de 5 ans est en visite en Belgique avec ses parents. Ils consultent un médecin parce que l'enfant a une diarrhée et qu'il se plaint de crampes abdominales. »

P/9839:

« Une fille de 18 mois a une diarrhée depuis 5 jours, une ou 2 selles très molles par jour, sans sang ou pus.

Pour le reste pas beaucoup de plaintes, sauf qu'elle est un peu apathique. Pendant la journée, l'enfant est d'habitude dans une crèche (c'est la fin de l'été, elle a beaucoup joué dehors)

Jusqu'à présent elle n'a pas pris de médicaments.

On est le mardi, le samedi les parents se marieront et le dimanche, ils partiront à eux trois pour 3 semaines au Thaïlande et à Bali. La question est de savoir la cause de la diarrhée, vu que le "support" médical normal ne sera plus possible après leur départ, et si on peut faire quelque chose au cas où les symptômes persistent ou s'aggravent

Le grand-père étant médecin, il insiste sur un examen complet; le biologiste doit utiliser entièrement son expertise. »

L'échantillon P/7374 contenait des œufs d'*Hymenolepis nana*.

L'échantillon P/9839 contenait des oocystes de *Cryptosporidium parvum*.

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 Résultats pour l'échantillon P/7374

Les 169 laboratoires ont fourni 173 réponses. 165 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 4 laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites. Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/7374

Résultat	Nombre
<i>Hymenolepis nana</i>	164
<i>Hymenolepis diminuta</i>	6
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Blastocystis hominis</i>	1
Total	173

Les réponses *Cryptosporidium parvum* sont dues à une inversion des échantillons : ces laboratoires ont en effet répondu *Hymenolepis nana* pour l'échantillon P/9839.

Les combinaisons des parasites, répondues par les laboratoires, sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.2. Combinaisons de 2 parasites répondues pour l'échantillon P/7374

Combinaisons	Nombre
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i>	3
<i>Hymenolepis nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
Total	4

Les stades d'évolution répondues par les laboratoires pour *Hymenolepis nana* sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.3. Stades d'évolution d'*Hymenolepis nana* pour l'échantillon P/7374

Stade d'évolution	Nombre
Œuf	157
Œuf fécondé	1
Œuf non-fécondé	1
Kyste	3
Embryophore	1
Proglottis	1
Total	164

Nous référons au rapport global 2007/2 pour la discussion d'*Hymenolepis nana*.

5.3 Les résultats pour l'échantillon P/9839

Les 169 laboratoires ont fourni 169 réponses. Neuf laboratoires ont répondu "Absence de parasites" et 160 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.31. Résultats pour l'échantillon P/9839

Résultat	Nombre
<i>Cryptosporidium parvum</i>	154
<i>Hymenolepis nana</i>	3
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i>	1
Absence de parasites	9
Total	169

Deux des réponses *Hymenolepis nana* sont dues à une inversion des échantillons : ces laboratoires ont en effet répondu *Cryptosporidium parvum* pour l'échantillon P/7374.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Cryptosporidium parvum* sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 5.3.2. Stades d'évolution de *Cryptosporidium parvum* pour l'échantillon P/9839

Stade d'évolution	Nombre
Oocyste	124
Kyste	23
Œuf	3
Non précisé	2
Forme végétative	1
Sporocyste	1
Total	154

Quelques laboratoires ont fourni une remarque concernant les éventuelles possibilités thérapeutiques:

- 1) Importance de l'hygiène des mains pour ne pas transmettre aux parents 2) Pas de traitement prouvé efficace, si persistance diarrhée >10 j., rovamycine
- La cryptosporidiose est une maladie qui d'habitude guérit sans traitement en 10 à 14 jours chez des personnes avec une immunocompétence normale. Il y a cependant un haut niveau de relaps des symptômes gastro-intestinaux après guérison d'une infection aiguë par *Cryptosporidium*. La maladie est souvent transmise dans des crèches. L'hygiène est très importante pour éviter la transmission. Si un traitement serait nécessaire, la nitazoxazide est conseillé par la littérature pour les enfants de 1 à 11 ans. Ce produit n'est cependant pas enregistré en Belgique
- Une thérapie n'est normalement pas nécessaire. Il faut respecter les mesures hygiéniques. En cas d'attaques aiguës, il faut consulter un médecin.
- Normalement pas de thérapie nécessaire ! surveiller l'hydratation - év. nitazoxanide à emporter en voyage (p.o.100 mg/j. pendant 3 jours) en cas ou les symptômes s'aggravaient sur place (fièvre, crampes, ...)
- Cause: Probablement le *Cryptosporidium* (grand nombre). Ceci est auto-limitant chez les patients immunocompétents. Garantir la réhydratation (genre ORS). Hygiène des mains pour toute la famille afin d'éviter d'éventuelles infections croisées/ré-infections.

- Pas de traitement médicamenteux (diarrhées généralement banales chez les enfants en bas âge); exclure une immunodéficience.
- Ne pas envisager de traitement. Mais attention à déshydratation et donc prévoir solutions et bien hydrater l'enfant
- Traitement symptomatique

5.4. Commentaire concernant *C. parvum*

5.4.1 Introduction

Les *Cryptosporidium* sont avec les *Giardia* la deuxième cause d'infections parasitaires intestinales en Belgique.¹ Il s'agit d'un protozoaire intracellulaire appartenant à la famille des sporozoaires et à la sous-classe des coccidies. Essentiellement localisés au niveau de l'épithélium intestinal des hôtes vertébrés, les oocystes de *Cryptosporidium* sont éliminés dans les matières fécales.²

Le nom *Cryptosporidium* vient du grec et signifie « spores cachées », car il ne peut croître qu'à l'intérieur d'un hôte vivant et ne peut pas se multiplier dans l'environnement.

5.4.2 Epidémiologie

Répandu dans le monde entier, l'incidence varie entre 0,1 et 100 / 100 000 habitants dans les pays industrialisés et peut atteindre jusque 10% chez les enfants diarrhéiques de moins de cinq ans dans les pays en développement; des taux plus élevés ont été observés chez des sujets atteints du SIDA (3 à 20 % aux États-Unis, 50 à 60 % en Afrique et à Haïti).^{3,4}

La transmission est le plus souvent hydrique (animaux - environnement (eaux) - homme), et aussi directement d'animal à l'homme et d'homme à homme.

Des facteurs ont été identifiés comme favorisant la transmission sporadique de la cryptosporidiose humaine tels que: baignades en eau douce (piscine, lac), contact avec un sujet diarrhéique, voyage en pays d'endémie, contact avec des animaux (bovins et ovins surtout), changement des couches des nourrissons, consommation d'eau du robinet.

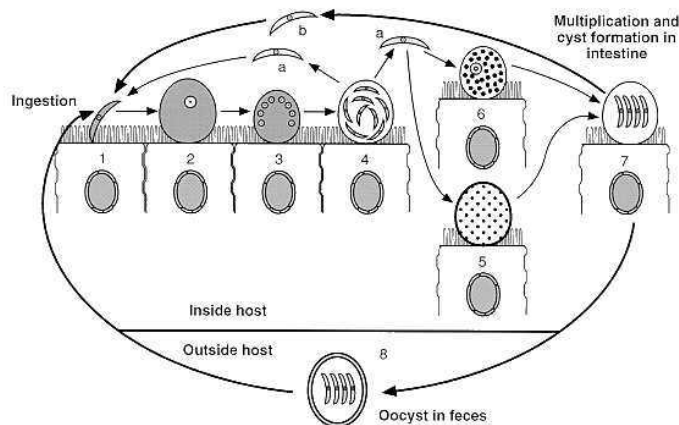
Des épisodes épidémiques d'origine hydrique ont été rapportés dans les pays industrialisés dus aux eaux de distribution publique (épidémie du Milwaukee aux USA en 1993 : 403 000 personnes infectées). Des épidémies ont également été signalées dans les crèches.

5.4.3 Cycle et mode de transmission

Les *Cryptosporidium* infectent les humains, les animaux comme les bovins et moutons, et parfois les chiens, chats, rongeurs et oiseaux. Le mode de transmission est par voie féco-orale, au contact d'une personne ou d'un animal infecté, par ingestion d'eau ou de nourriture contaminée. La dose infectieuse (ID50) est de ≈100 organismes.

Les principales espèces infectant l'homme sont : *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium hominis* (ou *C. parvum* genotype 1). *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium muris* ont également été décrits comme étant responsable de cas d'infection humaine sporadique.

Après ingestion, les sporozoïtes, les trophozoïtes et les mérozoïtes demeurent attachés aux cellules épithéliales (habituellement des cellules intestinales); l'oocyste mature contient 4 sporozoïtes mobiles, plats et allongés (mesurant de 2 à 4 µm x 6 à 8 µm).



Les cycles sexués et asexués s'effectuent à l'intérieur d'un seul hôte. Les oocystes, stade infectant, sont éliminés dans les selles dès l'apparition des premiers symptômes jusqu'à plusieurs semaines après leur disparition. Les spores ou oocystes du *Cryptosporidium* peuvent survivre plusieurs mois dans l'eau (viabilité en milieu humide de 2 à 6 mois).

5.4.4 Symptomatologie

Les principaux symptômes de la cryptosporidiose sont : la diarrhée avec selles aqueuses, les crampes abdominales, la perte d'appétit et les vomissements.⁵

Ils apparaissent généralement entre 1 et 25 jours après l'infection, durent habituellement de une à deux semaines chez les personnes immunocompétentes et ne nécessitent pas de traitement antiparasitaire. Toutefois, un traitement peut s'imposer dans certaines situations cliniques particulières telles qu'enfants en bas âge, sujet immunodéprimé ou diarrhées persistantes. Des symptômes extra intestinaux sont parfois rapportés tel que cholécystite ou pancréatite et ce tant chez les patients immunodéprimés qu'immunocompétents.

L'excrétion des oocystes dure en moyenne de 1 à 15 jours mais peut s'étendre jusqu'à deux mois après la résolution des symptômes.⁶

A ce jour, aucun agent thérapeutique n'a fait la preuve de son efficacité; la cyclosporine empêche la croissance de *Cryptosporidium* in vitro et la paromomycine s'est révélée efficace chez les patients atteints du SIDA. Il n'existe actuellement aucun vaccin efficace contre *Cryptosporidium*.

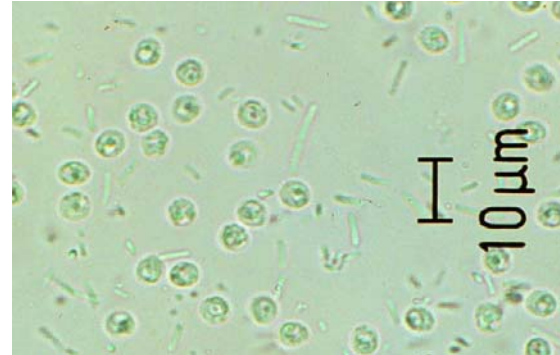
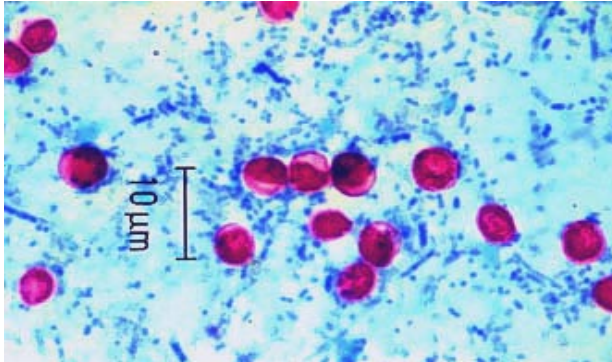
5.4.5 Diagnostic du laboratoire

Bien que la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* ne fasse pas partie de la demande d'examen parasitologique classique des selles, nous recommandons de la réaliser systématiquement en cas de telle demande d'analyse. Il existe un remboursement spécifique pour cette analyse.

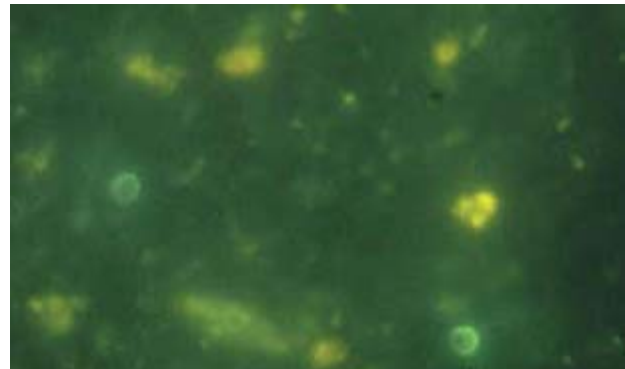
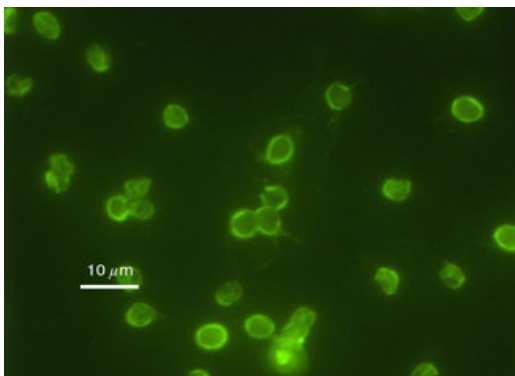
Le diagnostic de routine est basé sur la mise en évidence des oocystes dans les échantillons de selles ou dans les prélèvements obtenus par biopsies intestinales soit par examen microscopique soit par recherche antigénique.⁵

L'examen microscopique est réalisé après concentration des selles. La technique diphasique (ex: technique de Ritchie) et la technique de flottation (ex : technique de Faust) sont les méthodes de concentration les plus souvent recommandées.

Bien que les oocystes puissent être reconnus sans coloration, le diagnostic microscopique se fait essentiellement par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz qui met en évidence les oocystes sous forme d'éléments arrondis ou ovalaires de 4 à 6 μm de diamètre en fonction des espèces, colorés en rouge vif sur le fond bleu du contre colorant.



La coloration à base d'auramine-phénol (AP) est également utilisée. Les oocystes apparaissent de forme ronde ou ovoïde et présentent une fluorescence vert pomme brillante caractéristique sur un fond sombre.



Plus récemment d'autres techniques diagnostiques ont été développées tel que les techniques de détection immunologique. Différents kits commerciaux sont disponibles et ont des niveaux de sensibilité comparable. Des échantillons fécaux concentrés ou non peuvent être utilisés selon le nombre d'oocystes dans l'échantillon.

En comparaison avec les méthodes de coloration conventionnelles, ces tests de détections basés sur les anticorps (immunofluorescence et ELISA) apparaissent comme coûteux, en considérant qu'ils aient un seuil de détection comparable.

Plus récemment, des méthodes de détection des acides nucléiques ont été développées. Celles-ci sont souvent plus sensibles que les tests microscopiques et immunologiques pour

détecter les oocystes fécaux. Ces techniques sont souvent restreintes à des laboratoires spécialisés et peuvent être utiles dans le cadre d'épidémie.

Les tests sérologiques (la plupart basés sur des ELISA) n'ont que peu d'intérêt diagnostique et sont à réserver aux études épidémiologiques.

O. Vandenberg et A. Dediste, CHU Saint-Pierre & Institut Jules Bordet, Bruxelles

References

1. Ducoffre G. (2009) Annual report on the surveillance of infectious diseases by the sentinel laboratories 2007 and the epidemiological trends 1983-2006. Brussels: Institute of Public Health; IPH/EPI reports Nr 2009 – 020.
2. Kosek M, Alcantara C, Lima AA, Guerrant RL. Cryptosporidiosis: an update. *Lancet Infect Dis.* 2001;1:262-269.
3. Snelling WJ, Xiao L, Ortega-Pierres G, Lowery CJ, Moore JE, Rao JR, Smyth S, Millar BC, Rooney PJ, Matsuda M, Kenny F, Xu J, Dooley JS. Cryptosporidiosis in developing countries. *J Infect Dev Ctries.* 2007 ;1:242-56
4. Yoder JS, Harral C, Beach MJ; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Cryptosporidiosis surveillance - United States, 2006-2008. *MMWR Surveill Summ.* 2010;59:1-14.
5. Chalmers RM, Davies AP. Minireview: clinical cryptosporidiosis. *Exp Parasitol.* 2010;124:138-46.
6. Jokipii L, Jokipii AM. Timing of symptoms and oocyst excretion in human cryptosporidiosis. *N Engl J Med.* 1986;315:1643-7.

6.1. La rubéole

6.1.1. Les échantillons

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Rubella, S/9769 et S/9770. L'interprétation devrait être effectuée sur l'ensemble des 2 échantillons.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

« Souhait de grossesse chez une patiente vaccinée. Les échantillons S/9769 et S/9770 ont été prélevés respectivement 1 et 2 mois après la vaccination. »

Les résultats et interprétations attendues étaient :

S/9769: IgG positif, IgM positif

S/9770: IgG positif, IgM négatif

Interprétation:

IgG IgG positif dans les 2 échantillons

IgM IgM positif un mois après vaccination et IgM négatif dans le deuxième prélèvement (code 005)

6.1.2. Les participants

163 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse : ils ont effectué 327 tests sur l'échantillon S/9769 et 316 sur l'échantillon S/9770.

Nous avons également reçu les résultats d'un laboratoire d'une firme qui a déterminé les IgG sur les 2 échantillons avec la trousse recomBlot Rubella IgG (Mikrogen, distributeur Euribel); ils ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/9769 et un résultat positif pour l'échantillon S/9770.

La répartition des tests effectués par laboratoire est présentée dans le tableau 6.1.1.

Tableau 6.1.1. La répartition des tests effectués par laboratoire.

Tests effectués	N labos S/9769	N labos S/9770
Ac totaux seuls	1	1
IgG seuls	12	12
IgG + IgM	136	147
IgG + 2 IgM	14	3
Total	163	163

Sur l'échantillon S/9769 ont donc été effectués: 1 détermination des anticorps totaux, 162 déterminations des IgG et 164 déterminations des IgM. Sur l'échantillon S/9770 ont respectivement été effectués 1 détermination des anticorps totaux, 162 IgG et 153 IgM.

6.1.3. Réactifs utilisés

6.1.3.1. Pour les anticorps totaux

Le laboratoire qui a effectué ce test a utilisé la trousse Rubella Hemagglutination Inhibition Test de la compagnie Siemens.

6.1.3.2. Pour les IgG

Tableau 6.1.2. Réactifs utilisés pour la détermination des IgG anti-rubéole.

Fabricant	Réactif	S/9769	S/9770
Abbott	AxSYM Rubella IgG	29	29
	Architect Rubella IgG	28	28
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl Rubella IgG	12	12
	Access Rubella IgG	9	9
bioMérieux	VIDAS Rub IgG II	24	24
	VIDIA Rub IgG	3	3
DiaSorin	Liaison Rubella IgG	27	27
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Rubella IgG	2	2
Roche	Modular Rubella IgG	4	4
	Cobas Rubella IgG	3	3
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgG	12	12
	Immulate Rubella IgG	8	8
	RubeHIT	1	1
Total		162	162

6.1.3.3. Pour les IgM

Tableau 6.1.3. Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti- rubéole.

Fabricant	Trousse	S/9769	S/9770
Abbott	AxSYM Rubella IgM	26	25
	Architect Rubella IgM	25	25
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl Rubella IgM	12	12
	Access Rubella IgM	8	8
bioMérieux	VIDAS Rub IgM	35	26
	VIDIA Rub IgM	4	3
DiaSorin	Liaison Rubella IgM	27	27
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Rubella IgM	2	2
Roche	Modular Rubella IgM	3	3
	Cobas Rubella IgM	3	3
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgM	12	12
	Immulate Rubella IgM	7	7
Total		164	153

6.1.4. Résultats

6.1.4.1. Anticorps totaux

Le laboratoire qui a effectué ce test a obtenu des résultats positifs pour les 2 échantillons.

6.1.4.2. IgG

Un laboratoire a obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/9769 et un résultat positif pour l'échantillon S/9770. Un deuxième laboratoire a obtenu un résultat borderline pour l'échantillon S/9769 et un résultat positif pour l'échantillon S/9770.

Tous les 160 autres laboratoires ont obtenu des résultats positifs pour les 2 échantillons.

Vous trouverez un aperçu des interprétations des IgG dans le tableau 6.1.4.

Tableau 6.1.4. Aperçu des interprétations pour les IgG anti-rubéole pour l'enquête 2010/1.

Interprétation	N labos
IgG positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination (code 005)	111
IgG positives un mois après vaccination et augmentation deux mois après vaccination	1
IgG positives dans les 2 échantillons. Pas d'augmentation significative du titre (code 006)	42
IgG positives dans les 2 échantillons. Selon les directives I/LA-6 12.3.4 et 6.5 du CLSI la firme doit indiquer si le réactif peut être utilisé pour détecter une augmentation significative. Notre méthode n'est pas validée à ce but.	1
IgG borderline positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination (code 004)	6
IgG négatives un mois après vaccination et IgG positives deux mois après vaccination (code 003)	1
Total	162

Le tableau ci-dessous reprend la relation entre les trousseuses utilisées, les résultats qualitatifs des 2 échantillons, les résultats quantitatifs et les interprétations. Toutes les unités sont exprimées en IU/mL.

Tableau 6.1.5. La relation entre les trousseuses utilisées, les résultats qualitatifs des 2 échantillons, les résultats quantitatifs et les interprétations pour les anticorps IgG anti-Rubella.

Trousse	Résultat qualitatif S/9769	Résultat qualitatif S/9770	Résultat quantitatif S/9769 Médiane ¹ (range)	Résultat quantitatif S/9770 Médiane ¹ (range)	Interprétation	N labos
Architect Rubella IgG	Positif	Positif	25.5 (20.0 – 31.8)	36.3 (30.9 – 64.6)	Code 5	16
			28.2 (23.8 – 37.4)	36.3 (33.0 – 42.8)	Code 6	12
AxSYM Rubella IgG	Positif	Positif	11.4 ² 34.2 (23.0 – 59.6)	46.3 ² 57.1 (39.5 – 69.6)	Code 4 Code 5	1 20
			36.5 (30.0 – 44.9)	48.2 (38.2 – 60.5)	Code 6	6
			37.3 ² 28.3 ²	55.9 ² 46.8 ²	“Autre” ³ “Autre” ⁴	1 1
Access Rubella IgG	Positif	Positif	31.6 (27.4 – 39.0)	46.9 (34.0 – 51.0)	Code 5	5
			32.5 (27.6 – 39.9)	47.9 (34.7 – 55.7)	Code 6	4
Unicel DxI Rubella IgG	Positif	Positif	30.0 ² 34.5 (29.4 – 44.1)	50.0 ² 58.2 (45.2 – 73.5)	Code 4 Code 5	1 6
			37.0 (34.0 – 54.8)	45.0 (43.3 – 66.8)	Code 6	5
VIDAS Rub IgG II	Positif	Positif	34.5 (26.0 – 40.0)	58.0 (45.0 – 70.0)	Code 5	18
			38.0 (30.0 – 59.0)	63.0 (44.0 – 117.0)	Code 6	6
VIDIA Rub IgG	Positif	Positif	26 et 41 ⁵ 29 ²	39 et 75 43 ²	Code 5 Code 6	2 1
Liaison Rubella IgG	Négatif	Positif	0 ²	43.0 ²	Code 3	1
	Borderline	Positif	15.0 ²	28.0 ²	Code 4	1
	Positif	Positif	14.2 (12.5 – 15.3)	28.7 (23.9 – 33.7)	Code 4	3
			17.3 (13.7 – 20.2)	29.5 (21.7 – 36.5)	Code 5	20
		18.0 et 22.3 ⁵	21.0 et 28.8 ⁵	Code 6	2	
Vitros Immunodiagnos- tics Products Rubella IgG	Positif	Positif	22 et 21.1 ⁵	42 et 43.3 ⁵	Code 5	2
Cobas Rubella IgG	Positif	Positif	30.0 ² 34.4 et 42.0 ⁵	50.0 ² 58.1 et 67.0 ⁵	Code 5 Code 6	1 2
Modular Rubella IgG	Positif	Positif	31.0 et 30.4 ⁵ 28.2 et 38.3 ⁵	56.0 et 56.3 ⁵ 52.2 et 68.5 ⁵	Code 5 Code 6	2 2
ADVIA Centaur Rubella IgG	Positif	Positif	51.6 (48.6 – 67.4)	145.1 (125.0 – 228.2)	Code 5	12
Immulate Rubella IgG	Positif	Positif	21.2 (20.1 – 24.5)	38.7 (35.0 – 40.9)	Code 5	7
RubeHIT	Positif	Positif	22 ² 1/128 ²	35 ² 1/128 ²	Code 6 Code 6	1 1

¹ Sauf si indiqué autrement

² Un seul participant a donné cette interprétation pour la combinaison des résultats qualitatifs en question

³ Interprétation: « IgG positives un mois après vaccination et augmentation deux mois après vaccination »

⁴ Interprétation: « IgG positives dans les 2 échantillons. Selon les directives I/LA-6 12.3.4 et 6.5 du CLSI la firme doit indiquer si le réactif peut être utilisé pour détecter une augmentation significative. Notre méthode n'est pas validée à ce but »

⁵ Deux seuls participants ont donné cette interprétation pour la combinaison des résultats qualitatifs en question

6.1.4.3. Cut-off pour l'immunité (IgG)

Le paragraphe suivant montre par appareil un aperçu des différents seuils utilisés par les laboratoires pour la détermination de l'immunité. Certains laboratoires ont mentionné le seuil pour l'immunité, d'autres ont mentionné le seuil et la zone grise.

Architect Rubella IgG

20 labos:	≥ 10 IU/mL
1 labo:	10 iu/mL (zone grise : 5-9,9 IU/mL)
1 labo:	> 10 iu/mL (zone grise: 5-10 IU/mL)
1 labo:	≥ 12 iu/mL (zone grise: 5-12 IU/mL)
3 labos:	≥ 15 IU/mL
2 labos:	pas de réponse

AxSYM Rubella IgG

1 labo:	5.0 IU/mL
1 labo:	> 9.9 IU/mL
23 labos:	≥ 10 IU/mL
1 labo:	≥ 10 IU/mL (zone grise: 5,0-9,9 IU/mL)
1 labo:	10 iu/mL (5,0 - 10,0 iu/mL)
1 labo:	> 15 IU/mL
1 labo:	pas de réponse

Access Rubella IgG

1 labo:	> 14 IU/mL
7 labos:	≥ 15 IU/mL
1 labo:	15 IU/mL (10-15 IU/mL: borderline)

Unicel DXi Rubella IgG

1 labo:	5 IU/mL (limite: 5 -10 IU/mL)
2 labos:	10 IU/mL
9 labos:	≥ 15 IU/mL

VIDAS Rub IgG II

2 labos:	> 10 IU/mL
20 labos:	≥ 15 IU/mL
2 labos:	> 15 IU/mL (zone grise: 10 -15 IU/mL)

VIDIA Rub IgG

1 labo:	≥ 10 IU/mL
1 labo:	≥ 10 IU/mL entre 5-10: pas d'immunité (♂); pas d'immunité, vaccination conseillée (♀)
1 labo:	≥ 15 IU/mL

Liaison Rubella IgG

1 labo:	5 IU/mL
1 labo:	9 IU/mL
10 labos:	≥ 10 IU/mL
1 labo:	10 IU/mL (zone grise: 7 -9 IU/mL)
9 labos:	≥ 11 IU/mL
1 labo:	11 IU/mL (à interpréter avec prudence entre 10 et 15 IU/mL)
1 labo:	> 12 IU/mL

2 labos: > 15 IU/mL
1 labo: 20 IU/mL (cut-off clinique)

Vitros Immunodiagnosics Products Rubella IgG

2 labos: 15 IU/mL

Cobas Rubella IgG

2 labos: ≥ 10 IU/mL
1 labo: > 15 IU/mL (zone grise: 10 -15 IU/mL)

Modular Rubella IgG

4 labos: ≥ 10 IU/mL

ADVIA Centaur Rubella IgG

1 labo: > 5 IU/mL
8 labos: ≥ 10 IU/mL
2 labos: 10 iu/mL (zone grise: 5,0 - 10,0 iu/mL)
1 labo: > 20 IU/mL (zone grise: 10 -20 IU/mL)

Immulate Rubella IgG

7 labos: ≥ 10 IU/mL
1 labo: 15 IU/mL

RubeHIT

1 labo: > 1/16

6.1.4.4. IgM

Les résultats des IgM sont repris dans le tableau 6.1.6.

Tableau 6.1.6.: Résultats pour les IgM anti-rubéole pour l'enquête 2010/1

Résultat S/9769	Résultat S/9770	N labos
Positif	Positif	2
Positif	Borderline	8
Positif ¹	Borderline /Négatif ²	1
Positif ³	Négatif ⁴	80
Positif/Borderline ²	Borderline /Négatif ²	1
Positif/Borderline ²	Négatif	5
Borderline ⁵	Négatif	44
Négatif	Négatif	9
Total		150

¹ Un laboratoire a obtenu le résultat « positif » pour S/9769 avec les 2 techniques qu'il a utilisées.

² Un certain nombre de laboratoires ont obtenu des résultats différents avec les différentes techniques qu'ils ont utilisées.

³ Y compris 6 laboratoires qui ont obtenu le résultat « positif » avec les différentes techniques qu'ils ont utilisées.

⁴ Y compris 1 laboratoire qui a obtenu le résultat « négatif » avec les différentes techniques qu'il a utilisées.

⁵ Y compris 1 laboratoire qui a obtenu le résultat « borderline » avec les différentes techniques qu'il a utilisées.

Le tableau 6.1.7. reprend par trousse l'aperçu la combinaison des résultats obtenus pour les 2 échantillons.

Tableau 6.1.7. Aperçu par trousse la combinaison des résultats obtenus pour les 2 échantillons pour les IgM anti-Rubella.

Trousse	Résultat S/9769	Résultat S/9770	N labos
Architect Rubella IgM	Positif	Négatif	1
	Borderline	Négatif	23
	Négatif	Négatif	1
AxSYM Rubella IgM	Borderline	Négatif	18
	Négatif	Négatif	7
Access Rubella IgM	Positif	Négatif	6
	Borderline	Négatif	1
	Négatif	Négatif	1
Unicel Dxl Rubella IgM	Positif	Négatif	12
VIDAS Rub IgM	Positif	Borderline	4
	Positif	Négatif	22
VIDIA Rub IgM	Positif	Négatif	3
	Positif	Borderline	1
Liaison Rubella IgM	Positif	Négatif	18
	Borderline	Négatif	8
	Positif	Négatif	2
Vitros Immunodiagnosics Products Rubella IgM	Positif	Négatif	3
Cobas Rubella IgM	Positif	Négatif	3
Modular Rubella IgM	Positif	Négatif	3
ADVIA Centaur Rubella IgM	Positif	Positif	1
	Positif	Négatif	11
Immulite Rubella IgM	Positif	Positif	1
	Positif	Borderline	5
	Positif	Négatif	1

Vous trouverez un aperçu des interprétations des IgM dans le tableau 6.1.8.

Tableau 6.1.8. Aperçu des interprétations pour les IgM anti-rubéole pour l'enquête 2010/1.

Interprétation	N labos
IgM positives un mois après vaccination et IgM négatives dans le deuxième prélèvement (code 005)	107
IgM borderline un mois après vaccination et IgM négatives dans le deuxième prélèvement	21
IgM positives un mois après vaccination et IgM négatives dans le deuxième prélèvement (code 005) Ou IgM positives dans les 2 échantillons mais avec une diminution significative pour le deuxième échantillon (code 004)	1
IgM positives dans les 2 échantillons mais avec une diminution significative pour le deuxième échantillon (code 004)	6
IgM positives un mois après vaccination et IgM dans le deuxième prélèvement	1
IgM négatives dans les 2 échantillons (code 001)	14
Total	150

Le tableau ci-dessous reprend la relation entre les résultats techniques obtenus pour les 2 échantillons et l'interprétation.

Tableau 6.1.9. relation entre les résultats techniques obtenus pour les 2 échantillons et l'interprétation pour les IgM anti-Rubella.

Résultat S/9769	Résultat S/9770	Interprétation	N labos
Positif	Positif	Code 004	2
Positif	Borderline	Code 004	4
		Code 005	2
		Code 004 of 005	1
		Pos. 1 ^e échantillon; border 2 ^e échantillon	1
Positif	Borderline /Négatif	Code 005	1
Positif	Négatif	Code 005	80
Positif/Borderline	Borderline /Négatif	Code 005	1
Positif/Borderline	Négatif	Code 005	5
Borderline	Négatif	Code 001	5
		Code 005	18
		Border 1 ^e échantillon; nég. 2 ^e échantillon	21
Négatif	Négatif	Code 001	9

6.1.4.5. Cut-off pour la positivité des IgM

Le paragraphe suivant montre par appareil un aperçu des différents seuils utilisés par les laboratoires pour la détermination de la positivité des IgM. Certains laboratoires ont mentionné le seuil pour la positivité, d'autres ont mentionné le seuil et la zone grise. Un certain nombre des laboratoires ayant utilisé 2 techniques, n'ont mentionné le seuil que pour une des techniques utilisées.

Architect Rubella IgM (index)

1 labo: 0.6
2 labos: ≥ 1.20
5 labos: zone grise: 1.2-1.6; positif: ≥ 1.6
14 labos: ≥ 1.6
1 labo: index/cut off $\geq 1,33$ (borderline index/cut off ≥ 1 et $< 1,33$)
2 labos: pas de réponse

AxSYM Rubella IgM (index)

4 labos: zone grise: 0.6-0.8; positif: ≥ 0.8
19 labos: ≥ 0.8
1 labo: 1
1 labo: index calibration
1 labo: pas de réponse

Access Rubella IgM (AU/mL)

3 labos: zone grise: 10-15 AU/mL; positif: > 15 AU/mL
3 labos: ≥ 15 AU/mL
1 labo: faible positif: 15-45 AU/mL; positif: > 45 AU/mL
1 labo: ratio: ≥ 1.6

Unicel DXi Rubella IgM (AU/mL)

1 labo: 9
2 labos: 10 AU/mL
2 labos: zone grise: 10-15 AU/ml; positif: > 15 AU/ml
7 labos: ≥ 15 AU/mL

VIDAS Rub IgM (index)

1 labo: 0.75
1 labo: 0.79
1 labo: 0.80
23 labos: ≥ 1.2
3 labos: zone grise: 0.8-1.2; positif: ≥ 1.2
6 labos: pas de réponse

VIDIA Rub IgM (index)

2 labos: ≥ 1.0
1 labo: ≥ 1.20
1 labo: pas de réponse

Liaison Rubella IgM (AU/mL)

1 labo: 10 AU/mL
1 labo: 19 AU/mL
5 labos: ≥ 20 AU/mL
1 labo: zone grise: 20-25 AU/mL; positif: ≥ 25 AU/mL
18 labos: ≥ 25 AU/mL
1 labo: 30 AU/mL

Vitros Immunodiagnosics Products Rubella IgM (index)

1 labo: > 1
1 labo: zone grise: 0.8-1.2; positif ≥ 1.2

Cobas Rubella IgM (index)

1 labo: 1.0
1 labo: zone grise: 0.800-0.999; positif ≥ 1.0
1 labo: pas de réponse

Modular Rubella IgM (index)

1 labo: ≥ 0.8
1 labo: ≥ 1.0
1 labo: zone grise: 0.8-1.0; positif ≥ 1.0

ADVIA Centaur Rubella IgM (index)

1 labo: > 0.9
10 labos: ≥ 1.0
1 labo: zone grise: 0.8-1.0; positif: > 1.0

Immulate Rubella IgM (index)

1 labo: > 0.9
1 labo: 1.0
5 labos: ≥ 1.1

6.1.5. Commentaire sur les résultats de l'enquête

Les 2 échantillons provenaient d'une même patiente, 1 et 2 mois après vaccination. Une interprétation globale des 2 échantillons était demandée.

Les résultats d'IgG n'ont pas posé de problème à l'exception d'un laboratoire qui a rendu un résultat négatif pour le premier sérum. Tous les laboratoires ont rendu un résultat positif pour le 2^{ème} sérum.

Concernant l'interprétation, la majorité des laboratoires (72 %) ont répondu « IgG positives (ou borderline) 1 mois après vaccination et augmentation significative 2 mois après vaccination ». 26 % des laboratoires ont considéré qu'il n'y avait pas d'augmentation significative du taux d'IgG.

Dans la littérature, une augmentation significative est définie par une augmentation d'au moins 4 fois le titre entre 2 échantillons. Cette définition est applicable aux méthodes semi-quantitatives qui utilisent des dilutions en série telles que fixation du complément, immunofluorescence,... Pour les tests immunoenzymatiques, qu'ils soient exprimés en index, unités arbitraires, unités internationales, etc., il n'existe pas de consensus à ce sujet. Certains auteurs proposent un doublement du signal (densité optique, unités de luminescence,...) comme significatif. Une autre approche serait d'utiliser le coefficient de variation intra-essai de la technique et de considérer une différence d'au moins 3 écarts-type entre 2 échantillons comme significative. Quelque soit le critère utilisé, il est impératif de tester les échantillons dans la même série pour évaluer une différence entre ceux-ci.

Une remarque importante doit être faite en ce qui concerne le cut-off choisi par les laboratoires : on observe une grande diversité dans les valeurs choisies, y compris parmi les utilisateurs d'une même trousse. Cette situation n'a guère évolué par rapport à l'enquête de 2008. Comme déjà mentionné dans le rapport de 2008, un cut-off différent de celui préconisé par le fabricant peut être utilisé, mais il doit être validé.

Le seuil d'immunité a été revu et publié en 1996 par le Rubella Subcommittee of the National Committee for Clinical Laboratory Standards qui a proposé 10 UI/mL (LP. Skendzel. Rubella Immunity, defining the level of protective antibody. American Journal of Clinical Pathology 1996 ;106(2) : 170-174). Quasi tous les articles dans la littérature évaluant la protection vis à vis de la rubéole utilise ce seuil de 10 UI/mL.

Concernant les résultats d'IgM, la majorité des laboratoires (94 %) ont trouvé un résultat positif ou borderline pour le premier échantillon. Pour le 2^{ème} échantillon, la majorité des laboratoires (92 %) ont rendu un résultat négatif. Il s'agissait de sérums provenant d'une patiente vaccinée avec une faible et courte réponse en IgM, il n'est donc pas étonnant d'observer une certaine diversité dans les réponses.

Les participants ont donné logiquement l'interprétation correspondant à leurs résultats donc « IgM positives (ou borderline) 1 mois après vaccination et IgM négatives dans le 2^{ème} prélèvement » pour la majorité d'entre eux.

La même remarque que pour les IgG peut être faite : les cut-offs choisis par les laboratoires varient pour une même technique. Il est par exemple étonnant de constater qu'un cut-off de 10 UA/mL est utilisé dans un laboratoire alors que la firme préconise 25 UA/mL.

Les différences de réponse entre des laboratoires utilisant la même trousse s'expliquent en partie par l'utilisation de cut-offs différents.

D'une manière générale, lorsque l'on se trouve face à un résultat d'IgM positif, il faut demander un second prélèvement 2 à 3 semaines plus tard, ainsi que des renseignements cliniques et le contexte dans lequel le test a été demandé. En effet, après vaccination, la majorité (85-95 % selon les études) des personnes développent des anticorps de type IgM et ceux-ci peuvent persister plus de 6 mois dans certains cas. Il est donc utile d'exclure en priorité cette possibilité. D'autre part, une rubéole est peu probable chez l'adulte en dehors de tout symptôme ou de notion de contact avec un cas de rubéole. Donc, si dans ce contexte, on observe une stabilité des IgG et des IgM 3 semaines plus tard, on peut raisonnablement exclure une infection récente.

ML Delforge, ULB-Erasme

6.2. Syphilis

6.2.1. Les échantillons

Il y avait 2 échantillons lyophilisés, S/8683 et S/8684, pour effectuer la détermination des anticorps anti-syphilis.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

Echantillons S/8683 et S/8684

Un médecin travaillant dans un centre de référence pour MST reçoit en consultation consécutivement 2 hommes, qui mentionnent tous les 2 avoir des contacts sexuels libres. Le premier patient (échantillon S/8683) vient pour un check-up et n'a pas de plainte. Le deuxième patient (échantillon S/8684) consulte pour une éruption cutanée généralisée et mentionne avoir eu un ulcère génital trois semaines auparavant. L'ulcère a guéri spontanément.

Les interprétations attendues étaient:

S/8683: Interprétation: Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3)

S/8684: Interprétation: Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2).

6.2.2. Les participants

169 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse : 165 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 laboratoires étrangers (France) et 2 laboratoires de firmes. Ces 4 derniers ne sont pas repris dans le traitement de l'enquête. Les laboratoires de firmes ont utilisé les techniques suivantes: Treponema pallidum ELISA IgG, Treponema pallidum ELISA IgM, Treponema pallidum FTA-Abs IgG, Treponema pallidum FTA-Abs IgM, Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgG, Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgM (Euroimmun (distributeur Biognost)), RecomWell Treponema IgG, RecomWell Treponema IgM, RecomBlot Treponema IgG, RecomBlot Treponema IgM (Mikrogen (distributeur Euribel)).

Sur l'échantillon S/8683 les 165 laboratoires ont effectué 354 tests (1 labo a répondu les IgG et IgM séparément pour une même trousse), à savoir 202 tests tréponémiques et 152 tests non-tréponémiques.

11 laboratoires ont effectué 1 test, 128 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests, 7 laboratoires ont effectué 4 tests et 1 laboratoire a effectué 5 tests.

Sur l'échantillon S/8684 ils ont effectué 355 tests (1 labo a répondu les IgG et IgM séparément pour une même trousse), à savoir 203 tests tréponémiques et 152 tests non-tréponémiques.

11 laboratoires ont effectué 1 test, 128 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests, 6 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires 5 tests.

Les tableaux suivants donnent un aperçu des types de tests qui ont été utilisés:

Tableau 6.2.1. Aperçu global des types et des combinaisons des tests utilisés (nombre de laboratoires).

Nombre de tests	Type de tests	S/8683	S/8684
1 test exécuté	1 x tréponémique	8	8
	1 x non-tréponémique	3	3
2 tests exécutés	1 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	124	124
	2 x tréponémique	4	4
3 tests exécutés	2 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	18	18
4 tests exécutés	2 x tréponémique + 2 x non-tréponémique	1	1
	3 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	4	4
	4 x tréponémique	2	1
5 tests exécutés	4 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	1	1
	5 x tréponémique	-	1
Total		165	165

Tableau 6.2.2. Résumé des types et des combinaisons des tests utilisés (nombre de laboratoires).

Type test	S/8683	S/8684
Un test: tréponémique	8	8
Un test: non-tréponémique	3	3
Combinaison de méthodes tréponémiques + non-tréponémiques	148	148
Combinaison de méthodes tréponémiques seulement	6	6
Total	165	165

6.2.3. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.2.3. Réactifs utilisés dans la détermination de la sérologie de la syphilis

Fabricant	Trousse	S/8683	S/8684
Abbott	Murex Syfacard-R (RPR)	36	36
	Architect Syphilis TP	23	23
	Murex ICE Syphilis	1	1
	Murex VDRL Carbon antigen	1	1
Alldiag	TPHA Check	1	1
	VDRL Check/RPR	1	1
Axis Shield (distributeur Lucron)	Microsyph TPHA200	5	4
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	14	14
	VDRL Cardioliipin Ag	1	1
Biokit	RPR-Reditest	9	9
	Syphagen TPHA	5	5
	Syphagen TPHA Auto	1	1
bioMérieux	RPR-nosticon II	24	24
	Trepo-Spot IF	11	11
	RPR Slide Test	1	1
BioRad	TPHA 200	2	2
	RPR100	1	1
	Syphilis EIA TAb II	1	1
Biosystems (distributeur Medigal)	RPR Carbon	8	8
Diagast	SypalCB	1	1
Diamed	ID-Pagia Syphilis Antibody Test	2	2
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	24	25
	ETI-Treponema Plus	1	1
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Syphilis screening recombinant	7	7
	Chorus Treponema IgG	2	2
	Chorus Treponema IgM	2	2

Euroimmun (distributeur Biognost)	Treponema pallidum ELISA IgG	3	3
	Treponema pallidum ELISA IgM	1	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgG	1	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgM	-	1
	WB Treponema pallidum IgG	1	1
	WB Treponema pallidum IgM	1	1
Fujirebio (distributeur Lameris)	Serodia TPPA	81	81
Innogenetics	Inno-Lia Syphilis Score	3	3
	Inno TPHA (Olympus)	2	2
Inverness Medical	DETERMINE Syphilis TP	1	1
Omega	Immutrep RPR	7	7
	Immutrep TPHA	1	1
	Immutrep Carbon antigen	1	1
Oxoïd	TPHA test	1	1
	VDRL test kit	1	1
	VDRL Carbon antigen	1	1
Plasmatec (distributeur Forlab)	RPR Test kit	9	9
	TPHA Test kit	3	3
	VDRL Carbon antigen	2	2
Randox	RPR Card Test	1	1
Servibio (distributeur Biognost)	Servitex TPHA	2	2
Siemens	Cellognost Syphilis H Combipack	5	5
	Enzygnost Syphilis	3	3
	Immulate 2000 Syphilis screen	3	3
	VDRL Cardiolipin Ag	2	2
Spinreact	RPR Carbon	30	30
	TPHA	1	1
Viramed	Virablot G	1	1
	Virablot M	1	1
Total		354	355

6.2.4. Résultats

6.2.4.1. L'échantillon S/8683

6.2.4.1.1. Tests non-tréponémiques

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.4.

Tableau 6.2.4. Résultats pour les tests non-tréponémiques pour l'échantillon S/8683.

Résultat	N labos
Négatif	77
Positif	50
Borderline	23
Positif/négatif ¹	1
Total	151

¹ Le laboratoire ayant utilisé 2 trousse non-tréponémiques a obtenu des résultats différents pour ces 2 trousse.

Toutes les trousse avec plusieurs utilisateurs ont donné des résultats négatifs, borderline et positifs.

6.2.4.1.2. Tests tréponémiques

a) Les laboratoires qui n'ont déterminé que les anticorps « totaux »: l'aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.5.

Tableau 6.2.5. Résultats pour les tests tréponémiques (anticorps totaux) pour l'échantillon S/8683.

Résultat	N labos
Positif	155
Négatif	1
Total	156

Les laboratoires qui ont utilisé plus d'une trousse ont obtenu des résultats positifs pour toutes ces trousse.

b) Un laboratoire a uniquement déterminé les IgG et les IgM avec un résultat positif pour les IgG et un négatif pour les IgM.

c) Les laboratoires qui ont déterminé aussi bien les anticorps « totaux » que les IgG et les IgM: l'aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.6.

Tableau 6.2.6. Résultats des laboratoires qui ont déterminé les anticorps totaux et les IgG et IgM pour l'échantillon S/8683.

Résultat	N labos
Ac totaux: positif IgG: positif IgM: négatif	4
Ac totaux: positif IgG: négatif IgM: négatif	1
Total	5

d) 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 6.2.7.

Tableau 6.2.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests tréponémiques pour l'échantillon S/8683 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect Syphilis TP (index)	23	24.05	21.85	30.62	1.00
Microsyph TPHA200 (titre)	4	1/1280 – 1/5120	1/640	1/5000	Résultat positif dans la « cupule test »
Syphagen TPHA (titre)	5	1/5120	1/1280	1/10480	Résultat positif dans la « cupule test »
Trepo-Spot IF (titre) ¹	7	1/100	1/5	1/200	Sera diluted 1/5 should be confirmed by a quantitative test. Sera diluted 1/50 correspond to the pathological cut-off generally accepted
Liaison Treponema Screen (index)	24	59.0	37.8	70.0	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Chorus Syphilis screen recombinant (index) ²	6	8.4	4.8	24.6	1.2
Serodia-TPPA (titre) ³	71	1/5120	1/1	1/163480	Résultat positif dans la « cupule test »
Cellognost Syphilis H Combipack (titre)	5	1/5120	1/1560	1/10240	Résultat positif dans la « cupule test »

¹ En outre 1 laboratoire a répondu: $\geq 1/1280$

² En outre 1 laboratoire a répondu: > 12

³ En outre 1 laboratoire a répondu $\geq 1/640$, un labo > 1280 , un labo $> 1/5120$, un labo $> 1/20000$, un labo $> 1/20480$ et 2 labos $> 1/40960$

6.2.4.1.3. Interprétations cliniques

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3) ».

Les interprétations cliniques sont reprises dans le tableau 6.2.8.:

Tableau 6.2.8. Interprétations cliniques pour l'échantillon S/8683

Interprétation	Nombre
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3)	109
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3): syphilis traitée dans le passé?→RPR négatif ¹	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3), soit syphilis traité il y a x années soit syphilis tout débutante ²	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3) mais contrôle souhaité après 2-3 semaines afin de pas rater une syphilis (VDRL ralenti +) ³	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2). ⁴	31
Présence d'anticorps, possibilité d'une infection non-active: les résultats du passé + échantillon de suivi sont nécessaires ⁵	1
Probablement anticorps suggestifs d'infection non-active. Cependant le titre très élevé du TPHA, même en l'absence de RPR devrait conduire en une surveillance clinique rapprochée. ⁶	1
1)Syphilis traitée 2) Syphilis latente ⁷	1
Syphilis traitée ⁸	1
Cicatrice sérologique d'une syphilis ancienne ⁹	1
Possibilité d'infection non-active/traitée:→demander un échantillon de contrôle ¹⁰	1
TPHA positif avec RPR (faiblement) positif: l'interprétation dépend d'un traitement effectué auparavant ou non + les résultats antérieures; au cas où il n'y aurait pas eu de traitement: interprétation 002 ¹¹	1
Présence d'anticorps spécifiques (TPHA) à titre élevé avec un VDRL à un taux faible. Profil sérologique compatible avec une syphilis ancienne évolutive (syphilis latente précoce ou tardive) ou avec une syphilis ancienne traitée (notion de prises d'antibiotiques?) avec anticorps résiduels. Exclure un VDRL faussement positif (infections virales, bactériennes ou parasitaires, maladies auto-immunes) ou encore coïnfection avec le VIH (faux positif dans les tests non tréponémiques) ¹²	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ou non active →tests supplémentaires nécessaires ¹³	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ou non active à confirmer sur base de l'anamnèse, de données cliniques (traitement antérieur), de test complémentaires: Western Blot IgG et IgM et du suivi sérologique ¹⁴	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ou non-active ¹⁵	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection. Afin d'exclure toute interférence analytique, faire un test de confirmation (en accord avec médecin demandeur) ¹⁶	1
Phase primaire de la syphilis ou infection ancienne après traitement? Contrôle souhaité après 4 à 6 semaines ¹⁷	1
Un prélèvement de contrôle dans 2-3 semaines est souhaité (pour trancher entre une cicatrice sérologique et une infection latente). ¹⁸	1
Une syphilis dont la guérison est à apprécier en fonction de la négativité du VDRL que nous ne faisons pas. ¹⁹	1
Les examens cliniques et anamnestiques sont absolument nécessaires + échantillon de suivi après 3 semaines ²⁰	1
Présence d'anticorps , confirmation nécessaire. ²¹	1
Présence d'anticorps , l'interprétation dépend du passé du patient ²²	1
L'échantillon est envoyé pour confirmation ²³	1
Borderline ²⁴	1
Absence d'anticorps (code 001) ²⁵	2
Total	165

- ¹ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: négatif.
- ² Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: négatif.
- ³ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: négatif.
- ⁴ Tous ces laboratoires ont obtenu un résultat positif pour le test tréponémique.; 25 ont obtenu un résultat positif pour le test non-tréponémique et 3 un résultat borderline pour le test non-tréponémique. Trois laboratoires n'ont effectués que des tests tréponémiques.
- ⁵ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ⁶ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: négatif.
- ⁷ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: négatif.
- ⁸ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: borderline.
- ⁹ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: négatif.
- ¹⁰ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: borderline.
- ¹¹ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ¹² Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ¹³ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ¹⁴ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ¹⁵ Résultats: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué.
- ¹⁶ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ¹⁷ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: borderline.
- ¹⁸ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: borderline.
- ¹⁹ Résultats: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué.
- ²⁰ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ²¹ Résultats: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué.
- ²² Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.
- ²³ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: borderline.
- ²⁴ Résultats: test non-tréponémique: borderline, pas de test tréponémique effectué.
- ²⁵ Résultats: test non-tréponémique: négatif, pas de test tréponémique effectué.

NB Le laboratoire qui a obtenu un résultat négatif pour le test tréponémique, a obtenu un résultat positif pour le test non-tréponémique et a donné comme interprétation: « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3) »

Quelques laboratoires ont fourni une remarque:

Pour la code 3:

- cicatrice sérologique, syphilis traitée, syphilis décapitée par traitement AB
- ou faux positif
- s'assurer que le patient a déjà eu un traitement adéquat. Sinon traiter comme une syphilis latente.

Pour la code 2:

- ou en traitement (cf. feedback médecin prescripteur)
- suivre les titres

6.2.4.2. L'échantillon S/8684

6.2.4.2.1. Tests non-tréponémiques

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.9.

Tableau 6.2.9. Résultats pour les tests non-tréponémiques pour l'échantillon S/8684.

Résultat	N labos
Positif	148
Borderline	2
Négatif	1
Total	151

Les laboratoires qui ont utilisé plus d'une trousse ont obtenu des résultats positifs pour toutes ces trouses.

Pour les trouses 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 6.2.10.

Tableau 6.2.10. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests non- tréponémiques pour l'échantillon S/8684 pour les trouses les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Murex Syfacard-R (titre)	34	1/8	1/2	1/80	Résultat positif dans la « cupule test »
Macro-Vue RPR Card Test (titre) ¹	11	1/8	1/4	1/16	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR Reditest (titre)	9	1/8	1/4	1/16	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR-nosticon II (titre)	22	1/8	1/4	1/32	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR-Carbon (titre)	7	1/8	1/2	1/8	Résultat positif dans la « cupule test »
Immutrep RPR (titre)	5	1/8	1/4	1/10240	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR Test kit (titre)	8	1/4 – 1/8	1/4	1/8	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR carbon (titre)	25	1/4	1/2	1/32	Résultat positif dans la « cupule test »

¹ En outre 1 laboratoire a répondu: $\geq 1/512$

6.2.4.2.2. Tests tréponémiques

a) Les laboratoires qui n'ont déterminé que les anticorps « totaux »: l'aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.11.

Tableau 6.2.11. Résultats pour les tests tréponémiques (anticorps totaux) pour l'échantillon S/8684.

Résultat	N labos
Positif	148
Borderline	3
Positif/négatif ¹	2
Négatif	3
Total	156

¹ Deux laboratoires ayant utilisé 2 trousse non-tréponémiques ont obtenu des résultats différents pour ces 2 trousse. Les 22 autres laboratoires qui ont utilisé plus d'une trousse ont obtenu des résultats positifs pour toutes ces trousse.

b) Un laboratoire a uniquement déterminé les IgG et les IgM avec un résultat borderline pour les IgG et un positif pour les IgM.

c) Les laboratoires qui ont déterminé aussi bien les anticorps « totaux » que les IgG et les IgM: l'aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau 6.2.12.

Tableau 6.2.12. Résultats des laboratoires qui ont déterminé les anticorps totaux et les IgG et IgM pour l'échantillon S/8684.

Résultat	N labos
Ac totaux: positif IgG: positif IgM: positif	4
Ac totaux: positif IgG: négatif IgM: positif	1
Total	5

d) 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 6.2.13.

Tableau 6.2.13. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests tréponémiques pour l'échantillon S/8684 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect Syphilis TP (index)	24	10.53	9.58	11.38	1.00
Syphagen TPHA (titre)	6	320	80	2560	Résultat positif dans la « cupule test »
Trepo-Spot IF (titre) ¹	7	1/80	1/5	1/200	Sera diluted 1/5 should be confirmed by a quantitative test. Sera diluted 1/50 correspond to the pathological cut-off generally accepted
Liaison Treponema Screen (index)	24	12.5	7.3	14.9	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Chorus Syphilis screen recombinant (index)	7	2.4	1.7	3.0	1.2
Serodia-TPPA (titre) ²	73	1/2560	1/4	1/10480	Résultat positif dans la « cupule test »

¹ En outre 1 laboratoire a répondu: $\geq 1/1280$

² En outre 1 laboratoire a répondu $\geq 1/640$, un labo >1280 , un labo $>1/5120$, un labo $>1/10240$ et 2 labos $>1/40960$

6.2.4.2.3. Interprétations cliniques

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2) ».

Les interprétations cliniques sont reprises dans le tableau 6.2.14:

Tableau 6.2.14. Interprétations cliniques pour l'échantillon S/8684

Interprétation	Nombre
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2)	155
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2) Ou Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3) ¹	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3) ²	2
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3): Les examens cliniques et anamnestiques sont absolument nécessaires + échantillon de suivi après 3 semaines ³	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ou non active →tests supplémentaires nécessaires ⁴	1
Présence d'anticorps, il nous est impossible de déterminer si l'infection est active ou non-active, les examens complémentaires sont effectués à l'autre site de notre laboratoire ⁵	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ou non-active ⁶	1
Présence d'anticorps, confirmation nécessaire. ⁷	1
Possibilité d'une séroconversion. A contrôler TPHA-RPR dans 2 semaines. ⁸	1
Positif ⁹	1
Total	165

¹ Résultats: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué

² Un de ces 2 laboratoires a obtenu un résultat positif pour le test tréponémique et un résultat borderline pour le test non-tréponémique. L'autre laboratoire a uniquement effectué un test tréponémique avec un résultat borderline.

³ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.

⁴ Résultats: test tréponémique positif, test non-tréponémique: positif.

⁵ Résultats: test non-tréponémique: positif, pas de test tréponémique effectué.

⁶ Résultats: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué

⁷ Résultats: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué

⁸ Résultats: test tréponémique borderline, test non-tréponémique: positif.

⁹ Résultats: test non-tréponémique: positif, pas de test tréponémique effectué.

Le laboratoire qui a obtenu un résultat négatif pour le test non-tréponémique (mais un résultat positif pour le test tréponémique) et les trois laboratoires qui ont obtenu un résultat négatif pour le test tréponémique (mais un résultat positif pour le test non-tréponémique) ont tous donné l'interprétation: « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2) ».

Quelques laboratoires ont fourni une remarque pour le code 2:

- sur base de la clinique
- suivre les titres

6.2.5 Commentaires sur les résultats de l'enquête

Echantillon S/8683

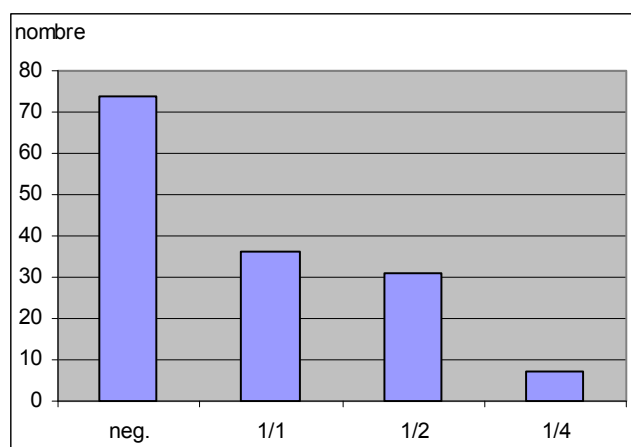
Ce patient se présentait pour un check-up et n'avait pas de plaintes.

Les résultats attendus étaient: faible positif pour les tests non-tréponémiques et nettement positif pour les tests tréponémiques.

L'interprétation attendue était: « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active ».

Les tests tréponémiques n'ont posé aucun problème. Cent-cinquante-cinq des 156 laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux ont donné une réponse correcte.

Le résultat des tests non-tréponémiques était faible positif. Ce test a donné des résultats différents. Toutes les trousse avec plusieurs utilisateurs ont donné aussi bien des résultats négatifs, borderline que positifs. La figure 1 montre la distribution des tests non-tréponémiques. Les 6 résultats sans mention du titre mais avec l'interprétation borderline ont été traduits dans un titre 1/1. Le résultat positif sans mention du titre n'a pas été pris en compte; il en est de même pour les résultats 1/10, 1/800 et 1/20480.



La plupart des résultats peuvent être regroupés dans les catégories suivantes:

Nombre	Test non-tréponémique	Interprétation
74	négatif	infection non-active
41	borderline ou positif <1/4	infection non-active
21	borderline ou positif <1/4	infection active
4	résultat positif de 1/4	infection active

Un nombre limité de laboratoires ne donnent pas assez d'informations pour pouvoir les inclure dans un de ces 4 groupes. Il est à noter que: 2 laboratoires ont considéré un résultat de 1/4 borderline et 1 laboratoire a trouvé un titre 1/4 et donne comme interprétation « infection non-active » (ces réponses ne sont pas repris dans le tableau).

Tous les laboratoires, sauf un, ayant déterminé les anticorps IgG et IgM ont retrouvé la présence des IgG et l'absence des IgM et ont conclu qu'il s'agissait d'une infection non-active.

Dans ce cas il pourrait s'agir d'un patient qui a eu une syphilis environ un an auparavant et qui a été traité. Etant donné son comportement à risque la possibilité existe qu'il s'agît d'une nouvelle infection ; donc s'il existe une doute à ce sujet, il est utile d'examiner un échantillon 1-2 semaines plus tard.

Le nombre de commentaires ajoutés par les laboratoires au résultat de cette EEQ illustre bien la difficulté d'établir un diagnostic sur seule base des résultats de laboratoire chez des patients à risque. Afin de faire une interprétation complète correcte, les données cliniques, une anamnèse complète et les résultats des examens cliniques anciens sont nécessaire et il peut être nécessaire d'examiner un échantillon de suivi.

Echantillon S/8684

Ce patient consulte pour une éruption cutanée généralisée et mentionne avoir eu un ulcère génital trois semaines auparavant. L'ulcère a guéri spontanément. Il s'agit d'une image clinique qui est très suggestive pour une infection syphilitique récente. Aussi bien les tests tréponémiques que non-tréponémiques étaient clairement positifs et l'interprétation n'a donc pas posé grand problème.

Tous les laboratoires, ayant déterminé les anticorps IgG et IgM ont retrouvé la présence des IgM. Tous sauf un ont également retrouvé la présence des IgG.

La plupart des laboratoires ont choisi « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ».

Un échantillon de suivi n'est pas vraiment nécessaire pour établir le diagnostic dans cette situation. Les patients qui ont un comportement à risque sont testés tous les 3 mois. Ce suivi permet d'évaluer l'effet du traitement et de rechercher une éventuelle réinfection.

Nous référons aux rapports des enquêtes 2006/1 et 2008/3 pour de plus amples discussions de la sérologie syphilitique.

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_down/microbiologie/2006/1F_MICROBIO.pdf

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_down/microbiologie/2008/3F_MICROBIO.pdf

Marjan Van Esbroeck, IMT

7.1. Les échantillons

Le 22 février 2010, trois échantillons ont été envoyés pour la recherche de l'antigène de la malaria. Ces échantillons étaient des sangs prélevés sur EDTA, conservés à -70°C et donc hémolysés ; cependant la conservation à -70°C n'influçait pas la stabilité des antigènes de *Plasmodium*.

Les échantillons nous étaient fournis par le centre de référence, l'Institut de Médecine tropicale (à Anvers).

Les résultats attendus (basé sur les résultats du centre de référence) étaient:

P/10085 *P. falciparum* (une infection mixte avec *P.vivax*, *P.ovale* ou *P.malariae* ne peut être exclue).

P/10086 Négatif

P/10087 *P.vivax* ou *P.ovale* ou *P.malariae* ou une infection mixte avec *P.vivax* et/ou *P.ovale* et/ou *P.malariae*

7.2. Les participants

128 laboratoires ont participé à cette enquête. Pour les échantillons P/10085 et P/10086, 126 laboratoires ont renvoyé 1 résultat et 2 laboratoires ont renvoyé 2 résultats (1 labo qui, en routine utilise toujours 2 tests (le centre de référence) et 1 labo qui a utilisé un deuxième trousse en phase de test). Pour l'échantillon P/10087, 126 laboratoires ont renvoyé 1 résultat, 1 laboratoire a envoyé 2 résultats (le labo qui a utilisé un deuxième trousse en phase de test) et 1 laboratoire a renvoyé 3 résultats (le centre de référence: les 2 tests qu'il utilise toujours et un 3^e test qui est utilisé en cas de suspicion ou confirmation de *P.vivax*). Au total 130 tests ont donc été effectués pour les échantillons P/10085 et P/10086 et 131 tests pour l'échantillon P/10087.

7.3. Réactifs utilisés

Un aperçu des troussees utilisées est présenté dans le tableau 7.3.1.

Tableau 7.3.1. Troussees utilisés pour les tests rapides de malaria.

Fabricant	Trousse	P/10085	P/10086	P/10087
AccessBio (distributeur Herman Diagnostics)	Care Start Malaria	12	12	12
All Diag (distributeur International Medical)	Palutop 4+	26	26	26
	Palutop	1	1	1
Cypress	Malaria Total Quick Test	1	1	1
DiaMed	OptiMAL	2	2	2
	OptiMAL-IT	21	21	21
Inverness Medical	Binax Now malaria	54	54	54
Standard Diagnostics (distributeur Lucron)	S.D. Bioline Malaria Ag P.f./Pan	12	12	12
	SD P.vivax(FK70)	-	-	1
Ultimed	Malaria (plasm. falciparum) - test cassette	1	1	1
Total		130	130	131

7.4 Résultats

Les tableaux ci-dessous reprennent les réponses que les laboratoires transmettraient en routine au clinicien. Pour faciliter la lisibilité de ces tableaux, nous avons regroupé sous une même description les réponses semblables.

a. Echantillon P/10085

Tableau 7.3.2. Résultats par laboratoire pour l'échantillon P/10085.

Résultat	N labos
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> (une infection mixte avec <i>P. vivax</i> , <i>ovale</i> ou <i>malariae</i> ne peut pas être exclue). ¹	15
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> (une infection mixte avec <i>P. ovale</i> ou <i>malariae</i> ne peut pas être exclue).	1
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> (une infection mixte ne peut pas être exclue).	30
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> (une infection mixte ne peut pas être exclue). Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis est conseillé.	11
Positif <i>Plasmodium</i> spp. et positif <i>Plasmodium falciparum</i> .	3
<i>Plasmodium falciparum</i> Ag : Positif - <i>Plasmodium vivax</i> Ag : négatif.	1
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> .	37
Positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> . Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis est conseillé.	5
<i>Plasmodium</i> Ag Positif	2
<i>Plasmodium</i> Ag Positif. Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis est conseillé pour identification de l'espèce; éventuellement envoi au centre de référence.	6
Positif.	8
Positif, confirmation par microscopie et/ou envoi au centre de référence sont conseillés.	3
<i>Plasmodium</i> sp (<i>vivax</i> , <i>ovale</i> , <i>malariae</i>).	1
<i>Plasmodium</i> sp (<i>vivax</i> , <i>ovale</i> , <i>malariae</i>). Confirmation par le centre de référence est conseillée.	1
Trousse 1: test d'antigène positif pour <i>Plasmodium falciparum</i> . Possibilité d'infection mixte de <i>Plasmodium falciparum</i> avec un <i>P. ovale</i> , <i>P. malariae</i> ou <i>P. vivax</i> . Trousse 2: <i>P. falciparum</i> . ²	1
Réponse sur base de la microscopie.	2
Pas de réponse. ³	1
Total	128

¹ Le centre de référence a donné la même réponse pour les 2 trousses.

² Le laboratoire ayant utilisé 2 trousses a donné une réponse différente pour ces 2 trousses.

³ Un laboratoire a bien donné les résultats des différentes « bandes » mais n'a pas fourni la réponse qu'il donnerait en routine au clinicien.

b. Echantillon P/10086

Tableau 7.3.3. Résultats par laboratoire pour l'échantillon P/10086.

Résultat	N labos
Négatif. ¹	62
Négatif. Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis est conseillé.	10
Négatif. Un nouveau prélèvement au moment d'un pic de fièvre est conseillé.	2
Négatif. Un nouveau prélèvement suivant la clinique est conseillé.	3
Négatif pour antigène de la malaria/Plasmodium.	33
Négatif pour antigène de la malaria/Plasmodium. Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis est conseillé.	8
NÉGATIF: Un test rapide négatif n'exclut pas une malaria. Le résultat dépend de la parasitémie, une goutte épaisse négative et la suspicion clinique de la malaria (patient provenant d'une région endémique). Un traitement et un échantillon de contrôle après 8 -12 heures suivi d'un contrôle par jour sont conseillés jusqu'à ce que l'on obtienne au moins trois échantillons de contrôle négatifs.	1
Trousse 1: test d'antigène négatif pour <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i> , <i>Plasmodium malariae</i> et <i>Plasmodium vivax</i> . Trousse 2: Négatif. ²	1
Négatif pour <i>P. falciparum</i> et <i>P. vivax</i> .	2
Négatif pour <i>P. falciparum</i> .	1
<i>Plasmodium falciparum</i> . Si images au microscope typiques. Si non rajoute du commentaire « la possibilité d'une infection mixte par plasmodium vivax, ovale, malariae ne peut être exclue ».	1
Réponse sur base de la microscopie.	2
Pas de réponse. ³	2
Total	128

¹ Le centre de référence a donné la même réponse pour les 2 trousses.

² Le laboratoire ayant utilisé 2 trousses a donné une réponse différente pour ces 2 trousses.

³ Deux laboratoires ont bien donné les résultats des différentes « bandes » mais n'ont pas fourni la réponse qu'ils donneraient en routine au clinicien.

c. Echantillon P/10087

Tous les résultats négatifs pour cet échantillon ont été obtenus avec la trousse Binax Now malaria. Cette trousse n'a fourni aucun résultat positif: les laboratoires ayant utilisé cette trousse mais qui ont renvoyé au résultat de la microscopie pour le résultat au clinicien ou qui ont laissé ouvert ce résultat, ont également obtenu des "bandes" négatives avec cette trousse.

Tableau 7.3.4. Résultats par laboratoire pour l'échantillon P/10087.

Résultat	N labos
Trousses de routine: Résultat positif pour <i>P.vivax</i> ou <i>P.ovale</i> ou <i>P.malariae</i> ou une infection mixte avec <i>P.vivax</i> et/ou <i>P.ovale</i> et/ou <i>P.malariae</i> . Trousse spécifique pour <i>P. vivax</i> : Positif pour <i>Plasmodium vivax</i> . ¹	1
Trousse 1: test d'antigène négatif pour <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i> , <i>Plasmodium malariae</i> et <i>Plasmodium vivax</i> . Trousse 2: Positif pour <i>Plasmodium vivax</i> . ²	1
Positif pour <i>Plasmodium vivax</i> .	25
Positif pour <i>Plasmodium vivax</i> . Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis et/ou l'envoi au laboratoire de référence sont conseillés.	5
Positif pour <i>Plasmodium non-falciparum</i> .	20
Positif pour <i>Plasmodium non-falciparum</i> . Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis et/ou l'envoi au laboratoire de référence sont conseillés.	9
Positif pour <i>Plasmodium species</i> .	6
Positif pour <i>Plasmodium species</i> . Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis et/ou l'envoi au laboratoire de référence sont conseillés.	3
Positif.	3
Positif. Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis et/ou l'envoi au laboratoire de référence sont conseillés.	1
Négatif.	21
Négatif. Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis est conseillé.	2
Négatif. Un nouveau prélèvement au moment d'un pic de fièvre est conseillé.	1
Négatif. Un nouveau prélèvement suivant la clinique est conseillé.	1
Négatif pour antigène de la malaria/ <i>Plasmodium</i> .	20
Négatif pour antigène de la malaria/ <i>Plasmodium</i> . Un contrôle de la goutte épaisse et/ou du frottis est conseillé.	3
NÉGATIF: Un test rapide négatif n'exclut pas une malaria. Le résultat dépend de la parasitémie, une goutte épaisse négative et la suspicion clinique de la malaria (patient provenant d'une région endémique). Un traitement et un échantillon de contrôle après 8 -12 heures suivi d'un contrôle par jour sont conseillés jusqu'à ce que l'on obtienne au moins trois échantillons de contrôle négatifs.	1
Négatif pour <i>P. falciparum</i> .	1
Réponse sur base de la microscopie.	2
Pas de réponse ³ .	2
Total	128

¹ Le centre de référence a donné la même réponse pour les 2 trousses utilisées en routine et a confirmé la présence de *P. vivax* avec la trousse destiné à la recherche de cette espèce.

² Le laboratoire ayant utilisé 2 trousses a donné une réponse différente pour ces 2 trousses.

³ Deux laboratoires ont bien donné les résultats des différentes « bandes » mais n'ont pas fourni la réponse qu'ils donneraient en routine au clinicien.

7.5. Réponses au questionnaire

126 laboratoires ont répondu au questionnaire. Certains laboratoires n'ont pas répondu à toutes les questions. Les tableaux ci-dessous reprennent les réponses des laboratoires.

Quelques laboratoires ont fourni une remarque:

- En dehors des heures de bureaux, le biologiste de garde peut être contacté pour avis. Pendant les heures de bureaux, on demande toujours le conseil du biologiste.
- Le test a été introduit tout d'abord pour rassurer les assistants qui réalisent les tests pendant les gardes de nuit et de week-end. Cependant en pratique courante il est une bonne aide au diagnostic d'espèce même si le diagnostic ne repose pas seulement sur les données du test. Nous utilisons également la PCR pan malarique pour déterminer l'espèce dans les cas difficiles avec suspicion d'infection mixte ou pauci parasitaires.

a. Nombre de demandes pour diagnostic de malaria en 2009

Nombre de demandes	N labos
0 – 10	31
11 – 20	30
21 – 100	49
101 – 500	15
> 500	1
Total	126

b. Moment d'exécution des tests

Moment	N labos
Aussi bien durant qu'en dehors des heures de bureau	108
Seul durant les heures de bureau	17
Pas de réponse	1
Total	126

c. Tests effectués pendant les heures de bureau

Tests effectués	N labos
La microscopie et un test rapide malaria, dans tous les cas	94
La microscopie et un test rapide malaria, dans tous les cas pour le premier échantillon. Pour les échantillons de suivi nous n'effectuons que la microscopie	5
La microscopie dans tous les cas suivi d'une confirmation en cas de doutes par un test rapide	18
La microscopie et/ou un test rapide malaria selon la demande du clinicien	3
Un test rapide dans tous les cas, suivi en cas de doutes ou de résultat positif par un examen microscopique	2
Toujours microscopie et test rapide malaria uniquement sur demande du clinicien	2
Microscopie et/ou test rapide. Confirmation par biologie moléculaire	1
Sur demande du clinicien ou sur image suspecte à la formule sanguine	1
Total	126

d. Tests effectués en dehors des heures de bureau

Onze des 17 laboratoires ayant répondu ne pas effectuer de tests en dehors des heures de bureaux, ont répondu « Pas d'application » à la question des tests effectués en dehors des heures de bureau. Le centre de référence a répondu « Les patients sont référés à l'hôpital universitaire ». Il est à noter que 5 laboratoires qui ont répondu « seul pendant les heures de bureau » à la question 2, ont répondu les tests qu'ils effectuent en dehors des heures de bureau.

Tests effectués	N labos
La microscopie et un test rapide malaria, dans tous les cas	60
La microscopie et un test rapide malaria, dans tous les cas pour le premier échantillon. Pour les échantillons de suivi nous n'effectuons que la microscopie	3
Un test rapide dans tous les cas, suivi en cas de doutes ou de résultat positif par un examen microscopique	15
Un test rapide malaria uniquement	13
La microscopie dans tous les cas suivi d'une confirmation en cas de doutes par un test rapide	8
Test rapide; si positif: la microscopie en dehors des heures de bureau; si négatif: la microscopie pendant les heures de bureau	5
Toujours microscopie et test rapide malaria uniquement sur demande du clinicien	2
La microscopie uniquement	2
La microscopie et/ou un test rapide malaria selon la demande du clinicien	1
Toujours test rapide malaria suivi de la microscopie si demandé en urgence par le clinicien	1
Toujours test rapide malaria, si demande par le clinicien suivi par la microscopie, sinon microscopie le lendemain	1
Test rapide en dehors des heures de bureau suivi d'un examen microscopique pendant les heures de bureau	1
Test rapide malaria; si positif avec demande du clinicien : rappel du biologiste de garde pour la microscopie	1
Pas d'application	11
Les patients sont référés à l'hôpital universitaire	1
Pas de réponse	1
Total	126

e. Le nombre de techniciens de laboratoire qui effectuent les tests rapides malaria

Nombre de techniciens	N labos
0 – 5	22
6 – 10	36
11 – 15	27
16 – 20	22
> 20	17
Le biologiste effectue les tests rapides	1
Pas de réponse	1
Total	126

f. Nombre de tests rapides effectués en 2009

Nombre de test rapides effectués	N labos
0 – 10	38
11 – 20	33
21 – 100	44
101 – 500	9
> 500	1
Pas de réponse	1
Total	126

g. Effet de tests rapides malaria sur le diagnostic

Les tests rapides	N labos
ont amélioré notre diagnostic de malaria	97
n'ont eu aucune influence sur notre diagnostic de malaria	23
Pas de réponse	6
Total	126

h. Facilité d'utilisation

Nous avons exprimé les scores par trousse.

Trousse	Score	N labos
Binax Now malaria	10	5
	9	14
	8.5	1
	8	24
	7.5	1
	7	5
	6	1
	2	1
	Néant Pas de réponse	1
Care Start Malaria	10	3
	9	4
	8	5
Malaria (plasm. Falciparum) – test cassette	9	1
Malaria Total Quick Test	8	1
Optimal	7	1
	6	1
Optimal-IT	9	4
	8	12
	7.5	1
	7	3
	6	1
Palutop	8	1
Palutop 4+	10	6
	9	11
	8	2
	7	5
S.D. Bioline Malaria Ag P.f./Pan	10	2
	9	7
	8	2
SD P.vivax(FK70)	9	1

i. Sensibilité

Nous avons exprimé les réponses par trousse.

Binax Now malaria	Sensibilité	N labos
	100%	7
	100% ; pas de microscopie positive en cas de test rapide négatif	1
	100% prise de sang veineuse selon l'insert de la trousse	1
	Prise de sang veineuse : 100% et piqûre au doigt : 98.8%	1
	Proche de 100% par rapport à la microscopie, sur ponction veineuse (données fournisseur). Non évaluée au laboratoire.	1
	99.7%	1
	99%	1
	98.8% (CI : 94-100%) selon les données du fabricant	1
	98%	1
	95.3%	11
	Selon la parasitémie : >5000 : 99.7%, 1000-5000 : 99.2, 500-1000 :89.2%, 100-500 : 89.2%, 0-100 : 53.9%, Total : 95.3%	3
	95.3% (93-97 chez 95%CI)	1
	95.3% (général) avec 95% BI = 93-95%	1
	95.3% par rapport à la microscopie pour le P. falciparum, 68.9% par rapport à la microscopie pour le P. vivax	1
	Globalement 95.3% avec variations selon la parasitémie. (si parasitémie plus basse, sensibilité plus basse (+/- 53%).	1
	Insert : 95,3% (93-97%) propre valeur : 85%	2
	95-100%	1
	95%	2
	P. falciparum 94 – 100 % / P. vivax 73 – 87 % / Source : insert de la trousse	1
	93-97%	3
	> 90 %	1
	83%	1
	>70%	1
	> 70 % certainement à notre avis en fonction du taux de parasites (100% notice du kit !)	1
	68.9% (insert)	1
	Pas observé de faux négatifs en 2009	1
	Pas assez de données	1
	Pas de réponse	5
Total trousse		54
Care Start Malaria	Sensibilité	N labos
	100%	3
	100 % nous n'avons jamais eu de test douteux ni erroné	1
	98%	1
	96%	1
	>95%	1
	Pas assez de tests positifs pour déterminer le pourcentage spécifique du labo	1
	Pas mentionné dans l'insert	1
	Pas de réponse	3
Total trousse		12
Malaria (plasm. Falciparum) – test cassette	Sensibilité	N labos
	>99%	1
Total trousse		1

Malaria Total Quick Test	Sensibilité	N labos
	95%	1
Total trousse		1

Optimal	Sensibilité	N labos
	100 % mais trop peu d'échantillons positifs pour effectuer des statistiques	1
	Sensibilité général de la trousse Optimal pour le diagnostic de P. falciparum = 92%	1
Total trousse		2

Optimal-IT	Sensibilité	N labos
	100%	1
	? 100%	1
	Aucune discordance entre microscope et test rapide observée sur +/- 20 échantillons (100%)	1
	99%	1
	95.3%	1
	84-92%	2
	75%	1
	0.002%	1
	0.001-0.002%	4
	Selon Diamed 0.001 – 0.002 %	1
	Insert : niveau de parasitémie de 0.001-0.002% (50-100 parasites par µL). Notre expérience limitée : tous les frottis microscopiques positifs ont été confirmé par test rapides ; il n'y a eu aucun résultat faux positif	1
	Parasitémie détectée de 0.001 à 0.002% = 50-100 parasites par µL.	1
	Pas assez de cas positifs pour nous faire une opinion. Selon insert du kit détecte des niveaux de parasitémie de 0.001 – 0.002 % (50-100 parasites/µl sang)	1
	50 – 100 parasites/µL sang	1
	Pas de réponse	3
Total trousse		21

Palutop	Sensibilité	N labos
	Nous n'avons pas encore eu de cas positifs	1
Total trousse		1

Palutop 4+	Sensibilité	N labos
	100%	2
	98.8%	1
	98.8% selon l'insert	2
	Sensibilité mentionnée 98 %, limite de détection >= 0.1 %	1
	95%	2
	On n'a pas assez de cas pour déterminée la sensibilité en interne, on considère la sensibilité donné par la firme (>95%)	1
	90%	2
	86%	1
	80%	1
	<0.1% hématies parasitées	1
	Trop peu d'échantillons pour déterminer une sensibilité	2
	Pas mentionné	1
	Pas de réponse	7
Total trousse		24

S.D. Bioline Malaria Ag P.f./Pan	Sensibilité	N labos
	100%	1
	100% si >50 parasites/microlitre (selon fabricant)	1
	99.7%	4
	99.7% selon l'insert	1
	95%	1
	93.8% si parasitémie 1 à 50 parasites/µl de sang	1
	100% si parasites >50/µl	
	Trop peu d'échantillons positifs pour donner une réponse fiable	1
	Pas de réponse	1
Total trousse		11

SD P.vivax(FK70)	Sensibilité	N labos
	Sensibilité générale de SD P.vivax pour le diagnostic de P.vivax : 88.0%	1
Total trousse		1

j. Nombre d'échantillons envoyés au centre de référence en 2009

Nombre d'échantillons	N labos
Les échantillons qui posaient des problèmes de diagnostic + les échantillons microscopiquement positifs pour malaria + les échantillons avec un test rapide positif	14
Les échantillons qui posaient des problèmes de diagnostic + les échantillons microscopiquement positifs pour malaria	6
Les échantillons microscopiquement positifs pour malaria + les échantillons avec un test rapide positif	6
Les échantillons qui posaient des problèmes de diagnostic	22
Les échantillons microscopiquement positifs pour malaria	7
Les échantillons avec un test rapide positif	2
Nous sommes le centre de référence!	1
Aucun échantillon	63
Pas de réponse	5
Total	126

Quelques laboratoires ont donné une explication pour leur réponse « aucun échantillon » en mentionnant qu'ils n'ont pas eu d'échantillons positifs.

7. 6 Commentaire concernant enquête

Le commentaire concernant cette enquête est très détaillé et complet et sera publié dans une annexe sur notre site web :

(http://www.wiv-sp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_fr/rapports_2010.htm).