

**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 2011/01

CE RAPPORT NE VOUS SERA PLUS ENVOYE PAR LA POSTE

Microbiologie

Capnocytophaga sputigena

Staphylococcus lugdunensis

Acinetobacter baumannii

Absence de pathogènes

Annexe concernant *S. gallolyticus* EEQ 2010/3

Parasitologie

Plasmodium falciparum

Loa loa

Mansonella perstans

Sérologie

CMV

Borrelia

ISP-11/01/Micro/Séro/Para/83

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

© Institut Scientifique de Santé Publique | Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, Bruxelles 2010.
Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de l'ISP.

I. Remarques générales

Pour la 1^e enquête du cycle 2011 (enquête 2011/1), le matériel suivant a été expédié le 17 janvier 2011.

1.1 Trois échantillons lyophilisés et 1 échantillon clinique pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2 Un frottis sanguin et un « cas photographié » pour la recherche de parasites

1.3 Quatre échantillons de plasma pour la sérologie de la borréliose et du CMV.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1. Pour les identifications et antibiogrammes:	171
2. Pour la parasitologie:	172
3. Pour la sérologie	
Borréliose:	138
CMV:	168

Tous les échantillons utilisés dans les EEQ sont approuvés préalablement par les membres des différents comités d'experts.

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/7251 *Capnocytophaga sputigena*

Le genre *Capnocytophaga* appartient à la famille des Flavobacteriaceae et comprend 7 espèces : *C. ochracea*, *C. sputigena* et *C. gingivalis* (appartenant anciennement au groupe CDC Dysgonic Fermenter 1), *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. canimorsus* et *C. cynodegmi* (correspondant respectivement aux anciens groupes CDC DF-2 et DF-2 like). Ce genre présente une grande hétérogénéité phénotypique et génotypique même si les espèces sont proches par quelques caractères communs tels que la morphologie, la mobilité par glissement, le caractère capnophile, les produits de fermentation par chromatographie en phase gazeuse, la composition en acides gras cellulaires et le contenu en guanine et cytosine

Ce sont des bacilles à Gram négatif, fusiformes ou filamenteux, capnophiles, anaérobies facultatifs, à métabolisme fermentatif et présentant une mobilité par glissement. La croissance est lente et nécessite des milieux enrichis (gélose Columbia additionnée de sang de mouton, gélose chocolat additionnée de PolyVitex, gélose Schaedler additionnée de vitamine K) et un apport en CO₂ (5 à 10%). Les colonies sont très petites après 24 h et peuvent atteindre un diamètre de 2 à 4 mm après 2 à 4 jours d'incubation. Plusieurs types de colonies peuvent être observés : convexes ou plates, à bords réguliers ou frangés, s'étalant sur la gélose, parfois adhérentes. Elles présentent généralement une pigmentation jaune à jaune orange visible lorsque les colonies sont raclées sur la gélose à l'aide d'un écouvillon. Les produits majeurs de la fermentation du glucose sont l'acide acétique et l'acide succinique. L'identification à l'espèce par les tests biochimiques n'est pas toujours concluante. L'identification définitive peut se faire par séquençage du gène codant pour l'ARN 16S. Les espèces d'origine animale, *C. canimorsus* et *C. cynodegmi*, se différencient des autres espèces de *Capnocytophaga*, par la présence d'une oxydase et d'une catalase (voir Tableau).

C. ochracea, *C. sputigena*, *C. gingivalis*, *C. granulosa* et *C. haemolytica* sont des commensaux de la flore oropharyngée (on les retrouve notamment au niveau de la plaque dentaire et du sillon gingival) de l'homme et sont impliqués dans des infections parodontales telles que des parodontites et des gingivites. Ces bactéries sont aussi responsables de diverses infections tant chez l'hôte immunodéprimé que chez l'hôte immunocompétent : bactériémie, endocardite, abcès du médiastin, arthrite septique, péritonite, pyélonéphrite, lymphadénopathie inguinale, kératite nécrosante, etc. Les infections systémiques chez les patients immunodéficients sont souvent associées à des ulcérations de la muqueuse buccale induites par la chimiothérapie.

C. canimorsus et *C. cynodegmi* sont retrouvés au niveau de la flore oropharyngée surtout des chiens et dans une moindre mesure des chats. Les infections liées à ces espèces résultent le plus fréquemment d'une morsure ou griffe de chien ou de chat ou d'un contact avec ces animaux. Les infections causées par *C. canimorsus* sont souvent très sévères voire fatales notamment chez les patients aspléniques ou alcooliques, incluant méningite, septicémie fulminante, cellulite et endocardite. *C. cynodegmi* semble moins virulent et est responsable d'infections plus localisées.

Capnocytophaga est généralement sensible aux pénicillines, aux céphalosporines (sauf aux céphalosporines de 1^{ère} génération pour les souches du groupe DF-1 et à l'aztréoname pour les souches des 2 groupes), aux macrolides-lincosamides, aux tétracyclines, aux fluoroquinolones et au chloramphénicol. Il est par contre résistant à la colistine, au triméthoprime, au métronidazole et aux aminoglycosides. Des souches de *Capnocytophaga* DF-1 productrices de beta-lactamases facilement détectables par le test à la nitrocéphine ont été décrites, ainsi que des souches productrices de beta-lactamases à spectre élargi (TEM-

17, CfxA2, CfxA3). Ces souches sont hautement résistantes aux céphalosporines de 3^e génération mais demeurent sensibles à la céfoxitine, aux carbapénèmes et à l'association amoxicilline-acide clavulanique.

Près de 85% des laboratoires ont identifié correctement cette souche au niveau du genre. Parmi ceux-ci, 7.6% l'ont identifié jusqu'à l'espèce. Les caractères biochimiques que nous avons observés sont effectivement en faveur de *C. sputigena*. L'identification a été confirmée par séquençage du gène codant pour l'ARN 16S. Si les espèces *Sphingomonas*, *Elizabethkingia* et *Chryseobacterium* produisent un pigment jaune à jaune orange comme *Capnocytophaga*, on peut facilement les différencier des espèces d'origine humaine sur base de l'oxydase, de la catalase et de la croissance aérobie.

La morphologie fusiforme, la croissance lente et capnophile/anaérobie et la pigmentation jaune sont des caractères qui doivent faire penser au genre *Capnocytophaga*, notamment dans le contexte clinique décrit pour la souche du contrôle de qualité mais également en cas de morsure ou griffe animale.

Tableau : Caractères biochimiques des souches de *Capnocytophaga*

Caractères biochimiques	<i>C. gingivalis</i>	<i>C. ochracea</i>	<i>C. sputigena</i>	<i>C. haemolytica</i>	<i>C. granulosa</i>	<i>C. canimorsus</i>	<i>C. cynodegmi</i>
Oxydase	-	-	-	-	-	+	+
Catalase	-	-	-	-	-	+	+
Mac Conkey	-	-	-	-	-	-	-
b-hémolyse	-	-	-	+	-	-	+
ADH	-	-	-	NT	NT	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+	v	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	-	+
Urée	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-
Gélatinase	-	-	v	NT	NT	-	-
Hydrolyse esculine	+	+	+	+	-	v	+
Hydrolyse amidon	-	+	-	NT	NT	NT	NT
ONPG	-	+	+	+	+	+	+
Réduction des nitrates	-	-	v	+	-	-	v

NT = non testé, v = variable

Caractères observés pour la souche M/7251 :

Absence de croissance sur Mac Conkey, meilleure croissance sur gélose Chocolat + PolyVitex en CO₂ et sur gélose Schaedler en anaérobie que sur gélose Columbia en aérobie. Réactions négatives pour l'oxydase, la catalase, l'indole, l'urée, la réduction des nitrates, l'hydrolyse de l'arginine, l'hydrolyse de l'amidon, la fermentation du lactose et du xylose. Réactions positives pour la mobilité, l'hydrolyse de l'esculine, l'ONPG, la fermentation du glucose et du sucrose.

C. Nonhoff, hôpital Erasme, C.U.B., Bruxelles

Références

1. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th Edition. ASM Press.
2. Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P. 2007. Précis de Bactériologie. 2^e Edition. Editions ESKA.
3. Handal T, Giraud-Morin C, Caugant DA, et al. 2005. Chromosome- and plasmid-encoded b-lactamases in *Capnocytophaga* spp. Antimicrob Agents Chemother 49: 3940-43.
4. Jolivet-Gougeon A, Buffet A, Dupuy C, et al. 2000. In vitro susceptibilities of *Capnocytophaga* isolates to b-lactam antibiotics and b-lactamase inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 44: 3186-88
5. Rosenau A, Cattier B, Gousset N, et al. 2000. *Capnocytophaga ochracea* : characterization of a plasmid-encoded extended-spectrum TEM-17 b-lactamase in the phylum *Flavobacter-Bacteroides*. Antimicrob Agents Chemother 44: 760-62.
6. Bonatti H, Rossboth DW, Nachbaur D, et al. 2003. A series of infections due to *Capnocytophaga* spp. In immunosuppressed and immunocompetent patients. Clin Microbiol Infect 9: 380-7.
7. Lion C, Escande F, Burdin JC. 1996. *Capnocytophaga canimorsus* infections in human : review of the literature and cases report. Eur J Epidemiol 12: 521-33

2.2. La souche M/10426 de l'enquête 2011/1 était un *Staphylococcus lugdunensis*.

Il s'agit d'un Staphylocoque à coagulase négative (CNS) dont la première description date de 1988 et est due à J. Freney, un microbiologiste lyonnais.

Dans une revue de 494 isolats cliniques, il a été identifié dans 3% des cas [1].

Contrairement à la majorité des CNS, il se caractérise par son pouvoir pathogène et sa sensibilité aux bêta lactamines [2].

S'il est décrit comme contaminant ou colonisant cutané, il est aussi la cause d'infections communautaires qui peuvent être graves. Les pathologies le plus souvent décrites sont, dans environ ¾ des cas, des infections de la peau et des tissus mous, mais aussi des bactériémies, des endocardites sur valve native et des infections diverses sur matériel prothétique. Une étude de 1991 a montré que sur 229 isolats cliniques de *S. lugdunensis*, seulement 15% d'entre eux étaient des contaminants [3,4,5].

Identification :

Comme les autres CNS, par définition, il ne possède pas l'exoenzyme coagulase, ou "coagulase libre" et donc le test de coagulase en tube reste négatif ; par contre il possède la forme liée de l'enzyme, appelée aussi "clumping factor" ce qui peut conduire à des tests d'agglutination avec de particules de latex faussement positifs.

Les galeries d'identification commerciales et les automates l'identifient de manière fiable.

95.3% (163/171) des participants à l'enquête l'ont identifié correctement.

Sensibilité aux antibiotiques :

S. lugdunensis est sensible à la majorité des antibiotiques, toutes classes confondues. Cependant, alors qu'en 1990, moins de 4% d'isolats étaient résistants à la pénicilline G, de 12 à 27% de résistance ont été décrits dans les isolats cliniques au cours des dix dernières années. Sa résistance à la méthicilline est rarement décrite, ce qui a conduit le CLSI à modifier les breakpoints du test de diffusion en disque à l'oxacilline en 2005 pour les aligner sur ceux de *S. aureus*, et à remplacer le test à l'oxa par celui à la céfoxitine en 2006.

Pour *S. lugdunensis*, une valeur de CMI à l'oxacilline ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ est bien corrélée à la présence du gène *mecA* et de la *pbp2a*.

Voir tableau 1 pour critères d'interprétation actuels.

Une étude de 2008 sur 106 isolats cliniques a montré que 95,3% de ceux-ci étaient sensibles à la céfoxitine [6].

Le but de l'envoi de cette souche était essentiellement de rappeler les règles de lecture et d'interprétation de l'antibiogramme

L'échantillon envoyé était multisensible, y compris à la pénicilline G.

Dans l'enquête, nous avons constaté de multiples problèmes dans l'interprétation de l'antibiogramme des bêta lactamines. En témoignent les nombreux commentaires ajoutés et parfois la multiplication des tests effectués :

- Pénicilline : problèmes tant pour le test de dépistage de la bêta lactamase (céfinase) que la lecture de la sensibilité
87/155 participants (56.1%) ont répondu "sensible" et 66/155 (42.3%), "résistant". Deux participants n'ont pas répondu car ils obtenaient des résultats discordants pour les différentes méthodes utilisées.
- Oxacilline/ Méthicilline : 131/158 participants (82.9%) ont répondu "sensible" et 27/158 (17.1%), "résistant".
- Test à la céfoxitine : 111/128 (86.7%) ont répondu "sensible" et 17/128 (13.3%), "résistant".

Nous noterons que les utilisateurs de disques (papier ou Rosco) et de l'automate Phoenix n'ont rencontré que très peu de problèmes d'interprétation des résultats, par contre, les

utilisateurs du Vitek2 et Vitek2 compact ont rendu plus fréquemment une réponse erronée qu'une réponse correcte. Pour toute valeur de CMI ≤ 0.12 mg/mL ou tout diamètre d'inhibition ≥ 29 mm, il est recommandé de tester la production de bêta lactamase [8].

Pour les autres classes d'antibiotiques, les réponses fournies étaient la plupart du temps conformes aux réponses attendues.

Tableau 1 [7,8]

		EUCAST[6]				CLSI [7]			
		CMI (mg/L)		Diamètre (mm)		CMI (mg/L)		Diamètre (mm)	
		S	R	S	R	S	R	S	R
Oxacilline 1 μ g	<i>S.lugd.</i>	-	>2	-	-	≤ 2	≥ 4	-	-
	CNS	-	>0.25	-	-	≤ 0.25	≥ 0.5	-	-
Cefoxitine screen	<i>S.lugd.</i>	-	>4	≥ 22	<22	≤ 4	≥ 8	≥ 22	≤ 21
	CNS	-	>0.25*	$\geq 25^*$	<25*	-	-	≥ 25	≤ 24

*Pour les CNS autres que *S. lugdunensis*, la valeur de la CMI à la cefoxitine est un moins bon prédicteur de la présence du gène *mecA*.

Anne Dediste, Laboratoire de la Porte de Hal
CHU St-Pierre et Institut Jules Bordet

Références

1. Gatermann SG. Et al. CMI. 2007;13:777.
2. Kleiner E. et al. CID. 2010;51:80
3. Herchline T. et al. JCM.1991;29:419
4. CMR.2008;21(1):111
5. Herchline T. et al. AAC. 1990;34(12):2434.
6. Thean Yen Tan et al. JCM. 2008;46:2393.
7. EUCAST. V1.3. 2011-01-05
8. CLSI 2011. Supplément M100-21

2.3 Culture M/10639 *Acinetobacter baumannii*

L'échantillon **M/10639** était une souche d'*Acinetobacter baumannii* résistante à tous les antibiotiques incluant les carbapénèmes à l'exception de la colistine. Cette souche produisait une oxacilline acquise (b-lactamase de classe D d'Ambler) ayant des propriétés de carbapénémase (OXA-23) retrouvée quasi exclusivement chez *A. baumannii*. La souche co-hébergeait par ailleurs un gène de résistance *bla*_{PER-1} codant pour une beta-lactamase à spectre élargi de type PER-1 (classe A d'Ambler) également parfois retrouvée chez *A. baumannii* et chez *Pseudomonas aeruginosa*.

A. baumannii est un pathogène quasi-exclusivement hospitalier. Il est à l'origine, en particulier, de pneumonies, d'infections sur cathéter et de septicémies chez les patients hospitalisés en réanimation et chez les patients immunodéprimés. La résistance multiple aux antibiotiques dans cette espèce n'a pas une définition consensuelle. Elle inclut habituellement la résistance à l'imipénème (ou au méropénème). *A. baumannii* est naturellement résistant à l'ertapénème.

Les carbapénémases chez *A. baumannii* ont maintenant été très bien décrites. Il s'agit rarement des b-lactamases inhibées par l'acide clavulanique, telles les KPC ou certaines GES (GES-14) appartenant à la classe A de Ambler ou de métallo-b-lactamases (VIM, IMP, SIM, GIM, NDM ; classe B d'Ambler) mais le plus souvent d'oxacillines (OXA-23, 40 et 58, principalement) dotées de propriétés de carbapénémases. Récemment, KPC-2 (une carbapénémase le plus souvent présente chez *K. pneumoniae* et chez d'autres entérobactéries) a été identifiée dans *A. baumannii* à Porto Rico, et NDM-1 a été retrouvée chez *A. baumannii* chez des patients qui avaient séjourné en Inde et au Pakistan. La détection de ces deux dernières enzymes chez *A. baumannii* souligne la capacité et la propension de certains gènes codant pour des carbapénémases à diffuser largement au sein de multiples espèces de bacilles à Gram-négatif, dont *Acinetobacter*.

L'activité d'hydrolyse des carbapénèmes qu'exercent les oxacillines est faible (en moyenne 1000 fois plus faible que celle des métallo-b-lactamases) et les niveaux de résistance exprimés sont de niveaux variables (CMI au meropenem de 4->256 mg/L). De plus, ces oxacillines n'hydrolysent pas les céphalosporines de troisième génération et la présence d'une résistance à la ceftazidime chez *A. baumannii* résulte le plus souvent de leur association avec une céphalosporinase chromosomique de type ADC (AmpC-like des espèces d'Entérobactéries inductibles). La surexpression de la céphalosporinase chromosomique chez *A. baumannii* est liée à la présence d'une séquence d'insertion spécifique (*ISAba1*) en amont du gène *bla*_{ADC} et qui apporte les séquences promotrices et augmente ainsi sa force de transcription. Par ailleurs, la présence d'autres types de b-lactamases (telles une BLSE de type PER-1 chez la souche M/10639) peut aussi expliquer la co-résistance aux céphalosporines. Les souches produisant des oxa-carbapénémases sont très fréquemment résistantes à d'autres classes d'antibiotiques (en particulier aux aminoglycosides, cotrimoxazole, tétracyclines,...) car elles hébergent généralement d'autres gènes de résistance présents sur des supports génétiques identiques ou distincts.

Les oxacillines à propriétés carbapénémases sont retrouvées très spécifiquement chez *A. baumannii* et seulement exceptionnellement chez les autres espèces d'*Acinetobacter* spp. rencontrées en clinique. Elles appartiennent à quatre types phylogénétiquement distincts: OXA-23, OXA-40, OXA-58 et OXA-143. Plus rarement, la surexpression d'oxacillines naturelles de *A. baumannii* (de type OXA-51) peut aussi contribuer à la résistance aux carbapénèmes.

La détection phénotypique des oxa-carbapénémases chez *A. baumannii* est impossible à réaliser par les méthodes de routine car leur activité n'est inhibée ni par l'acide clavulanique, ni par l'EDTA, l'acide boronique ou encore par la cloxacilline. Une synergie faible est parfois observée entre l'imipénem et l'EDTA (parfois aussi avec l'acide dipicolinique). Ceci reflète probablement plus l'effet déstabilisateur de l'EDTA au niveau des LPS de la paroi bactérienne et la modification de perméabilité qui en résulte et non l'effet inhibiteur direct de

l'EDTA sur les oxa-b-lactamases. Les gènes codant les oxacillinases d'*A. baumannii* (en particulier OXA-23 et OXA-58) sont souvent plasmidiques et sont localisés sur des transposons de structures génétiques variées, et qui sont à la base de leur mobilité et de leur large diffusion au sein de l'espèce *A. baumannii*. Le rôle de la porine CarO et celui d'une autre protéine de 43kDa (OprD-like) ont été démontrés dans la résistance à l'imipénème. En revanche, l'importance de la modification de ces porines dans la résistance phénotypique aux carbapénèmes (et en particulier au méropénème) reste à préciser. Il en est de même du rôle additif d'un des systèmes d'efflux naturellement présent chez *A. baumannii*, le système AdeABC, dont la surexpression, associée à la présence de certaines oxacillinases, pourrait être source de résistance aux carbapénèmes.

De nombreuses études font état de l'augmentation progressive de la résistance aux carbapénèmes dans cette espèce bactérienne et ce sur l'ensemble des continents.

La présence de carbapénémase MBL chez *A. baumannii* a surtout été rapportée au Japon, en Corée en Chine, au Brésil et beaucoup plus rarement en Europe (Italie, Grèce). Récemment quelques souches d'*A. baumannii* productrices de carbapénémases de type NDM-1 ont été isolées en Allemagne et au Royaume-Uni chez des patients qui avaient voyagés en Inde et au Pakistan. A notre connaissance aucun isolat d'*Acinetobacter* spp. producteur de MBL n'a jamais été rapporté en Belgique, et la souche analysée ici, bien que suspecte car isolée chez un patient qui avait été hospitalisé au Pakistan, était négative pour NDM-1.

En Belgique la prévalence des oxa-carbapénémases est mal connue mais elle reste probablement faible (absence de surveillance systématique). Plusieurs cas sporadiques ou d'épidémies hospitalières d'importances variables (quelques patients à plusieurs dizaines de cas) ont été rapportées dans plusieurs hôpitaux depuis 2005, le plus souvent chez des patients hospitalisés dans des services de réanimations, de médecine interne ou encore dans des unités de grands brûlés. Très fréquemment, les cas index étaient des patients qui avaient effectués un séjour à l'étranger (Afrique du Nord, pays du sud de l'Europe, Grèce, Turquie, Moyen-Orient, Asie du Sud-Est,...) et avaient été hospitalisés dans ces pays. Compte tenu du haut potentiel d'épidémicité de ces souches, de la difficulté à contenir leur transmission et à maîtriser les épidémies (persistance parfois très prolongées de ces souches dans l'environnement hospitalier pendant plusieurs mois) et des moyens thérapeutiques limités (seules la colistine, la tigecycline (le plus souvent) et parfois la rifampicine restent encore actives sur ces souches), il est primordial de les reconnaître rapidement et de prendre toute les mesures d'hygiène nécessaires pour contrôler efficacement leur diffusion.

L'isolat **M/10639** présentait un profil de multi-résistance affectant l'ensemble des b-lactamines ainsi que les aminoglycosides (résistance de niveau intermédiaire à l'amikacine et à la gentamicine), les fluoroquinolones, le cotrimoxazole et la rifampicine (ces deux derniers composés non testés dans cette évaluation) assez caractéristique mais non spécifique d'un mécanisme de résistance acquise de type oxacillinase/carbapénémase. L'interprétation des résultats pour le méropénème et pour les autres agents testés (à l'exception de l'amikacine) ne posait pas de problème. Pour les aminoglycosides, le mécanisme de résistance était de bas niveau (surexpression par efflux probable) avec une CMI de 32 mg/L pour l'amikacine par microdilution (soit I selon les recommandations du CLSI (M100-S21) et R selon celles de l'EUCAST). La souche était par ailleurs de sensibilité limite à la gentamicine; CMI 2-4 mg/L). Pour les autres antibiotiques non testés, cette souche restait encore sensible à la colistine (CMI : 0.25 mg/L) et à la tigecycline (CMI : 0.5-1 mg/L). Lorsqu'ils sont actifs *in vitro*, ces deux antibiotiques peuvent être utiles pour le traitement d'infections compliquées à *A. baumannii*, à condition d'être administrés en association avec un deuxième agent (rifampicine, carbapénème, aminoglycoside).

La majorité des participants a reconnu le caractère multi-résistant de cette souche et l'enverrait (soit dans un but épidémiologique, soit pour confirmation du mécanisme de

résistance) au laboratoire de référence. Cependant, il est inquiétant de constater qu'environ 25% des participants n'enverraient pas une souche d'*Acinetobacter* possédant un pareil profil de multi-résistance aux antibiotiques ni pour confirmation ni pour détermination du mécanisme de résistance. Il serait intéressant d'enquêter auprès de ces laboratoires afin de savoir si cette attitude est liée à la méconnaissance de l'importance de ces souches tant aux plans thérapeutiques que de l'hygiène hospitalière ou si ceci est éventuellement lié à d'autres facteurs (économiques p.ex.) ?

Enfin, il paraît utile de rappeler encore une fois que les tests phénotypiques recherchant la présence d'une synergie entre l'imipenem ou le méropénème et l'EDTA (ou l'acide dipicolinique) ne sont pas appropriés pour détecter la présence d'oxacillinases hydrolysant les carbapénèmes chez *A. baumannii*. C'est plus le profil de résistance aux carbapénèmes et de multi-résistance qui doit faire évoquer la présence de ce mécanisme de résistance dont la confirmation nécessite la réalisation de tests moléculaires (PCR-séquençage) qui peuvent être obtenus auprès d'un laboratoire de référence.

Y. Glupczynski, UCL Mont-Godinne

2.4 Culture M/10812 Absence de pathogènes

L'envoi M/ 10812 était accompagné des informations cliniques suivantes:

Frottis de gorge d'un garçon de 4 ans;

Clinique: fièvre et mal de gorge chez le généraliste;

Coloration de Gram: quelques cellules épithéliales et polynucléaires et flore commensale orale; aucune image d'association fusospirillaire

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

Un *Streptococcus pneumoniae* était présent dans l'échantillon.

La raison pour cet envoi était un cas pédiatrique où un laboratoire clinique avait mentionné sur le résultat d'un écouvillon de gorge: « présence de *S.pneumoniae* ++ » (avec antibiogramme). Le diagnostic correct, une infection primaire manifeste par EBV, n'a été posé qu'après l'enfant ait développé une éruption fulminante suite à l'administration d'amoxicilline/acide clavulanique par le pédiatre.

La pharyngite ou infection de gorge est une des plaintes les plus fréquentes pour laquelle les patients consultent leur médecin. L'épidémiologie nous apprend que 70 à 95 % des pharyngites ont une cause virale. Les Rhino-, Parainfluenza-, Corona-, Adenovirus mais également Influenza A, EBV et CMV sont des agents fréquents. Seuls 15-20 % des pharyngites chez les enfants et moins de 10 % chez les adultes ont une origine bactérienne et l'agent étiologique est presque toujours *Streptococcus pyogenes*. Le lien vers les autres streptocoques β -hémolytiques (C et G) comment agent étiologique est nettement moins clair. Seul le « large colony » *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* a été en cas d'épidémie, mis en relation avec une pharyngite. *Arcanobacterium haemolyticum* a également la réputation de pouvoir causer des pharyngites. Il est cependant à noter que la plupart des publications concernant les pharyngites, non relatées à des bactéries qui ne sont pas *S. pyogenes* datent d'avant 1990. Le diagnostic viral et certainement le diagnostic moléculaire étaient à cette époque rares et peu répandus.

Des agents plus exotiques tels que *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Fusobacterium necrophorum* ou *Mycoplasma pneumoniae* ne doivent être recherchés dans des cas particuliers et donc uniquement si le clinicien pose la question bien précise.

S.pneumoniae appartient cependant indiscutablement à la flore commensale de la cavité buccale (60% portage chez les jeunes enfants) et n'a jamais mis en cause pour une pharyngite.

Rapportage cohérent:

Les résultats sont pitoyables!

40% des laboratoires transmettent un résultat qui est manifestement fautif, inutile et/ou prête à confusion et qui mènera plus que probablement, comme dans le cas mentionné ci-dessus, à un traitement par antibiotique (« *if you name it, the clinician will treat it* »⁴)

Environ un tiers des participants montre une certaine incertitude: on écrit bien « flore commensale » ou « absence de pathogènes » mais on mentionne « en passant » la présence de « *Streptococcus pneumoniae* ». Il a été mentionné dans le passé que la spécification des germes appartenant à la flore commensale n'apporte aucune valeur ajoutée, mais au contraire, peut mettre le clinicien sur la mauvaise voie.

Pour conclure: Moins d'un tiers de tous les participants seulement (46/171: 27%) mentionnent sans détour que cet échantillon ne contient aucun germe qui peut être la cause d'une pharyngite.

H. De Beenhouwer, OLVZ, Aalst

Références:

1. **Clinical microbiology procedures handbook. third ed**
Lynne S. Garcia HD editors. Washington, D.C.: ASM Press; 2010
2. **Investigation of throat swabs. National Standard Methods BSOP 9:**
<http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/bsop/pdf/bsop9.pdf>
3. **Improving the Clinical Utility of Microbiology Data: An update**
Joan Barenfanger. Clinical Microbiology Newsletter - 1 January 2003 (Vol. 25, Issue 1, Pages 1-8)
4. **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)
5. **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)
6. **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)
7. **Streptococcal Pharyngitis**
Michael R. Wessels. N Engl J Med. 2011; 364: 648-655
8. **Pharyngitis, Bacterial:** <http://emedicine.medscape.com/article/225243-overview>
9. **Pharyngitis, Viral:** <http://emedicine.medscape.com/article/225362-overview>
10. **Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* by Adults and Children in Community and Family Settings**
GiliRegev-Yochay et al. Clinical Infectious Diseases 2004; 38:632-9

Annexe concernant l'EEQ 2010/3 M/10237 *S. gallolyticus*

A l'occasion des problèmes qu'un certain nombre de laboratoires ont rencontrés lors de l'identification de la souche M/10237, *S. gallolyticus* (EEQ 2010/3), sur Vitek, la compagnie bioMérieux a examiné la souche. Vous trouverez ci-dessous leur conclusion:

Identification comment :

Reference method: strain well identified by mass spectrometry method to *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (100%).

Alternative methods:

-rapid ID32STREP strip: excellent identification to *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (=Strepto. bovis I).

-COPRIM (API50CHS + rapid ID32STREP strips): after 48/72h very good identification to *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (99,8%) with 2 tests against VP (99%) and β -MAN (25%)

On Vitek 2 (PC V4.02) with GP cards (customer lot:242191940 and random lot: 242193640), we obtained:

-with customer lot: a low discrimination between *Streptococcus gallolyticus* ssp *gallolyticus* (with 2 tests against APPA 81% and dSOR 1%) and *S. mutans* (test against PUL 1%)

-with random lot: excellent identification to *S. mutans* without test against.

Conclusion:

We reproduced the customer misidentification. The GP profiles for these species are near except for 2 discriminant tests: dSOR & APPA; so APPA - & dSOR + are in favor of *S. mutans*. These data and organism will be considered for future use in the knowledge base.

III. Résultats des identifications

174 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 171 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 autres laboratoires étrangers et un laboratoire d'une firme. Ces 3 derniers n'ont pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1. Culture M/7251 *Capnocytophaga sputigena* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémoculture d'un patient qui reçoit une chimiothérapie intensive pour une leucémie; il a une mucosité et une bactériémie transitoire. Une identification jusqu'au niveau du genre est souhaitée. »

<u><i>Capnocytophaga sputigena</i></u>	13	7.6%
<u><i>Capnocytophaga</i> species</u>	120	70.2%
<u><i>Capnocytophaga</i> species DF1</u>	6	3.5%
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	6	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	12	
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	3	
<i>Elizabethkingia</i> species	2	
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	1	
<i>Leptotrichia</i> species	1	
<i>Mannheimia haemolytica</i>	1	
<i>Prevotella oralis</i>	1	
<i>Serratia</i> species	1	
Bacilles anaérobies à Gram négatif	2	
Bacilles non-fermentant à Gram négatif	1	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	2
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	57
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	4
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + les hémocultures ne sont que rarement traitées en routine	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (non précisées)	1
N'est pas envoyé	99
Pas de réponse à la question	7
Total	171

¹ Deux laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme et un laboratoire qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification.

3.2. Culture M/10426 *Staphylococcus lugdunensis* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémoculture d'un patient avec une infection par cathéter. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	163	95.3%
Staphylocoque à coagulase négatif	2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	2
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	21
Les hémocultures ne sont que rarement traitées en routine	1
Autres raisons (non précisées)	1
N'est pas envoyé	139
Pas de réponse à la question	7
Total	171

¹ Six laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme (1 mentionne la discordance entre les résultats pour l'oxacilline et la céfoxitine).

3.3. Culture M/10639 Acinetobacter baumannii (plaie abdominale)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Souche isolée chez un patient de 24 ans à partir d'une plaie abdominale par arme à feu. Ce patient a été hospitalisé au Pakistan et ensuite rapatrié en Belgique. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

<u>Acinetobacter baumannii</u>	144	84.2%
<u>Acinetobacter baumannii complex</u>	19	11.1%
<u>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</u>	3	1.8%
<u>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus complex</u>	1	0.6%
<u>Acinetobacter calcoaceticus</u>	1	
<u>Acinetobacter species</u>	3	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	37
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	23
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	60
Dans un but épidémiologique + autres raisons (non précisées)	3
Dans un but épidémiologique + une telle souche n'est jamais rencontrée dans l'hôpital	1
Détermination moléculaire	1
Raison pour l'envoi non mentionnée	1
N'est pas envoyé	39
Pas de réponse à la question	6
Total	171

¹ Huit laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme, un laboratoire qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification et un laboratoire a mentionné « si nous connaissons l'anamnèse ».

² Dix-neuf laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme (11 laboratoires ont mentionné explicitement qu'il s'agit de la détermination du mécanisme de résistance).

3.4. Culture M/10812 Non-pathogènes (frottis de gorge)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Frottis de gorge d'un garçon de 4 ans; clinique: fièvre et mal de gorge chez le généraliste; coloration de Gram: quelques cellules épithéliales et polynucléaires et flore commensale orale; aucune image d'association fusospirillaire. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

Un *S. pneumoniae*, non-pathogène pour la localisation concernée, était présent dans l'échantillon.

<u>Absence de pathogènes</u>	32	18.7%
<u>Absence de pathogènes</u> (mais avec mention de présence/portage de <i>S. pneumoniae</i>)	18	10.5%
<u>Flore commensale</u>	8	4.7%
<u>Flore commensale</u> (mais avec mention de présence/portage de <i>S. pneumoniae</i>)	9	5.3%
<u>Absence de streptocoques des groupes A, C et G et d'<i>A. haemolyticum</i></u> (mais avec mention de présence/portage de <i>S. pneumoniae</i>)	2	1.2%
<u>Absence de streptocoques β-hémolytiques des groupes A, C et G</u>	1	0.6%
<u>Absence de streptocoques des groupes A, C et G</u>	1	0.6%
<u>Absence de streptocoques β-hémolytiques de groupe A</u>	1	0.6%
<u>Absence de streptocoques β-hémolytiques de groupe A</u> (mais avec mention de présence/portage de <i>S. pneumoniae</i>)	1	0.6%
<u>Absence de streptocoques de groupe A</u>	1	0.6%
<u>Absence de streptocoques de groupe A</u> (mais avec mention de présence/portage de <i>S. pneumoniae</i>)	2	1.2%
<u>Absence de streptocoques β-hémolytiques</u>	2	1.2%
<u><i>S. pneumoniae</i> mais avec mention qu'il n'est pas pathogène pour cette localisation</u>	25	14.6%
<i>S. pneumoniae</i>	63	
<i>S. pneumoniae</i> avec mention qu'il doit être considéré comme positif dans ce cas, vu la présence massive	1	
Négatif pour <i>S. pyogenes</i> , positif pour <i>S. pneumoniae</i>	1	
Culture pure de <i>S. pneumoniae</i> , absence de flore normale de la gorge	1	
<i>S. oralis</i>	1	
<i>Gemella morbillorum</i>	1	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique ¹	7
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	2
Autres raisons (non précisées)	1
N'est pas envoyé	141
Pas de réponse à la question	20
Total	171

¹ Un laboratoire mentionne de n'envoyer la souche que si elle résistante à la pénicilline

² Un laboratoire a mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme (si la souche est résistante à l'oxacilline).

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 = 171

4.1 Culture M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*)

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 certains 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, sauf si le laboratoire a lui-même mentionné de répondre en routine le résultat le plus sensible.

Un certain nombre de laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse:

- Ø β-lactamase négatif: 3 labos
- Ø β-lactamase positif: 1 labo
- Ø PBP2a négatif: 1 labo
- Ø céfinase négatif: 2 labos
- Ø céfinase positif: 1 labo
- Ø sensible à la pénicilline (céfinase négatif) et à l'oxacilline (gène mecA négatif): 1 labo
- Ø Staphylocoque méthicilline S, mais possédant une pénicillinase: résistance à la pénicilline G, à la pénicilline M et autres pénicillines hydrolysables (péni A, ticarcilline, pipéracilline). Souche sensible à l'association amoxy-ac. clav. et aux céphalosporines: 1 labo
- Ø en routine l'antibiogramme est envoyé au centre de référence: 1 labo
- Ø les règles de résistance pour *S. aureus* ont été suivies: 1 labo

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline		155	87 ¹	-	66 ²	2 ³
Oxacilline	S	150	124 ⁴	-	26 ⁵	-
Méthicilline	S	8	7	-	1	-
Céfoxitine	S	128	111 ⁶	-	17 ⁷	-
Gentamicine	S	153	153	-	-	-
Vancomycine	S	161	158	-	2	1 ⁸
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	50	50	-	-	-
Lévofloxacine	S	77	76	-	1	-
Moxifloxacine	S	32	31	-	1	-
Ofloxacine	S	9	9	-	-	-
Quinolone ⁹	S	14	14	-	-	-

¹ Un laboratoire a donné la remarque: "Discordance entre les disques (S) et le Vitek 2 (R); β-lactamase négatif. Conclusion: S

- ² Un laboratoire a mentionné la présence d'une population hétérogène
- ³ Un laboratoire a donné la remarque: "Discordance disque Rosco (R) Vitek (S); test de céfinase pour la détection de la β -lactamase est négatif. En routine nous enverrions cet échantillon au centre de référence pour détermination de l'E-test."
Un laboratoire a bien répondu le résultat de la détermination de la CMI avec Vitek 2 compact (0.25 mg/L) mais n'a pas fourni d'interprétation.
- ⁴ Dix laboratoires ont fourni une remarque:
- Nous remarquons un résultat tout à fait opposé concernant la céfoxitine avec le Vitek (R) et les disques Rosco (S). Le test a été effectué en double sur le Vitek. *S. lugdunensis* est normalement une bactérie relativement sensible. Dans la pratique nous contrôlons toujours les discordances sur le Vitek (pas le même résultat pour la céfoxitine et l'oxacilline) avec les disques. Pour info: le test rapide PBP2a était négatif. En routine nous communiquerions au clinicien un résultat OXA-S.
 - Cfr AB manuel (céfoxitine S)
 - Discordance entre disque (S) et Vitek 2 (R). β -lactamase négative
 - 1e AB sur Vitek compact a donné un oxa R (CMI ≥ 4) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\emptyset 30 mm.) 2e et 3e AB sur Vitek compact ont donné un oxa S (CMI 2) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\emptyset 30 mm.) \rightarrow erreur du Vitek? Cet Oxa R n'a pu être reproduite sur une autre colonie
 - Discordance céfoxitine en diffusion, cefoxitinescreen Vitek II et interprétation oxa \rightarrow envoi souche pour PCR mec A. Par ailleurs, agglutination PBP2a ininterprétable (contrôle +). Souche répondu S oxa, vu zone cefox à 35 mm.
 - Discordances sur Vitek oxa: R; céfoxitine: S; quinolones: S; méthode manuelle Rosco: pas de discordances: oxa: S, céfoxitine: S, quinolones: S. Confirmation de l'AB est souhaitable.
 - En routine l'antibiogramme est envoyé au centre de référence
 - Commentaire système expert Osiris: les *S. aureus* et *S. lugdunensis* pour lesquels le \emptyset de la Céfoxitine est ≥ 22 mm. doivent être rendus sensibles à l'oxacilline.
 - Le Vitek 2 compact est contrôlé par le test de diffusion sur disque. Ce résultat est transmis au clinicien.
 - Discordance oxacilline-céfoxitine entre les résultats du Vitek 2 (R) et du disque de Rosco céfoxitine (S). Selon le manuel de Rosco in ne faut tester que la céfoxitine: \rightarrow en routine nous répondrons donc S.
- ⁵ Quatre laboratoires ont fourni une remarque:
- Souche à envoyer au laboratoire de référence pour cause de résultats discordants entre l'oxacilline et la céfoxitine obtenus avec Vitek 2 compact (R) et diffusion en agarose Rosco (S)
 - Cefoxitinescreen (MIC 6): négatif; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a négatif. Selon les directives CLSI/2008 ces souches doivent être répondu comme oxacilline R: "pour cause de présence exceptionnelle de mécanismes de résistances autres que mecA, les isolats qui sont négatifs pour le PBP2'a, mais ont une CMI oxa ≥ 4 rapporter comme R. Ces isolats peuvent tester sensible à la céfoxitine, en diffusion sur disque." En plus, à cause de la clinique, pour ne rien risquer au traitement, rapporter comme « MRSE ».
 - Test Vitek cefoxitinescreen positif; oxacilline: CMI = 1 = S: \rightarrow résultat final R car céfoxitine R
 - Population hétérogène
- ⁶ Neuf laboratoires ont fourni une remarque:
- Nous remarquons un résultat tout à fait opposé concernant la céfoxitine avec le Vitek (R) et les disques Rosco (S). Le test a été effectué en double sur le Vitek. *S. lugdunensis* est normalement une bactérie relativement sensible. Dans la pratique nous contrôlons toujours les discordances sur le Vitek (pas le même résultat pour la céfoxitine et l'oxacilline) avec les disques. Pour info: le test rapide PBP2a était négatif. En routine nous communiquerions au clinicien un résultat OXA-S.
 - Discordance entre disque (S) et Vitek 2 (R). β -lactamase négative
 - 1e AB sur Vitek compact a donné un oxa R (CMI ≥ 4) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\emptyset 30 mm.) 2e et 3e AB sur Vitek compact ont donné un oxa S (CMI 2) et sur disque BioRad céfoxitine 30 μ g S (\emptyset 30 mm.) \rightarrow erreur du Vitek? Cet Oxa R n'a pu être reproduite sur une autre colonie
 - Discordance céfoxitine en diffusion, cefoxitinescreen Vitek II et interprétation oxa \rightarrow envoi souche pour PCR mec A. Par ailleurs, agglutination PBP2a ininterprétable (contrôle +). Souche répondu S oxa, vu zone cefox à 35 mm.
 - Discordances sur Vitek oxa: R; céfoxitine: S; quinolones: S; méthode manuelle Rosco: pas de discordances: oxa: S, céfoxitine: S, quinolones: S. Confirmation de l'AB est souhaitable.
 - Discordance oxacilline-céfoxitine entre les résultats du Vitek 2 (R) et du disque de Rosco céfoxitine (S). Selon le manuel de Rosco in ne faut tester que la céfoxitine: \rightarrow en nous répondrons donc S
 - En routine l'antibiogramme est envoyé au centre de référence
 - Test Vitek Cefoxitinescreen positif: interprétation difficile; à contrôler par recherche du gène mecA
 - Le Vitek 2 compact est contrôlé avec le test de diffusion sur disque. Ce résultat est transmis au clinicien.
- ⁷ Deux laboratoires ont fourni une remarque:
- Souche à envoyer au laboratoire de référence pour cause de résultats discordants entre l'oxacilline et la céfoxitine obtenus avec Vitek 2 compact (R) et diffusion en agarose Rosco (S)
 - Cefoxitinescreen (MIC 6): négatif; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a négatif. Selon les directives CLSI/2008 ces souches doivent être répondu comme oxacilline R: "pour cause de présence exceptionnelle de

mécanismes de résistances autres que *mecA*, les isolats qui sont négatifs pour le PBP2'a, mais ont une CMI oxa ≥ 4 rapporter comme R. Ces isolats peuvent tester sensible à la céfoxitine, en diffusion sur disque." En plus, à cause de la clinique, pour ne rien risquer au traitement, rapporter comme « MRSE ».

⁸ Un laboratoire a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

⁹ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Pour la détermination des PRP et/ou de la céfoxitine, nous constatons que:

- 60 laboratoires ont testé un antibiotique:
 - o 40 oxacilline
 - o 19 céfoxitine
 - o 1 méthicilline
- 107 laboratoires ont testé deux antibiotiques:
 - o 104 oxacilline + céfoxitine
 - o 2 oxacilline + méthicilline
 - o 1 méthicilline + oxacilline
- 1 laboratoire a testé les 3 antibiotiques

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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	17 (17)	6 ¹	40	32 – 50	17	-	-	-
Oxacilline	11 (15)	1	20	18 – 32	15	-	-	-
Méthicilline	1 (1)	30	28	28 – 28	1	-	-	-
Céfoxitine	31 (34)	30	32	22 – 41	33	-	1	-
Gentamicine	14 (15)	10	28	20 – 32	15	-	-	-
Vancomycine	13 (13)	30	21	18 – 27	11	-	-	2 ²
Quinolone								
Ciprofloxacine	12 (12)	5	32	27 – 44	12	-	-	-
Lévofloxacine	3 (5)	5	34	32 – 34	5	-	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	34	34 – 34	1	-	-	-
Ofloxacine	3 (3)	5	29	24 – 32	3	-	-	-

¹ 6 µg = 10U

² Un laboratoire a mentionné que la détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire. Un deuxième laboratoire renvoi au résultat (S) de la détermination de la CMI qu'il a effectué.

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs ("old") et avec les nouvelles charges CLSI 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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	24 (30) ¹	5	36.5	29 – 44	29	-	1
Oxacilline	24 (29) ²	1	23	18 – 30	28	-	1
Céfoxitine	16 (32) ³	60	36	30 – 45	32	-	-
Gentamicine	19 (23) ⁴	40	31	25 – 36	23	-	-
Vancomycine	16 (23) ⁵	5	19	16 – 24	21	-	2
Quinolone							
Ciprofloxacine	15 (17) ⁶	10	32	29 – 42	17	-	-
Lévofloxacine	4 (5)	5	31	26 – 34	5	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	33	28 – 38	2	-	-
Ofloxacine	3 (3)	10	32	32 – 34	3	-	-

¹ En plus un labo a répondu ≥26 mm, un labo >28 mm et deux labos > 30 mm.

² En plus un labo a répondu >28 mm et un labo > 30 mm.

³ En plus un labo a répondu >28 mm et deux labos > 30 mm.

⁴ En plus un labo a répondu >28 mm et un labo > 30 mm.

⁵ En plus un labo a répondu >28 mm.

Tableau 4.1.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	* (2) ¹	* ¹	-	-	2	-	-
Méthicilline	1 (1)	10	30	30 – 30	1	-	-
Céfoxitine	5 (6)	30	34	31 – 35	6	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	28.5	27 – 30	2	-	-
Vancomycine	* (1) ²	* ²	-	-	1	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	* (1) ²	* ²	-	-	1	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	30	30 – 30	1	-	-
Quinolone	1 (1)	5	28	28 – 28	1	-	-

¹ Les deux laboratoires ont utilisé des charges différentes.

² Un laboratoire n'a pas mentionné les charges utilisées pour la vancomycine et la ciprofloxacine.

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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Pénicilline	6	6 x S	2 x 0.064 mg/L; 2 x 0.094 mg/L; 1 x 0.1 mg/L; 1 x valeur CMI non mentionnée
Oxacilline	6	6 x S	2 x 0.38 mg/L; 1 x 0.5 mg/L; 1 x 1 mg/L; 2 x valeur CMI non mentionnée
Céfoxitine	1	1 x S	2 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	0.094 mg/L; 0.125 mg/L
Vancomycine	3	3 x S	3 x 1 mg/L
Quinolone			
Ciprofloxacine	1	1 x S	0.125 mg/L
Quinolone	1	1 x S	0.125 mg/L

Deux laboratoires ont déterminé la valeur CMI pour la pénicilline avec le test MICE: tous les 2 ont obtenu une valeur CMI de 0.06 mg/L (interprétation « S »). Deux laboratoires ont utilisé cette technique pour déterminer la valeur CMI pour la vancomycine, avec comme résultats respectifs 1.5 mg/L et 2 mg/L (interprétation dans les 2 cas « S »).

Un laboratoire a déterminé la valeur CMI pour la pénicilline avec le MIC test Strip: 0.032 mg/L (« 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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Résultat final				Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final				Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R	*			S	I	R	*		
Pénicilline	13 ¹	-	39 ²	1 ³	0.25	39 (53)	7	-	25	1 ⁴	0.25	21 (33)
Oxacilline	42 ⁵	-	10 ⁶	-	2	23 (52)	14 ⁷	-	17 ⁸	-	2	15 (31)
Méthicilline	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	- (1)
Céfoxitine	19 ⁹	-	7	-	Screen	- (26)	7 ¹⁰	-	10 ¹¹	-	Screen	- (17)
Gentamicine	59	-	-	-	≤0.5	56 (59)	34	-	-	-	≤0.5	33 (34)
Vancomycine	60	-	-	-	≤0.5	56 (60)	35	-	-	-	≤0.5	31 (35)
Quinolone												
Ciprofloxacine	3 ¹²	-	-	-	≤0.12 et ≤ 0.5	1 et 1 (3)	2 ¹³	-	-	-	≤0.5	1 (2)
Lévofloxacine	39	-	-	-	≤0.12	35 (39)	26	-	-	-	≤0.12	17 (26)
Moxifloxacine	19	-	-	-	≤0.25	19 (19)	7	-	-	-	≤0.25	7 (7)
Quinolone	5	-	-	-	≤0.12	4 (5)	3	-	-	-	3 ≠ valeurs CMI mentionnées ¹⁴	- (3)

¹ Un laboratoire a donné la remarque: "Discordance entre les disques (S) et le Vitek 2 (R); β-lactamase négatif. Conclusion: S

Un autre laboratoire renvoi à l'antibiogramme manuel pour modifier le résultat brut « R » en « S » final.

² Un laboratoire mentionne la présence d'une double population avec des valeurs CMI respectives de 0.12 mg/L et ≥ 0.5 mg/L (conclusion finale: R).

³ Un laboratoire a donné la remarque: "Discordance disque Rosco (R) Vitek (S); test de céfinase pour la détection de la β-lactamase est négatif. En routine nous enverrions cet échantillon au centre de référence pour détermination de l'E-test."

⁴ Un laboratoire a bien répondu le résultat de la détermination de la CMI avec Vitek 2 compact (0.25 mg/L) mais n'a pas fourni d'interprétation.

⁵ Quatre laboratoires ont fourni une remarque:

- Un laboratoire renvoi à l'antibiogramme manuel pour fournir la réponse finale « S ».

- Discordance céfoxitine en diffusion, cefoxitinescreen Vitek II et interprétation oxa→envoi souche pour PCR mec A. Par ailleurs, agglutination PbP2a ininterprétable (contrôle +). Souche répondu S oxa, vu zone cefox à 35 mm.

- discordance entre disque (S) et Vitek 2 (R). β-lactamase négative

- Discordance oxacilline-céfoxitine entre les résultats du Vitek 2 (R) et du disque de Rosco céfoxitine (S). Selon le manuel de Rosco in ne faut tester que la céfoxitine: →en routine nous répondrons donc S.

⁶ Un laboratoire mentionne la présence d'une double population avec des valeurs CMI respectives de 1 mg/L et ≥ 4 mg/L (conclusion finale: R).

⁷ Deux laboratoires ont fourni une remarque:

- 1e AB sur Vitek compact a donné un oxa R (CMI ≥4) et sur disque BioRad céfoxitine 30 µg S (Ø 30 mm.) 2e et 3e AB sur Vitek compact ont donné un oxa S (CMI 2) et sur disque BioRad céfoxitine 30 µg S (Ø 30 mm.)→erreur du Vitek? Cet Oxa R n'a pu être reproduite sur une autre colonie

- Le Vitek 2 compact est contrôlé par le test de diffusion sur disque. Ce résultat est transmis au clinicien.

⁸ Un laboratoire mentionne bien le résultat R pour le Vitek 2 compact mais rajoute la remarque suivante: « Nous remarquons un résultat tout à fait opposé concernant la céfoxitine avec le Vitek (R) et les disques Rosco (S). Le test a été effectué en double sur le Vitek. *S. lugdunensis* est normalement une bactérie relativement sensible. Dans la pratique nous contrôlons toujours les discordances sur le Vitek (pas le même résultat pour la céfoxitine et l'oxacilline) avec les disques. Pour info: le test rapide PBP2a était négatif. En routine nous communiquerions au clinicien un résultat OXA-S. »

Deux autres laboratoires ont donné les remarques suivantes:

- Souche à envoyer au laboratoire de référence pour cause de résultats discordants entre l'oxacilline et la céfoxitine obtenus avec Vitek 2 compact (R) et diffusion en agarose Rosco (S)

- Cefoxitinescreen (MIC 6): négatif; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a négatif. Selon les directives CLSI/2008 ces souches doivent être répondu comme oxacilline R: "pour cause de présence exceptionnelle de mécanismes de résistances autres que mecA, les isolats qui sont négatifs pour le PBP2'a, mais ont une CMI oxa ≥ 4 rapporter comme R. Ces isolats peuvent tester sensible à la céfoxitine, en diffusion sur disque." En plus, à cause de la clinique, pour ne rien risquer au traitement, rapporter comme « MRSE ».
- ⁹ Deux laboratoires ont fourni une remarque:
 - Discordance oxacilline-céfoxitine entre les résultats du Vitek 2 (R) et du disque de Rosco céfoxitine (S). Selon le manuel de Rosco in ne faut tester que la céfoxitine: →en routine nous répondrons donc S
 - discordance entre disque (S) et Vitek 2 (R). β -lactamase négative
- ¹⁰ Un laboratoire a fourni la remarque: « Le Vitek 2 compact est contrôlé avec le test de diffusion sur disque. Ce résultat est transmis au clinicien. »
- ¹¹ Un laboratoire mentionne bien le résultat R pour le Vitek 2 compact mais rajoute la remarque suivante: « Nous remarquons un résultat tout à fait opposé concernant la céfoxitine avec le Vitek (R) et les disques Rosco (S). Le test a été effectué en double sur le Vitek. *S. lugdunensis* est normalement une bactérie relativement sensible. Dans la pratique nous contrôlons toujours les discordances sur le Vitek (pas le même résultat pour la céfoxitine et l'oxacilline) avec les disques. Pour info: le test rapide PBP2a était négatif. En routine nous communiquerions au clinicien un résultat OXA-S. »
Deux autres laboratoires ont donné les remarques suivantes:
 - Souche à envoyer au laboratoire de référence pour cause de résultats discordants entre l'oxacilline et la céfoxitine obtenus avec Vitek 2 compact (R) et diffusion en agarose Rosco (S)
 - Cefoxitinescreen (MIC 6): négatif; oxacilline MIC ≥ 4 ; PBP2'a négatif. Selon les directives CLSI/2008 ces souches doivent être répondu comme oxacilline R: "pour cause de présence exceptionnelle de mécanismes de résistances autres que mecA, les isolats qui sont négatifs pour le PBP2'a, mais ont une CMI oxa ≥ 4 rapporter comme R. Ces isolats peuvent tester sensible à la céfoxitine, en diffusion sur disque." En plus, à cause de la clinique, pour ne rien risquer au traitement, rapporter comme « MRSE ».
- ¹² Un laboratoire mentionne que le résultat de la ciprofloxacine a été dérivé du résultat de la lévofloxacine (qui n'est pas répondu).
- ¹³ Un laboratoire mentionne que le résultat de la ciprofloxacine a été dérivé du résultat de la lévofloxacine (qui n'est pas répondu)
- ¹⁴ A savoir < 0.12 , 0.25 et ≤ 0.5 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 la pénicilline 3 laboratoires ont retrouvé une CMI de 0.06 mg/L et 6 laboratoires une CMI de 0.12 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact un laboratoire a mentionné une CMI de 0.06 mg/L, 7 laboratoires une CMI de 0.12 mg/L et 2 une CMI ≥ 0.5 mg/L
- ∅ pour l'oxacilline 4 laboratoires ont retrouvé une CMI de 0.5 mg/L, 17 laboratoires une CMI de 1 mg/L et 4 une CMI ≥ 4 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact un laboratoire a mentionné une CMI de 0.5 mg/L, 3 une CMI de 1 mg/L et 7 laboratoires une CMI ≥ 4 mg/L
- ∅ pour la vancomycine un laboratoire a mentionné une CMI de 1 mg/L pour le Vitek 2 et un laboratoire une CMI de 1 mg/L pour le Vitek 2 compact
- ∅ pour la lévofloxacine un laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.5 mg/L en 7 laboratoires une CMI ≤ 0.25 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 2 laboratoires ont retrouvé une CMI de 0.25 mg/L

Etant donné que les résultats obtenus avec le Vitek différaient dans une certaine mesure des ceux d'autres techniques, la compagnie bioMérieux a examiné cette souche. Ci-dessous vous trouverez le résultat de leur examen:

Investigation answer

Expected phenotype wild.

We duplicated the PEN R result and OXA MIC near the breakpoint on AST cards.

We observed on graph an atypical growth in the well PEN 0,125mg/L and a low growth on the OXA PC well: that could lead a MIC determination error.

We will keep these data and organism for future evolution of our knowledge base."

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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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

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

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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		
Oxacilline	10	-	-	0.5	7 (10)
Céfoxitine	9	-	-	≤2	8 (10)
Gentamicine	11	-	-	≤1	11 (11)
Vancomycine	11	-	-	≤0.5	9 (11)
Quinolone					
Ciprofloxacine	9	-	-	≤0.25	5 (9)
Quinolone	1	-	-	0.25	1 (1)

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

- ∅ pour l'oxacilline 2 laboratoires ont retrouvé une CMI ≤0.25 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 1 mg/L
- ∅ pour la céfoxitine 1 laboratoire a retrouvé une CMI de 0.5 mg/L
- ∅ pour la vancomycine 1 laboratoire a retrouvé une CMI de ≤1 mg/L
- ∅ pour la ciprofloxacine 3 laboratoires ont retrouvé une CMI ≤0.125 mg/L en 1 laboratoire une CMI de 0.5 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/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	5 (5)	6 ¹	35	35 – 40	5	-	-
Oxacilline	5 (5)	1	20	6 – 21	5 ²	-	-
Méthicilline	1 (1)	30	31	31 – 31	1	-	-
Céfoxitine	5 (5)	30	32	29 -35	5	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	25	23 – 27	2	-	-
Vancomycine	4 (4)	30	19.5	17 – 21	4	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	3 (3)	5	33	27 – 35	3	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	27	27 – 27	1	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	35	35 – 35	1	-	-

¹ 6 µg = 10U

² Commentaire système expert Osiris: les *S. aureus* et *S. lugdunensis* pour lesquels le Ø de la céfoxitine est ≥22 mm. doivent être rendus sensibles à l'oxacilline

Tableau 4.1.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	6 (6)	5	36	31 – 42	6	-	-
Oxacilline	6 (6)	1	21	19 – 26	6	-	-
Céfoxitine	6 (6)	60	34	31 – 38	6	-	-
Gentamicine	5 (5)	40	34	28 – 39	5	-	-
Vancomycine	4 (5)	5	21.5	21 – 26	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	2 (2)	10	33	30 – 36	2	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	37	37 – 37	1	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	30	30 – 30	1	-	-
Ofloxacine	2 (2)	10	34.5	33 – 36	2	-	-

Tableau 4.1.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10426 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	8 (8)	10	38	34 – 43	8	-	-
Oxacilline	5 (5)	1	25	20 – 28	5	-	-
Céfoxitine	7 (7)	30	30	22 – 35	7	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	28	27 – 34	5	-	-
Vancomycine	7 (7)	30	20	19 – 26	7	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	5 (5)	5	31	25 – 35	5	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	29	29 – 29	1	-	-
Quinolone	2 (2)	5	40.5	38 – 43	2	-	-

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a utilisé le Microscan pour tester la sensibilité à la pénicilline, l'oxacilline, la céfoxitine, la gentamicine, la vancomycine et une quinolone (avec le résultat « S » pour tous ces antibiotiques)
- deux laboratoires ont utilisé le milieu chromid MRSA de bioMérieux et un laboratoire le milieu MRSA select de Biorad pour tester la sensibilité à la méthicilline (avec les résultats « S »)
- un laboratoire considère la céfoxitine comme sensible sans mentionner la technique utilisée
- un laboratoire a utilisé le milieu vancoscreen pour tester la sensibilité à la vancomycine (avec le résultat « S »)
- un laboratoire considère la vancomycine comme sensible sur base de "céfoxitine 60 µg (Neosensitabs) zone d'inhibition >15mm: vancomycine S"

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 pénicilline:
 - S→R
 - § Rosco classique: 1 labo
 - § Vitek 2 compact: 1 labo
 - R→S
 - § Vitek 2: 4 labos (basé sur les résultats de l'antibiogramme manuel; cfr. supra)
 - § Vitek 2 compact: 1 (basé sur les résultats de l'antibiogramme manuel; cfr. supra)
- L'oxacilline:
 - S→R
 - § Rosco classique: 1 labo
 - § Vitek 2: 4 labos
 - § Vitek 2 compact: 4 labos
 - R→S
 - § Osiris: 1 labo (sur base du système expert Osiris: cfr. supra)
- La céfoxitine
 - S→R
 - § Disques papier: 1 labo
 - § Vitek 2: 1 labo
 - § Vitek 2 compact: 2 labos
 - §
 - R→S
 - § Vitek 2: 4 labos (3 basé sur les résultats de l'antibiogramme manuel; cfr. supra)
 - § Vitek 2 compact: 1 labo (basé sur les résultats de l'antibiogramme manuel; cfr. supra)

4.2 Culture M/10639 (*Acinetobacter baumannii*)

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 4.2.1.

Un certain nombre de laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse:

- Ø Présence d'une métallo-β-lactamase
- Ø Test carbapénèmase/métallo-β-lactamase: 4 mm différence entre méropénème et méropénème + acide dipicolinique: →possibilité de métallo-β-lactamase
- Ø Caractérisation moléculaire pour recherche métallo-β-lactamase
- Ø Méropénème + acide dipicolinique testé: le test était négatif: pas de production de métallo-β-lactamase
- Ø Métallo-β-lactamase négative
- Ø Présence d'une carbapénèmase
- Ø Possibilité d'une carbapénèmase
- Ø La souche produit plus que probable une carbapénèmase, vu l'inhibition par addition d'EDTA (méthode des disques) il s'agit peut-être un type NDM-1
- Ø NDM-1?
- Ø Ceftazidime + acide clavulanique R: BLSE +
- Ø Souche ESBL +, avec une résistance à toutes les β-lactamines y compris les carbapénèmes. PCR multiples + en PER/VEB (PER = le plus probable). Souche trouvée sensible à la minocycline (Ø = 20 mm) et à la tobramycine (Ø = 18 mm; E-test = 1.5 mg/L) par contre résistance à la rifampicine (Ø = 7 mm.)
- Ø Bactérie multi-résistante. Renforcer les règles d'hygiène standards. Isolement requis.

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	171	-	-	171	-
Céfépime	R	155	-	-	155	-
Méropénème	R	152	-	-	152	-
Amikacine	I	164	79	30	54 ¹	1 ²
Colistine	S	111	100	1	4	6 ³
Ciprofloxacine	R	168	1	-	167	-
Lévofloxacine	R	100	-	-	100	-

¹ AB discordant pour amikacine: AB sur Vitek compact R; AB sur disque papier Biorad S (sur Vitek compact genta et tobra S (CMI≤1); sur disque genta et tobra S (Ø 16 mm. et 17 mm.):→souche à envoyer pour confirmation de l'AB).

² Un laboratoire mentionne bien le diamètre qu'il a obtenu avec les disques papier (8 mm.) mais ne donne pas d'interprétation.

³ Un laboratoire mentionne que la détermination de la CMI est nécessaire. Cinq autres laboratoires ont laissé ouvert l'interprétation (2 d'entre eux mentionnent qu'il n'existe pas de critères d'interprétation du CLSI pour l'*Acinetobacter*).

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

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

Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée ou ne mentionnent pas la charge des disques utilisés ; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

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

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	19 (24)	100 + 10	6	6 – 8	-	-	24	-
Ceftazidime	27 (27)	30	6	5 – 7	-	-	27	-
Céfépime	21 (21)	30	6	5 – 7	-	-	21	-
Méropénème	21 (23)	10	6	5 – 10	-	-	23	-
Amikacine	27 (28)	30	13	7 – 17	2	4	21 ¹	1 ²
Colistine	12 (15)	10	13.5	12 – 17	11	-	-	4 ³
Ciprofloxacine	22 (23)	5	6	6 – 7	-	-	23	-
Lévofloxacine	10 (11)	5	6	6 – 7	-	-	11	-

¹ AB discordant pour amikacine: AB sur Vitek compact R; AB sur disque papier Biorad S (sur Vitek compact genta et tobra S (CMI≤1); sur disque genta et tobra S (Ø 16 mm. et 17 mm.):→souche à envoyer pour confirmation de l'AB).

² Un laboratoire mentionne bien le diamètre qu'il a obtenu avec les disques papier (8 mm.) mais ne donne pas d'interprétation.

³ Un laboratoire mentionne que la détermination de la CMI est nécessaire. Trois autres laboratoires ont laissé ouvert l'interprétation (2 d'entre eux mentionnent qu'il n'existe pas de critères d'interprétation du CLSI pour l'*Acinetobacter*).

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs ("old") et avec les nouvelles charges CLSI séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.2.3. a en b. Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres de ces disques sont repris dans les tableaux 4.2.9 a et b.

Tableau 4.2.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	21 (25) ¹	100+10	9	9 – 11	-	-	25
Ceftazidime	23 (28) ²	30	9	9 – 10	-	-	28
Céfépime	19 (25) ³	30	9	9 – 10	-	-	25
Méropénème	25 (30)	10	11	9 - 14	-	-	30
Amikacine	30 (35)	40	18	9 - 22	9	1 7	7
Colistine	17 (23)	150	21	17 – 25	19	1	3
Ciprofloxacine	21 (25) ⁴	10	9	9 – 10	1	-	24
Lévofloxacine	10 (12)	5	9	9 -10	-	-	12

¹ En plus un labo a répondu un diamètre < 9mm.

² En plus deux labos ont répondu un diamètre < 9mm.

³ En plus un labo a répondu un diamètre < 9mm.

⁴ En plus un labo a répondu un diamètre < 9mm.

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	2 (4)	100 + 10	9	9 – 9	-	-	4	-
Ceftazidime	2 (4)	30	9	9 – 9	-	-	4	-
Méropénème	1 (2)	10	9	9 – 9	-	-	2	-
Amikacine	2 (3)	30	14	13 – 15	-	1	2	-
Colistine	2 (3)	10	23.5	21 – 26	2	-	-	1 ¹
Ciprofloxacine	2 (3)	5	9	9 – 9	-	-	3	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1	-

¹ Un laboratoire a laissé ouvert l'interprétation.

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/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Pipéracilline-tazobactam	2	2 x R	2 x ≥256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x R	≥256 mg/L
Céfépime	2	2 x R	2 x ≥256 mg/L
Méropénème	5	5 x R	1 x 24 mg/L; 4 x ≥32 mg/L
Amikacine	4	2 x I 2 x R	16 mg/L; 32 mg/L 2 X 64 mg/L
Colistine	11	11 x S	0.064 mg/L; 0.09 mg/L; 0.094 mg/L; 0.125 mg/L; 0.19 mg/L; 0.25 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 2 x 1 mg/L; 1.5 mg/L
Ciprofloxacine	2	2 x R	2 x ≥32 mg/L
Lévofloxacine	2	2 x R	2 x ≥32 mg/L

Un laboratoire a utilisé le test MICE-test: pour le méropénème (CMI 32 mg/L; interprétation R) et pour la colistine (CMI: 0.38 mg/L; interprétation S).

Trois laboratoires ont utilisé le MIC Test strip: un pour la ceftazidime (CMI >256 mg/L; interprétation R) et deux pour la colistine (valeurs CMI respectives 0.5 mg/L et 0.75 mg/L; interprétation S dans les 2 cas).

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.2.5.

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

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		
Pipéracilline-tazobactam	-	-	58	≥128	55 (58)	-	-	35	≥128	33 (35)
Ceftazidime	-	-	59	≥64	56 (59)	-	-	35	≥64	33 (35)
Céfépime	-	-	57	≥64	54 (57)	-	-	37	≥64	35 (37)
Méropénème	-	-	50	≥16	48 (50)	-	-	31	≥16	28 (31)
Amikacine	41	4	3	8	31 (48)	27 ¹	2	3	8	14 (32)
Colistine	23	-	-	≤0.5	22 (23)	9	-	1	≤0.5	8 (10)
Ciprofloxacine	-	-	59	≥4	56 (59)	-	-	35	≥4	33 (35)
Lévofloxacine	-	-	42	≥8	38 (42)	-	-	24	≥8	22 (24)

¹ AB discordant pour amikacine: AB sur Vitek compact R; AB sur disque papier Biorad S (sur Vitek compact genta et tobra S (CMI≤1); sur disque genta et tobra S (Ø 16 mm. et 17 mm.):→souche à envoyer pour confirmation de l'AB).

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 le méropénème un laboratoire a mentionné une CMI de 32 mg/L pour le Vitek 2 compact
- ∅ pour l'amikacine 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2 et 2 laboratoires cette même valeur pour le Vitek 2 compact; 11 laboratoires ont mentionné une CMI 16 mg/L pour le Vitek 2 et 13 laboratoires cette même valeur pour le Vitek 2 compact
- ∅ pour la colistine un laboratoire a mentionné une CMI de 1 mg/L pour le Vitek 2 et 1 laboratoire une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2 compact
- ∅ pour la lévofloxacine un laboratoire a mentionné une CMI >4 mg/L et 1 laboratoire une CMI >16 mg/L pour le Vitek 2

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.2.6.

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	-	-	3
Ceftazidime	-	-	5
Céfépime	-	-	3
Méropénème	-	-	3
Amikacine	1	2	3
Colistine	5	-	-
Lévofloxacine	-	-	5

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

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

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		
Pipéracilline-tazobactam	-	-	9	>16/4	8 (9)
Ceftazidime	-	-	9	>8	8 (9)
Céfépime	-	-	8	>8	7 (8)
Méropénème	-	-	9	>8	9 (9)
Amikacine	-	-	10	≥16	9 (10)
Colistine	7	-	-	≤1	7 (7)
Ciprofloxacine	-	-	10	>1	9 (10)
Lévofloxacine	-	-	7	>2	7 (7)

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 la pipéracilline-tazobactam un laboratoire a mentionné une CMI >64/4 mg/L
- pour la ceftazidime un laboratoire a mentionné une CMI >16 mg/L
- pour la céfépime un laboratoire a mentionné une CMI >16 mg/L
- pour l'amikacine un laboratoire a mentionné une CMI >32 mg/L

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

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

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	5 (6)	100+10	9	6 – 9	-	-	6	-
Ceftazidime	3 (4)	30	6	6 – 6	-	-	4	-
Céfépime	4 (4)	30	6	6 – 6	-	-	4	-
Méropénème	5 (5)	10	8	6 – 10	-	-	5	-
Amikacine	5 (5)	30	13	11 – 15	-	1	4	-
Colistine	3 (4)	50	18	17 – 18	3	-	-	1 ¹
Ciprofloxacine	5 (5)	5	6	6 – 6	-	-	5	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	6	6 – 6	-	-	1	-

¹ Un laboratoire a laissé ouvert l'interprétation.

Tableau 4.2.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	6 (6)	100+10	9	9 – 10	-	-	6
Ceftazidime	6 (6)	30	9	9 – 10	-	-	6
Céfépime	6 (6)	30	9	9 – 10	-	-	6
Méropénème	6 (6)	10	11.5	9 – 13	-	-	6
Amikacine	6 (6)	40	19.5	18 – 21	4	1	1
Colistine	4 (4)	150	23	20 – 37	4	-	-
Ciprofloxacine	5 (5)	10	9	9 – 10	-	-	5
Lévofloxacine	2 (2)	5	9.5	9 – 10	-	-	2

Tableau 4.2.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	7 (7)	100+10	9	8 -9	-	-	7
Ceftazidime	7 (7)	30	9	6 -9	-	-	7
Céfépime	7 (7)	30	9	6 -9	-	-	7
Méropénème	6 (6)	10	10.5	9 – 12	-	-	6
Amikacine	8 (8)	30	12.5	8 – 19	1	1	6
Colistine	4 (5)	150	21.5	19 – 25	5	-	-
Ciprofloxacine	7 (7)	5	9	6 -9	-	-	7
Lévofloxacine	7 (7)	5	9	6 -9	-	-	7

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a utilisé le Microscan pour tester la sensibilité à la ceftazidime, à la céfépime, au méropénème, à l'amikacine, à la ciprofloxacine, à la lévofloxacine (tous avec le résultat « R ») et à la colistine (avec le résultat « S »); un 2^e laboratoire a utilisé le Microscan pour tester la sensibilité à la colistine (avec le résultat « S »)
- un laboratoire considère la ciprofloxacine comme sensible sur base du résultat de l'ofloxacine et un laboratoire considère la lévofloxacine comme sensible sur base du résultat de la ciprofloxacine

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

- L'amikacine:
 - o S→I
 - § Rosco classique: 1 labo
 - § Vitek 2: 3 labos
 - o S→R
 - § Vitek 2: 3 labos
 - o I→R
 - § Rosco classique: 2 labos
 - § Rosco "nouveau": 1 labo
 - § Sirscan classique: 1 labo
 - o I→S
 - § Rosco classique: 1 labo

A l'occasion de cette enquête nous avons demandé aux laboratoires quel autre antibiotique, qui pourrait être actif, ils suggéreraient de tester pour cette souche. Le résumé des réponses est présenté dans le tableau ci-dessous. Un certain nombre de laboratoires, qui ne testent pas en routine certains des antibiotiques que nous avons proposés, ont repris ces antibiotiques dans leur réponse. Certains laboratoires ont proposé de tester plus d'un antibiotique supplémentaire.

Tableau 4.2.10. Antibiotiques supplémentaires, suggérés par les laboratoires de tester pour l'échantillon M/10639 (*Acinetobacter baumannii*).

	Antibiotique proposé	N labos
1 AB	Tigécycline	84
	Colistine	8
	Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	3
	Gentamicine	3
	Rifampicine	3
	Imipénème	2
	Minocycline	2
	Aztréoname	1
	Doripénème	1
	Polymyxine B	1
	Sulbactam (pour cause d'effet synergique avec la ticarcilline)	1
	Tétracyclines (doxycycline, minocycline)	1
	Autre carbapénème	1
2 AB	Colistine – Tigécycline	13
	Gentamicine – Tigécycline	3
	Rifampicine – Tigécycline	3
	Gentamicine – Tobramycine	3
	Aztréoname – Tigécycline	2
	Doxycycline – Tigécycline	2
	Aztréoname – Colistine	1
	Colistine – Doxycycline	1
	Colistine – Gentamicine	1
	Colistine – Imipénème	1
	Colistine – Rifampicine	1
	Doxycycline -- Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
	Minocycline – Tigécycline	1
	Moxifloxacine - Tobramycine	1
	Tigécycline – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
Tigécycline – 2 ^e AB pou utiliser en combinaison avec la colistine (fosfomycine IV, aztréoname, rifampicine,...)	1	
3 AB	Aztréoname – Fosfomycine – Rifampicine	2
	Colistine – Rifampicine – Tigécycline	2
	Chloramphénicol – Rifampicine – Tigécycline	1
	Colistine – Gentamicine – Rifampicine	1
	Gentamicine – Tigécycline - Tobramycine	1
	Imipénème – Minocycline – Rifampicine	1
	Aminoglycosides – Polymyxines – Tigécycline	1
4 AB	Aztréoname – Colistine – Fosfomycine – Rifampicine	1
	Aztréoname – Colistine – Tigécycline – Ampicilline/sulbactam	1
5 AB	Gentamicine – Netilmycine – Tigécycline - Triméthoprim/Sulfaméthoxazole – Tobramycine	1

Huit laboratoires ont mentionné avoir testé la tigécycline, avec comme résultat « sensible ». Un de ces 8 laboratoires a également testé la doxycycline avec le même résultat. Un laboratoire mentionne que la souche est sensible à la gentamicine; un autre qu'elle est résistante à la doripénème. Un laboratoire mentionne que la colistine ne peut jamais être administrée en monothérapie (et mentionne également la rifampicine). Un laboratoire mentionne que la rifampicine doit être administrée en combinaison de doses élevées de colistine (cfr le « Sanford guide »). Un laboratoire mentionne que la rifampicine, la fosfomycine ou l'aztréoname peuvent être combinées éventuellement avec des doses élevées de la colistine.

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 1 frottis de sang a été envoyé.

En plus les parasites d'un deuxième frottis ont été présentés sous forme de photographies sur notre site web.

172 laboratoires ont participé à l'enquête.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 70.9%. 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/10324:

« Le patient est un homme de 40 ans qui a vécu la plus grande partie des 5 dernières années en Afrique occidentale (surtout au Cameroun). Au moment du prélèvement de l'échantillon, il était en congé en Belgique et s'est présenté à l'hôpital avec son propre diagnostic « malaria ». Il a été traité de façon ambulatoire. »

P/10813:

« Un patient congolais est transféré à l'hôpital par son généraliste pour un état subfébrile et une fonction rénale amoindrie. Lors de l'admission, les signes cliniques suivants furent retenus: amaigrissement ++ depuis 2-3 mois, pas d'appétit, il tousse tous les jours depuis 1 mois (toute la famille (les parents + les 2 enfants) semble avoir eu une TB en 2006). Pas de diarrhée, pas de fièvre. On effectue un examen sanguin classique et sur base des résultats aberrants on décide d'effectuer un frottis sanguin. »

L'échantillon P/10324 contenait des trophozoïtes et des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*.

L'échantillon P/10324 a été envoyé à des fins didactiques.

Les photos de l'échantillon P/10813 montraient les microfilaires de *Loa loa* et *Mansonella perstans*.

L'échantillon P/10813 a été placé sur le site à des fins didactiques.

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.

A l'occasion de cette enquête nous avons constaté qu'il y a encore des laboratoires qui ont utilisé d'anciens codes. Il est indispensable que les laboratoires utilisent les codes les plus récents (si vous n'en disposez plus, ils sont disponibles sur notre site internet à l'adresse suivante:

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

ou utilisent le Toolkit (où les identifications et stades d'évolutions sont présentées sous forme de listes déroulantes).

5.2. Les résultats pour l'échantillon P/10324

Les 172 laboratoires ont fourni 220 réponses. 126 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 44 laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites et 2 laboratoires la présence de 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/10417

Résultat	Nombre de laboratoires
<i>Plasmodium falciparum</i>	136
<i>Plasmodium species</i>	24
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	18
<i>Plasmodium malariae</i>	27
<i>Plasmodium ovale</i>	12
<i>Plasmodium vivax</i>	1
<i>Babesia species</i>	1
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	1
Total	220

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné la possibilité d'une infection mixte sans pour autant préciser un 2^e parasite: 9 labos ayant répondu *P. falciparum*, un labo ayant répondu *P. ovale* et un labo ayant répondu *Plasmodium species*.

Les combinaisons de 2 parasites, répondues par les laboratoires, sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.2. Combinaisons de 2 parasites répondus pour l'échantillon P/10324

Combinaisons de parasites	Nombre de laboratoires
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium malariae</i>	21
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i>	12
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium ovale</i>	7
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium vivax</i>	1
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i>	1
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Pentatrichomonas hominis</i>	1
<i>Plasmodium non-falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i>	1
Total	44

Un laboratoire ayant répondu 3 parasites, a mentionné la combinaison *P. falciparum* + *P. non-falciparum* + *Plasmodium species*; l'autre *P. falciparum* + *P. ovale* + *Plasmodium species*.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium falciparum* sont repris dans le tableau 5.2.3. 57 laboratoires ont répondu un stade d'évolution, 66 laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution et 13 ont répondu 3 stades d'évolution.

Tableau 5.2.3. Stades d'évolution de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/10324

Stades d'évolution	Nombre de laboratoires
Trophozoïte	131
Gamétocyte	69
Schizonte	22
Schizonte âgé ou mûr	4
Schizonte jeune	2
Total	228

Les combinaisons de stades d'évolution de *Plasmodium falciparum*, répondus par les laboratoires, sont reprises dans le tableau 5.2.4.

Tableau 5.2.4. Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/10324

Nombre de stades d'évolution	Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
1 stade d'évolution	Trophozoïte	52
	Gamétocyte	5
2 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte	51
	Trophozoïte + schizonte	12
	Trophozoïte + schizonte jeune	2
	Trophozoïte + schizonte âgé ou mûr	1
	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte	10
3 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte âgé ou mûr	3
	Total	136

Pour *Plasmodium falciparum* nous présentons pour les trophozoïtes, les gamétocytes et les schizontes le nombre de parasites, rapportés par les laboratoires, dans les tableaux suivants.

Tableau 5.2.5. Médiane, minimum et maximum pour les trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/10324 (exprimés en %).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
98	8	1	50

En outre 9 laboratoires ont répondu <1, 5 ont répondu 1 à 2, 6 ont répondu 2 à 3, 4 ont répondu 3 à 4 et 9 ont répondu 5 à 10.

Tableau 5.2.6. Médiane, minimum et maximum pour les gamétocytes de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/10324 (exprimés en %).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
23	1	1	10

En outre 38 laboratoires ont répondu <1, 3 ont répondu 1 à 2, 1 a répondu 2 à 3, 1 a répondu 3 à 4 et 2 ont répondu 5 à 10.

Tableau 5.2.7. Médiane, minimum et maximum pour les schizontes de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/10324 (exprimés en ‰).

Nombre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
5	2	1	5

En outre 16 laboratoires ont répondu <1 et 1 a répondu 2 à 3.

Pour les schizontes mûrs 2 laboratoires ont répondu <1‰, 1 a répondu 1‰ et un laboratoire 10‰.

Pour les schizontes jeunes 1 laboratoire a répondu <1‰ et 1 a répondu 1‰.

119 laboratoires ont mentionné qu'ils enverraient l'échantillon à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification. Quatre effectueraient une détermination de l'antigène.

Commentaire concernant *P. falciparum*

L'échantillon P/10324 contenait des trophozoïtes et des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*.

Groupe	Réponse	Commentaire	Score (n, %)
Groupe I	<i>P. falciparum</i>	Correct	91 (53%)
Groupe II	<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium ovale</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium vivax</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Pentatrichomonas hominis</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i> <i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium ovale</i> + <i>Plasmodium species</i>	Erreur mineure Acceptable	45 (26%)
Groupe III	<i>Plasmodium species</i> <i>Plasmodium non-falciparum</i> <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium ovale</i> <i>Babesia species</i> <i>Plasmodium non-falciparum</i> + <i>Plasmodium species</i>	Erreur majeure*	36 (21%)

* Sont considérées comme "erreurs majeures": ne pas retrouver un *P. falciparum*, répondre faussement *P. falciparum* et la non détermination de l'espèce en présence de *P. falciparum* (= réponse *Plasmodium species*). Ceci parce que l'approche thérapeutique est différente lors d'une infection par *P. falciparum*, et ce aussi bien en ce qui concerne le choix des produits qu'en ce qui concerne l'urgence.

M. Van Esbroeck, IMT

5.3 Les résultats pour l'échantillon P/10813

Les 172 laboratoires ont fourni 269 réponses. 77 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 91 laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites et 3 laboratoires la présence de 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/10813

Résultat	Nombre
<i>Loa loa</i>	163
<i>Mansonella perstans</i>	94
<i>Mansonella ozzardi</i>	1
<i>Mansonella streptocerca</i>	1
<i>Wuchereria bancrofti</i>	7
<i>Brugia malayi</i>	1
Microfilaires sans préciser le parasite	2
Total	269

Le tableau suivant présente les résultats des laboratoires ayant mentionné 1 parasite.

Tableau 5.3.2. Résultats des labos ayant mentionné 1 parasite pour l'échantillon P/10813

Résultat	Nombre
<i>Loa loa</i>	72
<i>Mansonella perstans</i>	3
<i>Mansonella ozzardi</i>	1
<i>Wuchereria bancrofti</i>	1
Microfilaires sans préciser le parasite	1
Total	78

Les combinaisons de 2 parasites, répondues par les laboratoires, sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau 5.3.3. Combinaisons de 2 parasites répondues pour l'échantillon P/10813

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Loa loa</i> + <i>Mansonella perstans</i>	86
<i>Loa loa</i> + <i>Mansonella streptocerca</i>	1
<i>Loa loa</i> + <i>Wuchereria bancrofti</i>	1
<i>Mansonella perstans</i> + <i>Wuchereria bancrofti</i>	2
<i>Brugia malayi</i> + microfilaires sans préciser le parasite	1
Total	91

Les 3 laboratoires ayant répondu 3 parasites, ont fourni la combinaison *L. loa* + *M. perstans* + *W. bancrofti*.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Loa loa* sont repris dans le tableau suivant. Tous les laboratoires ont répondu un stade d'évolution.

Tableau 5.3.4. Stades d'évolution de *Loa loa* pour l'échantillon P/10813

Stade d'évolution	Nombre
Microfilaires	157
Forme adulte	5
Forme végétative hématophage	1
Total	163

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Mansonella perstans* sont repris dans le tableau suivant. Tous les laboratoires ont répondu un stade d'évolution.

Tableau 5.3.5. Stades d'évolution de *Mansonella perstans* pour l'échantillon P/10813

Stade d'évolution	Nombre
Microfilaires	91
Forme adulte	2
Forme végétative hématophage	1
Total	94

117 laboratoires ont mentionné qu'ils enverraient l'échantillon à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification.

Commentaire concernant *L. loa* en *M. perstans*

Quatre-vingt-six des 172 laboratoires (50%) ont répondu la combinaison *Loa loa* et *Mansonella perstans* (anciennement appelé *Dipetalonema perstans*). La plupart des laboratoires ayant répondu la présence d'un parasite, ont identifié les microfilaires de *Loa loa*.

Il n'est pas facile d'interpréter les photos de parasites sur un ordinateur. Dans la routine, il serait préférable de demander les lames pour les examiner sous le microscope. L'utilisation de photos offre cependant la possibilité d'utiliser une belle trouvaille comme dans le cas actuel dans l'EEQ.

Pour un aperçu des caractéristiques des microfilaires qui peuvent être retrouvées chez l'homme, nous référons aux manuels.

La présence d'une gaine est une caractéristique important et les colorations qui colorent la gaine, facilitent la différentiation. Pour cet échantillon les lames étaient colorées avec une coloration May-Grünwald-Giemsa qui ne colore pas la gaine. Dans ces cas, la présence peut être suspectée par l'absence de globules rouges qui crée une sorte d'image d'halo autour des microfilaires.

La courbure des microfilaires est une caractéristique qu'on ne pouvait pas utiliser dans cette EEQ. Surtout les microfilaires de *Loa loa* avaient une forme qui courbait peu ou était même droite. Cet effet est connu en cas de fixation de l'échantillon dans du formol mais ceci n'était pas la cause dans ce cas.

Pour les photos 1-5 on peut conclure qu'il s'agit de *Loa loa* sur base des caractéristiques suivantes des microfilaires: présence d'une gaine, longueur des vers de $\pm 300 \mu\text{m}$, épaisseur de $\pm 7 \mu\text{m}$, des noyaux qui sont très proche les uns des autres, une partie très courte sans noyaux dans la tête et des noyaux jusqu'à la fin de la queue.

Pour les photos 6 à 9 on peut conclure qu'il s'agit de *Mansonella perstans* sur base des caractéristiques suivantes des microfilaires: absence d'une gaine, longueur des vers de $\pm 200 \mu\text{m}$, épaisseur $\pm 4 \mu\text{m}$, noyaux jusque dans la queue, le dernier noyau qui est un peu plus épais.

Surtout dans des infections mixtes, comme celle-ci, on peut bien voir que les microfilaires de *Mansonella perstans* sont plus petits et surtout plus fins.

Les filarioses chez l'homme sont des maladies qui sont transmises par différentes espèces d'insectes dans les régions tropiques et sous-tropiques. La distribution des espèces de filaires est relative à la présence de leur vecteur. Certaines espèces sont très connues dans le monde médical grâce à leur image clinique très caractéristique tels que *Wuchereria bancrofti* et *Brugia malayi* qui causent l'œdème de lymphes et l'éléphantiasis et *Onchocerca volvulus* qui cause cécité et dermatite grave. Les autres filaires, dont *Loa loa* et *Mansonella perstans* font partie, sont considérés comme moins pathogènes et sont moins bien étudiés.

Les filaires appartiennent à la classe des nématodes. Leur nom leur a été attribué parce qu'ils sont tellement fins en comparaison avec leur longueur.

Les vers sont vivipares, ce qui veut dire que les œufs s'éclosent déjà dans l'utérus. Chez certaines sortes, une membrane résiduelle de l'œuf est présente, la gaine. Les femelles produisent des larves, microfilaires, qui peuvent rester en vie jusque plus d'un an dans le corps de l'hôte humain.

Loa loa est présent dans les forêts tropicales d'Afrique Central et d'Afrique Occidentale. *Mansonella perstans* est très répandu en Afrique et est présent plus locale dans le Nord-est de l'Amérique du Sud. Etant donné que les régions géographiques de *Loa loa* et *Mansonella perstans* se chevauchent, il n'est pas rare de les retrouver tous les 2 ensemble dans le sang d'un patient.

Les symptômes les plus connus d'une infection par *Loa loa* sont les épisodes d'œdèmes locaux ou les œdèmes fugaces de Calabar qui sont causés par la migration des vers adultes (où la migration peut avoir lieu sous les conjonctives) ou par l'excrétion intermittente de grands nombres de microfilaires. Une filariose par *Mansonella perstans* est souvent asymptomatique. Un certain nombre de symptômes et réactions allergiques sont attribués à ce parasite mais le spectre des maladies n'est pas vraiment établi. Certaines des caractéristiques décrites sont probablement dues à une infection mixte non-reconnue ou peuvent être expliquées par l'éosinophilie élevée qui accompagne les filarioses. Contrairement aux *Loa loa* les vers adultes de *Mansonella perstans* ne migrent pas et on ne les retrouve qu'occasionnellement (p.ex. lors d'une laparotomie). Ils résident dans les cavités corporelles (pleural, péricardique et péritonéal) et dans la graisse périrénale.

Le diagnostic des filarioses est effectué par la détection de microfilaires dans le sang périphérique (chez certaines sortes dans un « skin snip ») dans une goutte épaisse ou un frottis sanguin. La sensibilité de l'examen peut être élevée par une technique de concentration (Knott ou filtre nucléopore). Pour certaines microfilaires il est important de tenir compte de la périodicité. *Loa loa* a une périodicité diurne, les nombres de microfilaires dans le sang périphérique sont le plus élevés durant le jour. Les microfilaires de *Mansonella perstans* circulent sans périodicité. Le fait de ne pas retrouver de microfilaires n'exclut pas une infection. Les microfilaires ne peuvent être démontrées que plusieurs mois après l'infection et en cas d'infections chroniques, il y a souvent trop peu de microfilaires présentes pour être détectées.

Le traitement dépend de l'espèce. Pour *Loa loa* il est important de connaître le taux de la microfilarémie étant donné que celle-ci détermine s'il faut associer des corticoïdes et éventuellement des antihistaminiques afin d'éviter des réactions graves dues au traitement. La présence de *Mansonella perstans* ne nécessite pas nécessairement un traitement.

La présence d'une infection mixte peut avoir des conséquences pour le traitement. Des complications graves peuvent surgir en cas d'un traitement (massif) d'onchocerciose par l'ivermectine où la présence de *Loa loa* n'est pas reconnue. Donc: non seulement la présence de microfilaires est importante mais également l'identification des différentes espèces et la microfilarémie.

Marjan Van Esbroeck, ITG Antwerpen

Photo 1

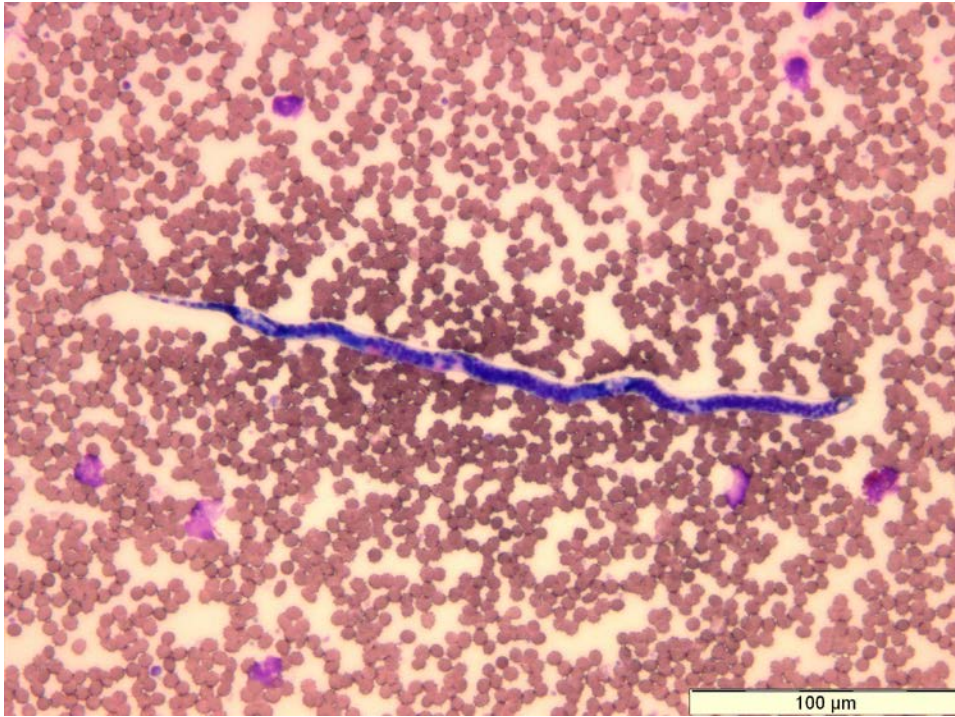


Photo 2

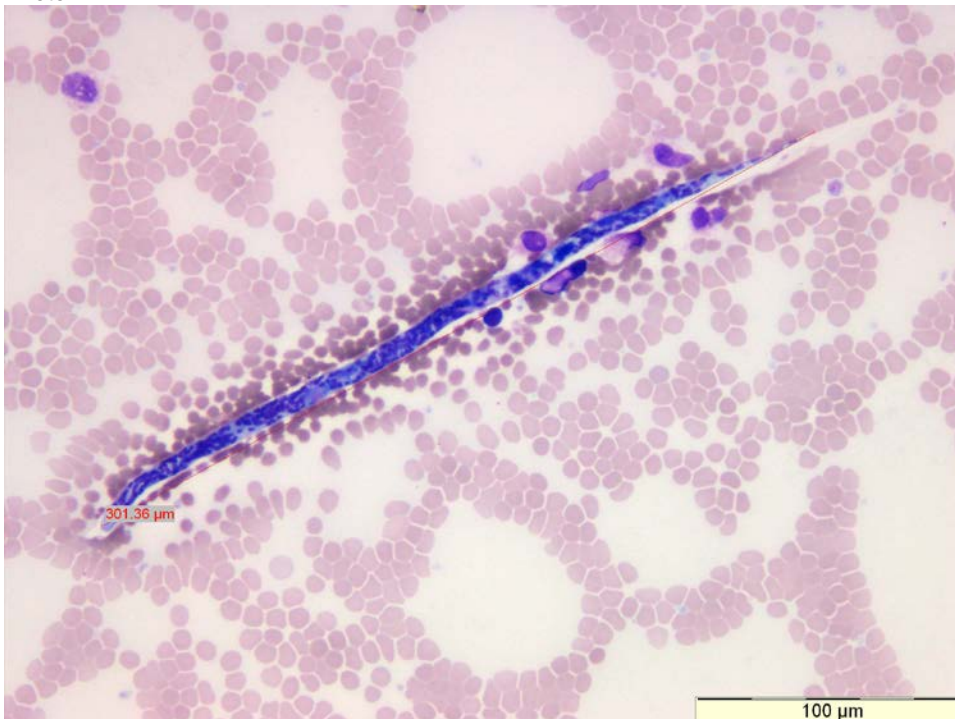


Photo 3

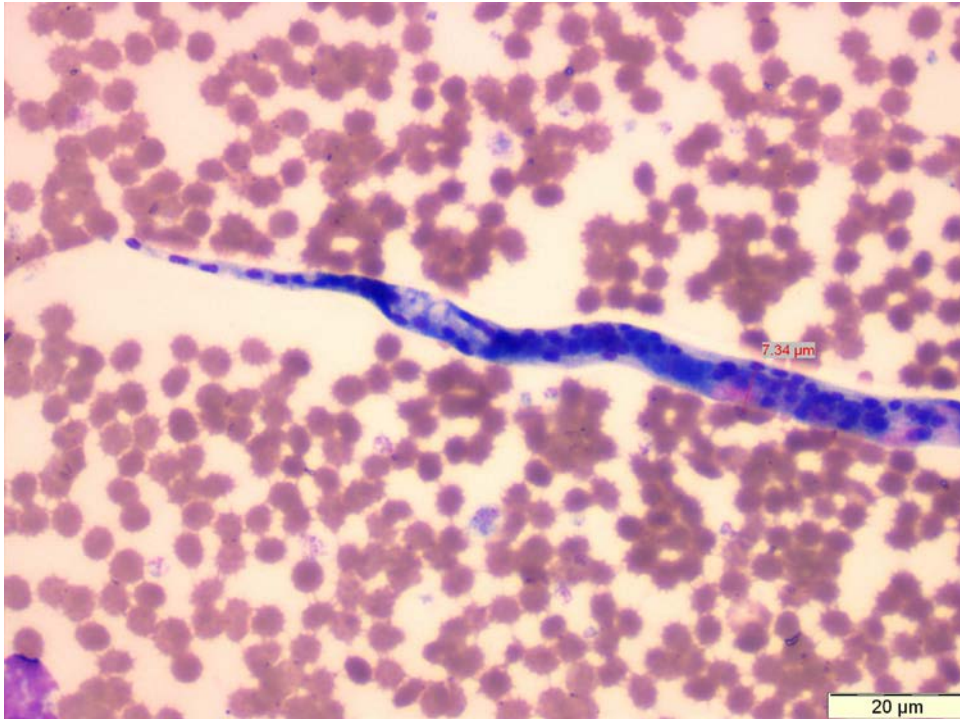


Photo 4

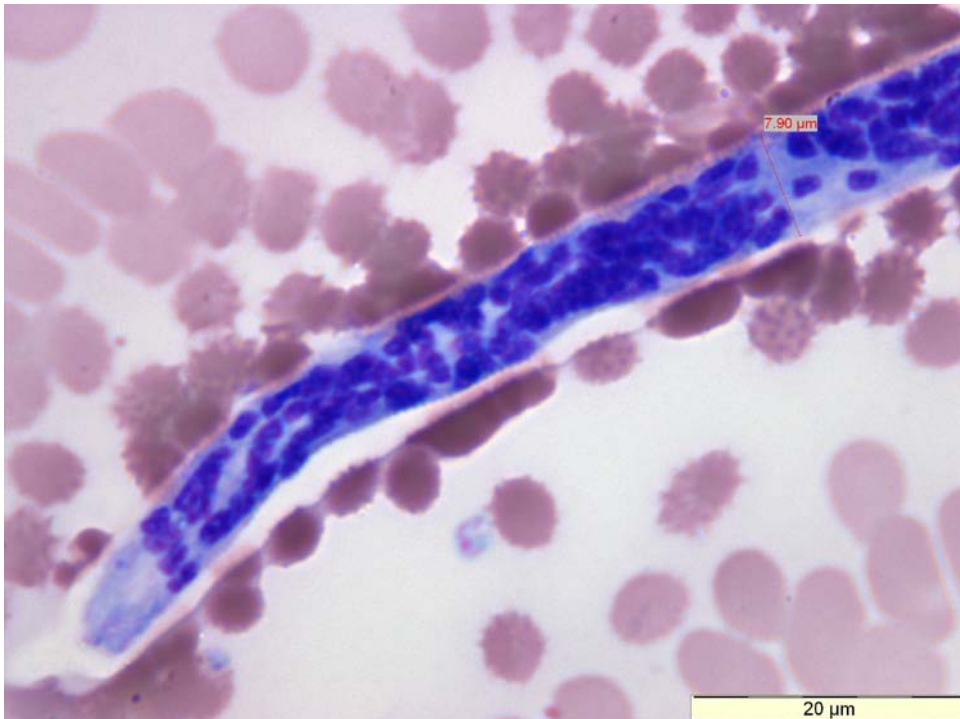


Photo 5

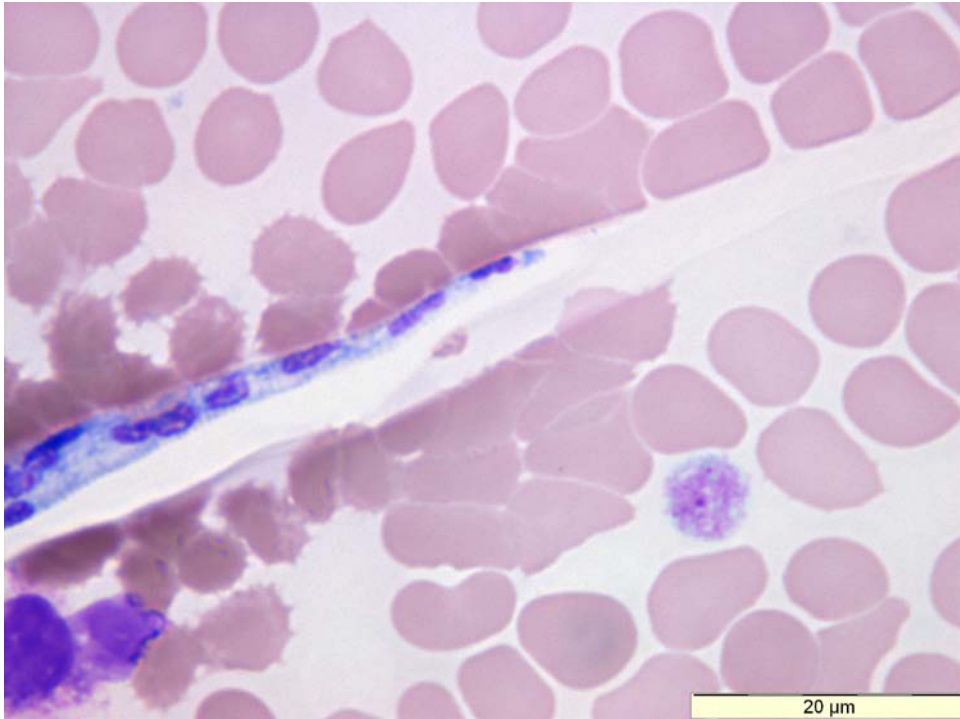


Photo 6



Photo 7

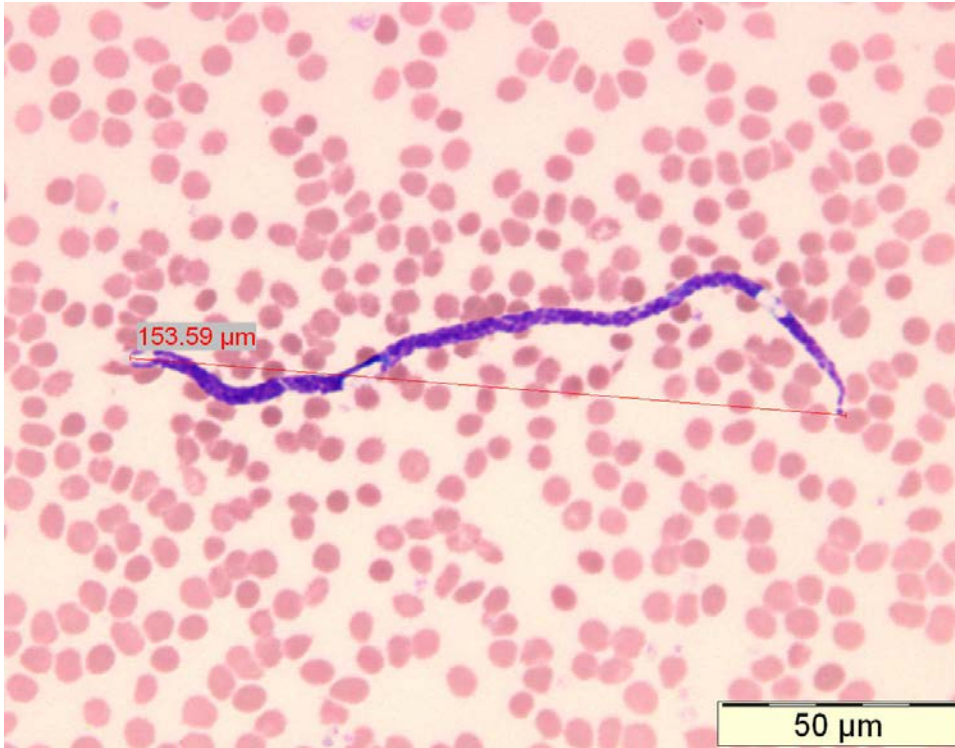


Photo 8



Photo 9



6.1. Borréliose

6.1.1 Informations concernant les échantillons

Deux échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la borréliose.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/4897: Homme de 45 ans, garde forestier, n'a pas de plaintes particulières. Examen fait dans le cadre d'un bilan de santé.

S/5379: Prélèvement chez un homme de 63 ans avec une arthrite du genou droit.

Les résultats attendus étaient :

S/4897:	IgG négatif IgM négatif Interprétation: Absence d'anticorps (code 01)
S/5379:	IgG négatif IgM négatif Interprétation: Absence d'anticorps (code 01)

6.1.2. Les participants

138 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 247 tests sur l'échantillon S/4897 et 246 tests sur l'échantillon S/5379.

En plus trois laboratoires de firmes ont effectué ces tests. Le premier a utilisé les trousse Borrelia Plus VLsE Elisa IgG et Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun), le deuxième laboratoire a utilisé les trousse recomWell Borrelia IgG et recomWell Borrelia IgM (Mikrogen) et le troisième les trousse Liaison Borrelia IgG en Liaison Borrelia IgM Quant (DiaSorin). Tous ces laboratoires ont obtenu des résultats corrects.

Les tests effectués peuvent être groupés comme suit :

- IgG+M (une trousse qui détermine les 2 anticorps) :
 - détermination «générale» des anticorps polyvalents
 - détermination des anticorps spécifiques à la protéine C6
- IgG:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, ...
 - déterminations «blot» (immunoblot, dot blot, western blot)
- IgM:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, ...
 - déterminations «blot» (immunoblot, dot blot, western blot)

(NB. Dans le traitement suivant les techniques ELISA, EIA, IFA, ELFA,... ont été groupées sous le nom « non-blot » afin de faciliter la lecture).

Pour l'échantillon S/4897, 49 laboratoires ont effectué 1 test, 73 laboratoires ont effectué 2 tests, 14 laboratoires ont effectué 3 tests, 1 laboratoire a effectué 4 tests et 1 laboratoire 6 tests.

La distribution de ces tests est comme suit :

- IgG+M:	57
- «générale»:	44
- anti-C6:	13
- IgG:	92
- «non-blot»:	86
- blot:	6
- IgM:	98
- «non-blot»:	86
- blot:	12

Pour l'échantillon S/5379, 49 laboratoires ont effectué 1 test, 74 laboratoires ont effectué 2 tests, 13 laboratoires ont effectué 3 tests, 1 laboratoire a effectué 4 tests et 1 laboratoire 6 tests.

La distribution de ces tests est comme suit :

- IgG+M:	57
- «générale»:	44
- anti-C6:	13
- IgG:	92
- «non-blot»:	86
- blot:	6
- IgM:	97
- «non-blot»:	86
- blot:	11

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau 6.1.1.

Tableau 6.1.1. Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour la détermination des anticorps anti-Borrelia de l'enquête 2011/1

Nombre de tests	Type de trousse	Type de technique	S/4897	S/5379
1 test	Ac. tot.	générale	38	38
		anti-C6	11	11
2 tests	IgG et IgM	nonblot - nonblot	72	73
		blot – blot	1	1
3 tests	Ac. tot. et IgG et IgM	générale – nonblot – nonblot	4	4
		générale – blot – blot	2	2
		antiC6 – nonblot – nonblot	1	1
		antiC6 – blot – blot	1	1
4 tests	IgG et 2 x IgM	nonblot – nonblot – blot	6	5
		2 x IgG et 2 x IgM	1	1
6 tests	3 x IgG et 3 x IgM	nonblot – nonblot – blot – nonblot – nonblot – blot	1	1

6.1.3. Réactifs utilisés

6.1.3.1. Pour les anticorps totaux (toutes méthodes confondues)

Tableau 6.1.2. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps totaux anti-Borrelia.

Fabricant	Trousse	S/4897	S5379
bioMérieux	VIDAS Lyme IgG+IgM	44	44
Immunitics (distributeur Lucron)	C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA	13	13
Total		57	57

6.1.3.2. Pour les IgG (toutes méthodes confondues)

Tableau 6.1.3. Réactifs utilisés pour la détermination des IgG Borrelia.

Fabricant	Trousse	S/4897	S5379
Diasorin	Liaison Borrelia IgG	50	50
Euroimmun (distributeur Biognost)	Borrelia Plus VLsE Elisa IgG	20	20
	anti-Borrelia Euroline RN-AT IgG	3	3
	WB B. burgdorferi IgG	2	2
Medac Diagnostica	Borrelia IgG Elisa	1	1
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomWell Borrelia IgG	1	1
	recomLine Borrelia IgG	1	1
Novatec (distributeur BMD)	Novalisa Lyme Borrelia IgG EIA	3	3
Serion (distributeur Labconsult)	Borrelia burgdorferi classic ELISA IgG	1	1
Siemens	Enzygnost Lyme link VLsE IgG	9	9
Viro-Immun (distributeur Biotest)	Vir-Elisa anti-Borrelia IgG	1	1
Total		92	92

6.1.3.3. Pour les IgM (toutes méthodes confondues)

Tableau 6.1.4. Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-Borrelia.

Fabricant	Trousse	S/4897	S5379
Diasorin	Liaison Borrelia IgM II	46	46
	Liaison Borrelia IgM Quant	4	4
Euroimmun (distributeur Biognost)	Anti-Borrelia Elisa (IgM)	20	20
	anti-Borrelia Euroline RN-AT IgM	7	6
	WB B. burgdorferi IgM	2	2
	Euroline WB Borrelia IgM	1	1
Medac Diagnostica	Borrelia IgM Elisa	1	1
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomLine Borrelia IgM	2	2
	recomWell Borrelia IgM	1	1
Novatec (distributeur BMD)	Novalisa Lyme Borrelia IgM EIA	3	3
Serion (distributeur Labconsult)	Borrelia burgdorferi classic ELISA IgM	1	1
Siemens	Enzygnost Borreliosis IgM	9	9
Viro-Immun (distributeur Biotest)	Vir-Elisa anti-Borrelia IgM	1	1
Total		98	97

6.1.4. Les résultats

6.1.4.1. Echantillon S/4897

6.1.4.1.1. IgG+M

Général

Tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps « généraux » (polyvalents) ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/4897.

Anti-C6

Tous les laboratoires ayant effectué ce test ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/4897.

6.1.4.1.2. IgG

Déterminations non-blot

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

Déterminations blot

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

6.1.4.1.3. IgM

Déterminations non-blot

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.5. Résultats pour les IgM anti-Borrelia pour l'échantillon S/4897

Résultat	Nombre de laboratoires
Négatif ¹	70
Borderline	4
Positif	11
Total	85

¹ Le laboratoire ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes a obtenu des résultats négatifs avec ces 2 techniques.

Tous les résultats non-négatifs ont été obtenus avec la trousse Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun).

Déterminations blot

Dix laboratoires ont obtenu un résultat négatif ; 2 un résultat positif (dans les 2 cas avec la trousse anti-Borrelia Euroline RN-AT IgM (Euroimmun)).

6.1.4.1.4. Interprétation

Interprétation proprement dite

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau 6.1.6.

Tableau 6.1.6. Interprétations pour l'échantillon S/4897

Interprétation	Nombre de laboratoires
Absence d'anticorps anti-Borrelia (code 001)	128
Présence d'anticorps anti-Borrelia (code 002)	6
Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. (code 003)	2
IgM à la limite de la positivité	1
Borrelia IgM douteux. Une confirmation est nécessaire!	1
Total	138

Remarques pour code 001

Un aperçu des remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia » (code 001) est présenté dans le tableau 6.1.7.

Tableau 6.1.7. Remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps » pour l'échantillon S/4897

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Western Blot n'est pas nécessaire	73
Le laboratoire a déjà effectué un Western Blot	6
Une confirmation par Western Blot est nécessaire	1
Contrôle dans 2 à 3 semaines si notion de morsure de tique.	1
Pas de sérologie Borrelia de contrôle nécessaire dans 2 à 3 semaines	1
Confirmation des IgG et IgM Borrelia si positifs: → Western Blot si le médecin prescripteur le souhaite (il pense à une fausse positivité)	1
Total	83

Résumé des labos individuels avec résultats et/ou interprétations aberrants

IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, interprétation **code 2**:

4 labos

IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, IgM blot négatif, interprétation **code 2**:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, IgM blot négatif, interprétation **code 3**:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, IgM blot négatif, interprétation code 1:

2 labos

IgG+M généraux négatif, IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, interprétation **code 2**:

1 labo

IgG+M généraux négatif, IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, interprétation « **Borrelia IgM douteux. Une confirmation est nécessaire!** »:

1 labo

IgG non blot et blot négatif, IgM non blot **positif**, IgM blot négatif, interprétation code 1:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, interprétation « **IgM à la limite de la positivité** »:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, IgM blot négatif, interprétation code 1:

2 labos

IgG+M généraux négatif, IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, interprétation code 1:

1 labo

IgG blot négatif, IgM blot **positif**, interprétation **code 3**:

1 labo

6.1.4.2. Echantillon S/5379

6.1.4.2.1. IgG+M

Général

Tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps « généraux » (polyvalents) ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/5379.

Anti-C6

Tous les laboratoires ayant effectué ce test ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/5379.

6.1.4.2.2. IgG

Déterminations non-blot

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

Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

Déterminations blot

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

6.1.4.2.3. IgM

Déterminations non-blot

Un aperçu des résultats par laboratoire est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.8. Résultats pour les IgM anti-Borrelia pour l'échantillon S/5379

Résultat	Nombre de laboratoires
Négatif ¹	72
Borderline	9
Positif	4
Total	85

¹ Le laboratoire ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes a obtenu des résultats négatifs avec ces 2 techniques.

Tous les résultats non-négatifs ont été obtenus avec la trousse Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun).

Déterminations blot

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

Remarque: étant donné que tous les résultats non-négatifs pour les 2 échantillons ont été obtenus avec des trousse de la compagnie Euroimmun, nous avons contacté cette firme et leur demandé d'analyser les échantillons.

Ci-dessous vous trouverez les résultats de leur examen:

Herewith EUROIMMUN would like to comment on the results of the recent External Belgian Quality Control for serological Borrelia tests. Two sera were sent to the participants:

S/4897: 45 year old male forest guard with no complaints

S/5379: 63 year old male with arthritis complaints

The target values that have been assigned to these sera were negative for both. As reported by our Belgian distributor (BIOGNOST), a significant number (75% and 65%, respectively) of participants using the EUROIMMUN Anti-Borrelia ELISA (IgM) achieved a borderline or a positive result. These results could be confirmed at EUROIMMUN when we retested the above mentioned sera.

The German Society for Hygiene and Microbiology, the Robert Koch Institute and the Centers for Disease Control and Prevention (USA) recommend a two-tiered procedure for the serodiagnosis of Borrelia infections. In the first diagnostic step a screening test (ELISA or IIFT) is performed. It is crucial that the screening test shows a high sensitivity to avoid the risk of not detecting a true Borrelia infection. If the screening test result is positive or borderline, it should be followed up by a specific confirmatory test. The immunoblot is the method of choice because it allows a reliable differentiation between antibodies against individual specific and unspecific antigens.

To meet the demands of a sensitive screening assay, the EUROIMMUN Anti-Borrelia ELISA (IgM) is composed of whole antigen (SDS extracts) of the most relevant pathogenic strains: Borrelia burgdorferi sensu stricto, Borrelia garinii, and Borrelia afzelii. We think that only by using such a broad antigenic spectrum it can be assured that all kind of anti-Borrelia antibodies are captured from the serum. A few of the lysate antigens (e.g. p41/Flagellin) included in this ELISA have been described to react unspecifically. These reactions can be reliably identified by the confirmatory test (e.g. Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT). It is worth mentioning that the screening test is deliberately designed to be slightly more sensitive than the confirmatory test because it is essential that all blot-reactive sera are also recognized by the ELISA. Thus, in some instances a positive or borderline ELISA result will not be confirmed by immunoblot analysis. However, such results are in agreement with the recommended two-tiered serological strategy for diagnosis of Borrelia infections.

Internal studies by EUROIMMUN show a 100% agreement of both techniques (ELISA, Blot) with regard to the recommended two-tiered serological strategy for diagnosis of Borreliosis. In addition, the good quality of the Anti-Borrelia ELISA (IgM) is regularly proven by internal and external quality assessment schemes. Nevertheless, we constantly strive to improve existing test systems by optimizing the antigenic composition. I would like to inform you that the reported results from Belgium have already led us to explore possibilities to further enhance the performance of our Anti-Borrelia ELISA (IgM) by using exclusively specific target antigens.

6.1.4.2.4. Interprétation

Interprétation proprement dite

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau 6.1.9.

Tableau 6.1.9. Interprétations pour l'échantillon S/5379

Interprétation	Nombre de laboratoires
Absence d'anticorps anti-Borrelia (code 001)	128
Présence d'anticorps anti-Borrelia (code 002)	4
Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. (code 003)	2
Absence d'anticorps anti-Borrelia. Un prélèvement de contrôle est conseillé dans 3-4 semaines.	1
Borrelia IgM douteux. Une confirmation est nécessaire!	1
Attendre le résultat du WB	1
Résultats borderline en ELISA et Blot (contrôle absolument nécessaire dans quelques semaines).	1
Total	138

Remarques pour code 002

Un aperçu des remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia » (code 001) est présenté dans le tableau 6.1.10.

Tableau 6.1.10. Remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps » pour l'échantillon S/5379

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Western Blot n'est pas nécessaire	71
Le laboratoire a déjà effectué un Western Blot	5
Une confirmation par Western Blot est nécessaire ¹	2
Confirmation des IgG et IgM Borrelia si positifs: → Western Blot si le médecin prescripteur le souhaite (il pense à une fausse positivité)	1
Contrôle dans 2 à 3 semaines	1
Une sérologie de contrôle dans 2 à 3 semaines pourrait s'avérer utile vu la clinique	1
Contrôle dans 3 à 4 semaines	1
Dans un stade très précoce, la sérologie peut être négative. En cas de suspicion clinique, il est conseillé de répéter la sérologie après quelques semaines.	1
Total	83

¹ Un de ces 2 laboratoires a mentionné qu'il est conseillé d'effectuer le Western Blot vu la mono-arthrite. L'anamnèse est également importante.

Résumé des labos individuels avec résultats et/ou interprétations aberrants

IgG non blot **borderline**, IgM non blot **borderline**, IgM blot **borderline**, interprétation « **Résultats borderline en ELISA et Blot (contrôle absolument nécessaire dans quelques semaines)** »:

1 labo

IgG+M généraux négatif, IgG blot **positif**, IgM blot **borderline**, interprétation **code 2**:

1 labo

IgG+M généraux négatif, IgG blot **borderline**, IgM blot négatif, interprétation code 1:

2 labos

IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, interprétation **code 2**:

2 labos

IgG+M généraux négatif, IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, interprétation **code 2**:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **positif**, IgM blot négatif, interprétation code 1:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, interprétation **code 3**:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, interprétation « **Attendre résultat WB** »:

1 labo

IgG+M généraux négatif, IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, interprétation code 1:

1 labo

IgG+M généraux négatif, IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, interprétation « **Borrelia IgM douteux. Une confirmation est nécessaire!** »:

1 labo

IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, IgM blot négatif, interprétation code 1:

2 labos

IgG non blot négatif, IgM non blot **borderline**, IgM blot négatif, interprétation « **Absence d'anticorps anti-Borrelia. Un prélèvement de contrôle est conseillé dans 3-4 semaines.** »:

1 labo

IgG non blot en blot négatif, IgM non blot **borderline**, IgM blot négatif, interprétation code 1:

1 labo

IgG blot négatif, IgM blot **positif**, interprétation **code 3**:

1 labo

6.1.5. Commentaire concernant l'enquête

L'échantillon S/4897 avait été envoyé avec les informations cliniques suivantes : homme de 45 ans, garde forestier, pas de plaintes particulières. Examen fait dans le cadre d'un bilan de santé.

La séroprévalence via à vis de *Borrelia* spp est élevée chez les professionnels exposés aux piqûres de tiques et par ailleurs en bonne santé, comme les bûcherons et les garde forestiers: 15 % en Ile-de-France, 26 % en Alsace, 24 % en Slovénie et jusqu'à 32 % dans certaines régions de Pologne. Le screening des anticorps anti-*Borrelia* dans ce type de population a un intérêt dans le cadre d'études épidémiologiques mais n'a pas sa place dans un bilan de santé, sauf si des symptômes cliniques suggestifs sont présents.

Résultats : La détermination des IgG et des anticorps totaux n'a posé aucun problème. Par contre, sur 20 utilisateurs de la trousse EuroImmune Borrelia Plus VlsE ELISA IgM, 15 ont obtenu un résultat faussement positif (11) ou borderline (4).

La firme EuroImmune, contactée à ce sujet, a répondu que son test est très sensible et que tout résultat positif ou douteux devait être confirmé par un immunoblot.

Les tests ELISA d'EuroImmune contiennent les antigènes natifs des 3 espèces principales de *Borrelia*, ce qui les rend probablement bien sensibles, mais également moins spécifiques à cause de la présence de la protéine p41, antigène flagellaire commun à tous les spirochètes. La moins bonne spécificité de ces tests conduit donc à la réalisation d'immunoblots inutiles et coûteux. Une alternative pour les utilisateurs de ce type de trousse pourrait être de demander un sérum de contrôle 2 ou 3 semaines plus tard plutôt que de réaliser d'emblée un immunoblot.

Interprétation : La majorité des laboratoires a rendu l'interprétation correcte « absence d'anticorps anti-*Borrelia* »

Quatre laboratoires ont répondu l'interprétation « Présence d'anticorps anti-*Borrelia* » sur base d'un test ELISA IgM positif uniquement. La spécificité des IgM anti-*Borrelia* est très variable selon les kits et peut descendre jusqu'à 52 % chez des patients avec une infection virale ou un facteur rhumatoïde. Il est donc important de confirmer la présence d'IgM par un immunoblot ou mieux, d'observer l'apparition d'IgG sur un sérum de contrôle 2 ou 3 semaines plus tard.

En effet, même les immunoblots IgM montrent une mauvaise concordance entre eux, certains manquant de spécificité.

Deux laboratoires ont répondu « présence d'anticorps » alors qu'ils ont réalisé un western blot et que celui-ci est négatif.

L'échantillon S/5379 avait été envoyé avec les informations cliniques suivantes : homme de 63 ans avec une arthrite du genou droit.

Dans la maladie de Lyme, les arthrites se présentent sous forme de mono-arthrite atteignant les grosses articulations ce qui est donc compatible avec les symptômes de ce patient.

Résultats : comme pour l'échantillon précédent, la détection des IgG et des anticorps totaux n'a pas posé de problème, alors que 13 laboratoires trouvent un résultat positif ou borderline pour les IgM. Le problème se pose avec la même trousse que pour l'échantillon précédent.

Interprétation : La majorité des laboratoires a rendu l'interprétation correcte « absence d'anticorps anti-*Borrelia* ». Trois laboratoires ont répondu l'interprétation « Présence d'anticorps anti-*Borrelia* » sur base d'un ELISA positif uniquement. Comme déjà mentionné, la médiocre spécificité de ces tests nécessite une confirmation par western blot et/ou une vérification de l'apparition d'IgG sur un second sérum 2 à 3 semaines plus tard.

En cas d'arthrite de Lyme, les IgG sont positives et généralement à un taux élevé. Dans le cas de ce patient, l'absence d'IgG exclut donc ce diagnostic et un contrôle ultérieur n'est pas nécessaire.

En conclusion, le diagnostic de borreliose reste difficile, en raison de la grande variabilité de la performance des tests sérologiques disponibles et de la faible sensibilité de la recherche directe du pathogène. Les recommandations classiques consistent à réaliser un test de screening IgG et IgM ou anticorps totaux de type immunoassay suivi d'un immunoblot en cas de résultat positif ou douteux. La confirmation par immunoblot n'est pas toujours nécessaire si la suspicion clinique de borreliose est élevée. En cas d'érythème migrant, manifestation pathognomonique, le diagnostic est clinique et la sérologie n'est pas nécessaire.

Les résultats de sérologie *Borrelia* doivent toujours être interprétés en fonction des renseignements cliniques. La présence d'anticorps spécifiques ne prouve pas l'existence de la maladie mais peut être liée à un contact ancien, symptomatique ou non. Etant donné la faible sensibilité de la sérologie dans les premières semaines, il est important de prévoir un échantillon de suivi lorsque la sérologie est négative ou douteuse, mais uniquement en cas de suspicion clinique d'infection récente.

Dr ML Delforge, ULB/Erasmus, Bruxelles

Références

1. EUCALB-European Concerted Action on Lyme-Diagnosis : Borreliosis <http://meduni09.edis.at/eucalb/cms/index.php?lang=en>.
2. ME Agüero-Rosefeld. Lyme Disease : Laboratory Issues. *Infect Dis Clin North Am* 22 (2008) 301-313.
3. CW Ang et al. Large differences between test strategies for the detection of anti-*Borrelia* antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011 Published online Jan 27.
4. B Wilske et al. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 49 (2007) 13-21.
5. A. Smismans et al. Comparison of five different immunoassays for the detection of *Borrelia burgdorferi* IgM et IgG antibodies. *Clin Microbiol Infect.* 2006 Jul;12(7):648-55.

6.2. CMV

6.2.1. Les échantillons

Deux échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de CMV.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/4173: Femme en âge de procréation, ayant consulté pour un syndrome grippal accompagné de myalgies, de fièvre et de malaise généralisé. L'échantillon soumis au Q.C. a été prélevé un mois après le début des manifestations cliniques.

S/4898: Une semaine après, le mari de la patiente mentionnée ci-dessus, consulte son généraliste avec les mêmes symptômes.

Les résultats attendus étaient :

S/4173: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Sérologie négative pour CMV (code 04)

S/4898: IgG positif
IgM négatif
Interprétation: Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV (code 03)

6.2.2. Les participants

168 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 337 tests pour l'échantillon S/4173 et 359 tests pour l'échantillon S/4898.

En plus trois laboratoires de firme ont effectué ces tests avec des résultats corrects. Ils ont utilisé les trousseaux suivantes (les tests d'avidité n'ont été effectués que sur l'échantillon S/4898):

- recomBlot CMV IgG, recomBlot CMV IgM et recomBlot CMV IgG avidity (Mikrogen, distributeur Euribel)
- Liaison CMV IgG, Liaison CMV IgM et Liaison CMV IgG avidity (DiaSorin)
- Immulite CMV IgG et Immulite CMV IgM (Siemens)

Les tests effectués sur l'échantillon S/4173 étaient repartis comme suit : 1 détermination des anticorps totaux, 168 IgG, 167 IgM et 1 détermination de l'avidité.

Les tests effectués sur l'échantillon S/4898 : 1 détermination des anticorps totaux, 169 IgG, 169 IgM et 20 déterminations de l'avidité.

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

Tableau 6.2.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests		Types de tests	S/4173	S/4898
1 test	IgG		3	3
2 tests	IgG + IgM		160	141
	IgG + Ac. totaux		1	1
3 tests	IgG + IgM + avidité		1	17
	IgG + IgM + IgM		3	3
4 tests	IgG + IgM + IgM + avidité		-	2
	IgG + IgG + IgM + avidité		-	1
Total			168	168

6.2.3. Réactifs utilisés

Pour la détermination des anticorps totaux

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

Pour la détermination des IgG

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

Fabricant	Trousse	S/4173	S/4898
Abbott	Architect CMV IgG	38	38
	AxSYM CMV IgG	25	25
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DxI CMV IgG	6	6
	Access CMV IgG	1	1
bioMérieux	VIDAS CMV IgG	27	28
Diasorin	Liaison CMV IgG	34	34
	ETI-CYTOK-G Plus	2	2
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus CMV IgG	1	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products CMV IgG	4	4
Roche	Modular CMV IgG	6	6
	Cobas CMV IgG	6	6
	Elecsys CMV IgG	1	1
	Immulite CMV IgG	13	13
Siemens	Enzygnost anti CMV IgG	4	4
Total		168	169

Pour la détermination des IgM

Tableau 6.2.3.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps IgM anti-CMV

Fabricant	Trousse	S/4173	S/4898
Abbott	Architect CMV IgM	36	36
	AxSYM CMV IgM	18	18
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DxI CMV IgM	6	6
	Access CMV IgM	1	1
bioMérieux	VIDAS CMV IgM	32	33
	VIDIA CMV IgM	1	2
Diasorin	Liaison CMV IgM	35	35
	ETI-CYTOK-M reverse Plus	3	3
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus CMV IgM	1	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products CMV IgM	4	4
Roche	Modular CMV IgM	6	6
	Cobas CMV IgM	5	5
	Elecsys CMV IgM	1	1
Siemens	Immulite CMV IgM	14	14
	Enzygnost anti CMV IgM	4	4
Total		167	169

Pour la détermination de l'avidité

Tableau 6.2.4.: Réactifs utilisés pour la détermination de l'avidité des IgG anti-CMV

Fabricant	Trousse	S/4173	S/4898
Abbott	Architect CMV IgG avidity	-	1
bioMérieux	VIDAS CMV IgG avidity	1	15
DiaSorin	Liaison CMV IgG avidity	-	4
Total		1	20

6.2.4. Résultats

6.2.4.1 Echantillon S/4173

Anticorps totaux

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

IgG

166 laboratoires ont obtenu un résultat négatif. Deux laboratoires ont fourni la réponse « positif » : un des deux a probablement inversé les 2 échantillons (résultat pour S/4898 : « négatif ») ; l'autre a probablement coché la mauvaise case (le résultat quantitatif plaide en faveur d'un résultat négatif et l'interprétation est « sérologie négative »)

IgM

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

L'avidité

Le laboratoire ayant effectué ce test a obtenu un résultat intermédiaire, mais il a mentionné qu'en routine ce test ne serait pas effectué et/ou transmis.

Interprétations

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau 6.2.5.

Tableau 6.2.5. Interprétations pour l'échantillon S/4173

Interprétation	Nombre de laboratoires
Sérologie négative pour CMV (code 004)	164
Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV (code 003) ¹	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV (code 001) ²	1
IgG négatifs ³	1
Pas de réponse ⁴	1
Total	168

¹ Interprétation fourni par le labo qui a probablement inversé les 2 échantillons (et donc obtenu un résultat positif pour les IgG).

² Interprétation fourni par un labo qui a obtenu des résultats négatifs pour les IgG et les IgM.

³ Interprétation fourni par un labo qui n'a déterminé que les IgG.

⁴ Le labo qui a déterminé les Ac. totaux et les IgG, a laissé ouvert l'interprétation.

6.2.4.2 Echantillon S/4898

Anticorps totaux

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

IgG

165 laboratoires ont obtenu un résultat positif (le laboratoire ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes a obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques). Un laboratoire a obtenu un résultat borderline. Deux laboratoires ont fourni la réponse « négatif » : un des deux a probablement inversé les 2 échantillons (cfr. échantillon S/4173) ; l'autre a probablement inversé les IgG et IgM au moment de remplir le formulaire (les IgM sont « positif » mais l'interprétation est « infection ancienne »).

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

Tableau 6.2.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps anti-CMV IgG pour l'échantillon S/4898 pour les trousse les plus utilisées

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect CMV IgG (AU/mL)	37	134.0	71.0	153.6	6
AxSYM CMV IgG (AU/mL) ¹	24	193.3	67.9	248.0	15
VIDAS CMV IgG (AU/mL)	27	60	34	70	6
Liaison CMV IgG (IU/ml) ²	32	4.25	1.6	6.1	0.6
Immulate CMV IgG (index) ³	13	8.19	4.9	9.42	1.1

¹ En outre 1 laboratoire a répondu > 250 AU/mL.

² Deux laboratoires ont donné des résultats quantitatifs tout à fait différents et ont probablement utilisé d'autres unités.

³ Le laboratoire ayant interprété les IgG comme borderline, a obtenu un index de 8.22.

IgM

Un aperçu des résultats est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.7. Résultats obtenus pour les CMV IgM pour l'échantillon S/4898.

Résultat	Nombre de laboratoires
Négatif	159
Négatif/borderline ¹	1
Négatif/positif ¹	1
Borderline	1
Positif ²	2
Total	164

¹ Deux laboratoires ont obtenus des résultats différents pour les 2 trousse qu'ils ont utilisées; les trois autres labos ayant utilisé 2 trousse ont obtenu 2 fois un résultat négatif. Les 2 laboratoires ayant obtenu des résultats différents, ont cependant fourni l'interprétation « infection ancienne ».

² Un de ces 2 laboratoires est le laboratoire mentionné ci-dessus qui a probablement inversé les IgG et IgM au moment de remplir le formulaire.

Les 2 "vrais" résultats positifs et les 2 résultats borderline ont tous été obtenus avec la trousse AxSYM CMV IgM (avec des index respectifs de 0.514 et 0.563 pour les résultats positifs et 0.443 et 0.455 pour les résultats borderline). Les 14 autres utilisateurs de cette trousse ont obtenu un résultat négatif (13 ont répondu l'index retrouvé: médiane 0.260, minimum 0.110 et maximum 0.400). La firme Abbott a été contactée à ce sujet et examine l'échantillon. Dès que les résultats de leur examen seront connus, nous vous les communiqueront.

L'avidité

17 laboratoires ont obtenu une avidité élevée ; un laboratoire a fourni la réponse « intermédiaire » (résultat quantitatif 68.7%) et 2 laboratoires une réponse « faible » (résultats quantitatifs respectivement 28% et 75.5%).

Pour la trousse la plus utilisé (VIDAS) nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat). Ils sont présentés dans le tableau 6.2.8. Pour la simplicité des calculs, tous les résultats ont été recalculés en %.

Tableau 6.2.8. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour l'avidité de CMV pour l'échantillon S/4898 pour l'appareil VIDAS

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
VIDAS CMV IgG avidity (%)	14	84.0	68.7	90.5

Interprétations

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau 6.2.9.

Tableau 6.2.9. Interprétations pour l'échantillon S/4898

Interprétation	Nombre de laboratoires
Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV (code 003)	162
Sérologie négative pour CMV (code 004) ¹	1
Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV (code 001) ²	1
Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire par contrôle avec une autre méthode et un échantillon de suivi pour les IgG. Une avidité élevée plaide en faveur d'une autre infection ³	1
Un nouveau prélèvement est souhaitable après 3 semaines ⁴	1
IgG négatifs ⁵	1
Pas de réponse ⁶	1
Total	168

¹ Interprétation fourni par le labo qui a probablement inversé les 2 échantillons (et donc obtenu un résultat négatif pour les IgG).

² Interprétation fourni par un labo qui a obtenu un résultat positif pour les IgG, un résultat négatif pour les IgM et une avidité faible.

³ Interprétation fourni par un labo qui a obtenu des résultats positifs pour les IgG et les IgM et une avidité élevée.

⁴ Interprétation fourni par un labo qui a obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat borderline pour les IgM.

⁵ Interprétation fourni par un labo qui n'a déterminé que les IgG.

⁶ Le labo qui a déterminé les Ac. totaux et les IgG, a laissé ouvert l'interprétation

6.2.5. Commentaire sur l'enquête

Le diagnostic d'une infection par le cytomegalovirus chez les patients immunocompétents en général et chez les femmes enceintes en particulier se fait par sérologie. Il est principalement basé sur une séroconversion objectivée ou une croissance significative du titre des anticorps IgG. Toutefois, il est impossible, pour un échantillon de sérum isolé, ou en cas de titres d'IgG qui ont atteint un plateau, avec la présence concomitante d'IgM, d'essayer de dater l'infection ou de distinguer une infection primaire d'une réactivation, réinfection ou stimulation polyclonale sur seule base des analyses d'IgG et IgM. Cette information est cependant nécessaire pour un diagnostic prénatal adéquat, où on essaie d'obtenir une connaissance concernant une infection primaire par CMV. Le test d'avidité anti-CMV IgG est actuellement la procédure sérologique la plus fiable pour exclure une infection primaire (en cas d'avidité élevée). Une avidité faible ne peut pas exclure une infection ancienne, étant donné qu'il existe une proportion de patients infectés qui ont pendant une longue période des anticorps IgG à avidité faible persistants. Ceci est dû à la variation interindividuelle de la maturation des anticorps IgG au cours du temps après une infection primaire. Le pourcentage de personnes de la population générale avec des anticorps anti-CMV IgG à avidité élevée dépend en plus du test utilisé et du cut-off de ce test.

Les déterminations de l'avidité sont basées sur l'addition d'un réactif (comme l'urée) qui brise le lien Ag-Ac pendant un test EIA ou d'un réactif bloquant (comme un lysat de CMV) qui interfère avec la liaison Ag-Ac au cours d'un test de CMIA (chemiluminescente microparticule immunoassay). Les réactifs utilisés ont un effet limité sur la liaison d'anticorps à avidité élevée mais un effet significatif sur les liaisons d'anticorps à avidité faible qui sont produits dans un stade précoce de l'infection primaire. La détermination repose donc sur la comparaison des résultats obtenus avec et sans ce réactif interférant.

S/4173

Les résultats des IgG et IgM anti-CMV sont rassurants. Pour les 2 résultats "faux positifs" existe une explication valable. Un seul labo a effectué la détermination de l'avidité des IgG en dépit de l'absence d'anticorps! Non seulement ceci n'est pas pertinent, en plus il peut prêter à confusion. Le résultat était: avidité intermédiaire! Il faut toujours effectuer d'abord une détermination des IgG avant d'effectuer la détermination de l'avidité. Les firmes qui disposent d'un test d'avidité IgG dans leur gamme (Abbott, bioMérieux, Diasorin) préviennent eux-mêmes dans leur insert qu'on ne peut tester que des sérums avec une valeur IgG au-dessus du cut-off de positivité. Si on teste des échantillons avec des concentrations plus basses ou sans anticorps, ceci peut causer une classification fautive de l'échantillon et par conséquent une information fautive au patient.

Pour l'interprétation, 165 des 168 laboratoires ont donné la réponse correcte, 1 laboratoire n'a pas fourni d'interprétation. Les deux autres interprétations étaient des situations différentes. Dans le labo qui a interverti les échantillons, les résultats ne correspondaient pas aux résultats attendus pour ce sérum, mais leurs interprétations correspondaient aux résultats qu'ils avaient trouvés. La dernière interprétation ("Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV") est incorrecte pour des résultats négatifs pour les 2 anticorps ! Un mois après le début des symptômes cliniques, on s'attend chez des personnes immunocompétentes à retrouver les conséquences d'une réponse immunitaire humorale dans le sérum, suivant la cinétique physiologique normale. En plus on ne peut jamais suggérer une infection récente en cas de sérologie négative. En cas de doute concernant le début des symptômes vis-à-vis du moment de prélèvement, on peut mentionner qu'en cas de suspicion élevée clinique et

la possibilité d'un intervalle trop petit entre début de la clinique et le prélèvement, il est conseillé de prélever un échantillon de suivi.

S/4898

Il y a peu de problèmes pour la détermination des IgG. Le labo ayant répondu borderline pour les IgG, a obtenu un indice clairement positif, mais il a interprété fautivement. Concernant les 2 laboratoires qui ont répondu "négatif", un des 2 a interverti les 2 échantillons et dans l'autre cas il semble y avoir une négligence au moment de remplir le formulaire de réponse puisque l'interprétation finale est correcte. Pour toutes les trousse utilisées les valeurs retrouvées étaient au-dessus du cut-off, et en principe il n'y pas de problèmes pour les valeurs d'IgG dans ce sérum.

Concernant les IgM, on constate un problème avec une trousse commerciale, la trousse AxSYM CMV IgM, avec laquelle au total quatre résultats « faux positifs » ou borderline ont été obtenus. C'est bien que les utilisateurs de cette trousse connaissent en partie le problème, vu que 2 des 4 laboratoires disposent d'une deuxième technique pour les IgM: de cette façon ils peuvent intercepter le rapportage d'IgM aspécifiques et fournir une interprétation finale correcte au clinicien.

Concernant l'exécution d'une détermination d'avidité IgG sur cet échantillon, il faut préciser qu'en routine il n'existe pas d'argument pour effectuer ce test chez un jeune homme en bonne santé. Les 21 laboratoires qui ont cependant déterminé l'avidité l'ont fait parce qu'il s'agit d'un EEQ.

Quand on regarde les résultats numériques, les valeurs obtenues étaient bonnes. Concernant la manière de répondre on peut mentionner que 2 valeurs répondues comme "faible" n'auraient pas dû être interprétées ainsi, si on consulte les inserts respectifs. Une valeur de 28% avec la trousse d'avidité de Diasorin doit être répondue comme "avidité intermédiaire ou moyenne" à partir de 20% à 29% (<0.2 doit être considérée comme avidité faible). Et une valeur de 75.5% sur Vidas ne permet pas de faire la distinction entre une infection primaire récente ou ancienne mais n'est pas faible (indice d'avidité < 0.2 est une forte indice pour une infection primaire de moins de mois). La dispersion des indices d'avidité (Tableau 6.2.8) obtenu sur Vidas (BioMérieux) indique en effet que pour les sérums avec des valeurs d'avidité proche du seuil discriminatoire entre avidité intermédiaire et élevée, il peut y exister des fluctuations. Cette donnée n'influence pas les caractéristiques de performance de la trousse. Néanmoins le diagnostic d'une infection ne peut pas être établi systématiquement sur base d'un seul test, mais une avidité "intermédiaire" (éventuellement proche du cut-off pour avidité élevée) doit être interprétée en association avec les symptômes cliniques, les résultats d'autres procédures diagnostiques ou d'un sérum de contrôle et avec une notion médicale.

M. Reynders, AZ St-Jan, Brugge

Références

1. Barbi M, Binda S, Caroppo S, Primache V. 2006. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection and hearing loss. *J Clin Virol.* 35:206-209.
2. Lazzarotto T, et al. 2008. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol.* 41:192-197.
3. Lazzarotto T. 2010. The best practices for screening, monitoring, and diagnosis of cytomegalovirus disease, Part I. *Clinical Microbiology Newsletter.* 32(1):1-6.
4. Lazzarotto T. 2010. The best practices for screening, monitoring, and diagnosis of cytomegalovirus disease, Part II. *Clinical Microbiology Newsletter.* 32(2):9-15.