

**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 2011/02

CE RAPPORT NE VOUS SERA PLUS ENVOYE PAR LA POSTE

Microbiologie

Enterobacter gergoviae
Enterococcus faecium
Escherichia coli
Listeria monocytogenes

Parasitologie

Cryptosporidium parvum
Cyclospora cayetanensis

Sérologie

EBV
Rubella
Ag de la Legionella

ISP-11/02/Micro/Séro/Para/84

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

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 2^e enquête du cycle 2011 (enquête 2011/2), le matériel suivant a été expédié le 18 avril 2011.

1.1 Quatre échantillons lyophilisés pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2 Deux échantillons de selles formolées pour la recherche de parasites.

1.3 2 échantillons de plasma pour la sérologie de la **rubéole** et de l'**EBV** et **2 échantillons d'urine** pour la détermination de l'**Ag de la Legionella**.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1. Pour les identifications et antibiogrammes:	170
2. Pour la parasitologie:	163
3. Pour la sérologie	
Rubéole:	153
EBV:	79
Ag de Legionella :	

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/5383 *Enterobacter gergoviae*

Caractéristique biologique et habitat

Enterobacter gergoviae est une espèce qui est relativement peu fréquente dans le laboratoire clinique et qui appartient au genre *Enterobacter*. C'est une bactérie de l'environnement qui est retrouvée dans l'eau et la terre, qui peut coloniser les racines du maïs et qui peut être isolée en clinique dans les urines, les échantillons respiratoires, les abcès et les hémocultures. Des épidémies ont été récemment publiées dans des unités pédiatriques (réf 6) ou lors d'utilisation de solutions injectables contaminées (réf 2)

Identification

L'identification à l'espèce d'*E. gergoviae* ne pose aucun problème quel que soit la méthode utilisée comme le montre les résultats de l'enquête.

Sensibilité aux antibiotiques.

Cette espèce contient comme la plupart des autres espèces d'*Enterobacter* une β -lactamase chromosomique de type ampC (activité de céphalosporinase et résistante à l'acide clavulanique). Le profil de résistance aux B-lactamines dépend du niveau de production de l'enzyme, certaines souches pouvant être hyperproductrices, Il existe aussi des souches productrices de BLSE. L'espèce a également une sensibilité naturelle à beaucoup d'antibiotiques classiques n'appartenant pas aux classes des β -lactamines, mais la résistance acquise n'est pas rare.

Geert Claeys, UZ Gent

Références

1. Grimont F, Grimont PAD. The genus *Enterobacter*. In: BalowsA, TrüperHG, DworkinM, HarderW, SchleiferKH. eds. *The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications* New York: Springer-Verlag, 1992: 2797–815.
2. Chen KJ, Yang KJ, Sun CC, Yeung L. *Traumatic endophthalmitis caused by Enterococcus raffinosus and Enterobacter gergoviae*. J Med Microbiol. 2009 Apr;58(Pt 4):526-8.
3. Cheng, Y. & Chen, M. (1994). *Extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Enterobacter gergoviae and Escherichia coli in China*. *Antimicrob Agents Chemother* 38, 2838–2842
4. J.Verhaegen, J.Vandeven, M.Pyckavet. *Medische microbiologie voor laboratoriumtechnologen*. Acco, Leuven.
5. Stock, I. & Wiedemann, B. (2002). *Natural antibiotic susceptibility of Enterobacter amnigenus, Enterobacter cancerogenus, Enterobacter gergoviae and Enterobacter sakazakii strains*. *Clin Microbiol Infect* 8, 564–578.
6. Nataša Boban, Ana Jerončić, Volga Punda-Polić *Outbreak of nosocomial bacteremias, caused by Enterobacter gergoviae and Enterobacter aerogenes, in the neonatal intensive care unit, case - control study* SIGNA VITAE 2011; 6(1): 27 – 32.
7. Ganeswire R; Thong KL; Puthucheary SD *Nosocomial outbreak of Enterobacter gergoviae bacteraemia in a neonatal intensive care unit* . JOURNAL OF HOSPITAL INFECTION 2003. 53, 292-296.

2.2. Culture M/10848 *Enterococcus faecium*

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

Il sera repris comme annexe dans un rapport global suivant.

Avec toutes nos excuses.

2.3. Culture M/11025 *Escherichia coli*

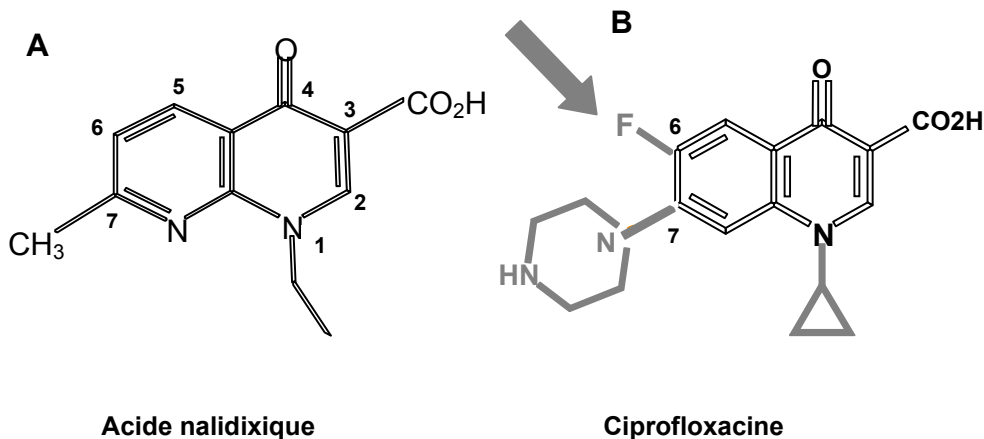
L'échantillon M/11025 était une souche d'*Escherichia coli* qui présentait la particularité d'être résistante aux fluoroquinolones tout en demeurant bien sensible aux beta-lactamines et au cotrimoxazole. En outre cette souche était résistante à la nitrofurantoïne.

Bien que les modes d'action et les mécanismes de résistance des bactéries aux fluoroquinolones (cf. infra) soient bien spécifiques et non liés à ceux des autres classes d'antibiotiques, une corésistance à plusieurs classes d'antibiotiques (dont les pénicillines et les céphalosporines, le cotrimoxazole, les tétracyclines et parfois aussi les aminoglycosides) est souvent associée à la résistance aux quinolones. Ceci peut s'expliquer d'une part par des expositions répétées des patients à plusieurs cures de traitement antibiotique et aussi par l'association chez une même bactérie de multiples gènes de résistance qui sont colocalisés sur des structures génétiques communes (intégrons) et transmis via des éléments mobiles multiples (transposons, plasmides,...).

Les quinolones sont des composés antibactériens entièrement synthétiques dont le chef de file, l'acide nalidixique a été découvert en 1962. Toutes ces molécules possèdent un cycle pyridine (avec un noyau azote diversement substitué et une fonction cétone (-C=O) en position 4 ainsi qu'un groupement carboxylique (-COOH) en position 3. Ce cycle est accolé à un autre cycle aromatique variable (benzène, pyridine ou pyrimidine) (cf. Figure 1).

Les premières fluoroquinolones (acide oxolinique, acide pipémidique) étaient des molécules à spectre étroits (entérobactéries) et avaient une pharmacocinétique n'autorisant leur utilisation que dans les infections urinaires non compliquées (temps de demi-vie court et concentrations tissulaires insuffisantes en dehors des urines). Au début des années 80 sont apparues les fluoroquinolones (norfloxacine, ciprofloxacine, ofloxacine). Ces composés ont en commun une structure avec un atome de fluor en position 6 et un cycle azoté (pipérazine) en position 7.

Fig. 1. Structure comparée de l'acide nalidixique (A) et de la ciprofloxacine (B)



Les caractéristiques chimiques confèrent à ces molécules une activité intrinsèque accrue sur les entérobactéries ainsi qu'un élargissement du spectre sur les staphylocoques (pas sur les souches méthicillino-résistantes) et aussi sur *Pseudomonas aeruginosa* (environ 1/4 à 1/3 des souches sont cependant actuellement résistantes). Les propriétés pharmacologiques plus favorables de ces molécules (temps de demi-vie allongé, biodisponibilité équivalente par voie orale et veineuse) ont élargi leurs indications cliniques (infections urogénitales compliquées (p.ex. : prostatite), infections ostéo-articulaires, infections pulmonaires à *Pseudomonas*). De

plus, l'arrivée de nouvelles molécules à la fin des années 90 (lévofloxacine) et au début des années 2000 (moxifloxacine) a permis un nouvel élargissement des indications des fluoroquinolones, essentiellement aux infections respiratoires, grâce notamment à une activité accrue sur les streptocoques, pneumocoques, anaérobies, mycoplasmes et *Legionella*) sans modification notable de leur performance vis-à-vis des entérobactéries et des autres bactéries à Gram-négatifs.

Modes d'action et mécanismes de résistance

Les quinolones interagissent avec la DNA gyrase et avec la topoisomérase IV qui sont des enzymes impliquées dans les changements de conformation structurelle (superenroulement et relaxation de l'ADN) dans le chromosome de la bactérie pendant les phases de réplication et de transcription. Cette interaction aboutit à la formation d'un complexe ternaire par liaison covalente stable (quinolone-DNA-DNA gyrase) et à l'inhibition irréversible de l'activité enzymatique suivie de la fragmentation du DNA et de la mort cellulaire des bactéries. La résistance aux fluoroquinolones se développe suite à l'apparition de mutations dans les régions codantes des deux sous-unités de la DNA gyrase (*gyrA* et *gyrB*) ainsi que dans des domaines codants pour la DNA topoisomérase IV (*parC*). L'accumulation de plusieurs mutations dans un ou plusieurs de ces gènes diminue l'affinité des quinolones pour leurs cibles d'action et augmente la CMI par paliers progressifs (stepwise resistance). Une résistance de bas niveau aux fluoroquinolones peut aussi se développer suite à des modifications structurelles ou quantitatives dans certaines porines (OmpF) de la membrane externe ou encore par surexpression de systèmes de pompes membranaires à efflux actif. Ces modifications aboutissent à une diminution de l'accumulation intra-cytoplasmique des quinolones soit par diminution de la perméabilité membranaire soit par augmentation de l'efflux actif. Au cours des dernières années, plusieurs mécanismes de résistance plasmidique transférable aux quinolones ont été identifiés, et notamment: la présence de petites protéines à motifs pentapeptidiques répétés (Qnr) qui protègent la DNA gyrase de la fixation des quinolones, l'enzyme AAC6'-Ib-cr, qui inactive certaines fluoroquinolones (ciprofloxacine, norfloxacine) par acétylation d'un noyau pipérazine, et la pompe à efflux QepA qui expulse de la bactérie les quinolones de structure hydrophilique (ciprofloxacine, norfloxacine). L'émergence de ces mécanismes de résistance plasmidique constituent un sujet d'inquiétude compte tenu de leur caractère transférable et de leur association fréquente avec d'autres mécanismes de résistances, notamment avec différents types de BLSE (SHV, CTX-M) ou de céphalosporinases (de types CMY ou FOX) qui inactivent les céphalosporines de troisième et de quatrième génération.

Epidémiologie de la résistance aux quinolones

De nombreuses études font état d'une augmentation progressive de la résistance aux quinolones chez *Escherichia coli* au cours des deux dernières décennies partout dans le monde. En Europe, les données du programme de surveillance Européen EARS-Net coordonné par l'ECDC montrent qu'une augmentation de la résistance aux quinolones chez *E. coli* est observée dans la plupart des pays depuis le début des années 2000. Ainsi en Belgique la proportion de souches invasives d'*E. coli* (isolats d'hémocultures positives) résistantes aux quinolones est passée de 8.9% en 2001 à 20% en 2009. Ces statistiques reflètent très largement la consommation importante de cette classe d'antibiotiques en médecine humaine (mais aussi dans le milieu vétérinaire et dans les secteurs agro-alimentaires). Le taux élevé de résistance aux quinolones (20%) maintenant observé chez *E. coli* tant en médecine de ville qu'en milieu hospitalier contre-indique l'utilisation empirique de cette classe d'antibiotiques en première intention en particulier chez les personnes ayant été exposées à des traitements récents à base de quinolones (cf. recommandations du guide Sanford Belge, Edition 2010/2011).

Etudes de sensibilité in vitro au laboratoire

Les antibiotiques à étudier à l'antibiogramme pour les entérobactéries ainsi que les valeurs critiques recommandées en Europe par l'EUCAST et aux Etats-Unis par le CLSI sont consignés dans le Tableau 1 ci-dessous. Il est bien établi qu'une résistance de haut niveau à l'acide nalidixique traduit la présence d'une première mutation *gyrA* et que celle-ci est le plus souvent associée à une diminution de la sensibilité vis-à-vis de l'ensemble des fluoroquinolones. Cependant une résistance à l'acide nalidixique ne permet pas de préciser la nature exacte du mécanisme de résistance (et notamment de différencier la résistance par mutation chromosomique par rapport à la résistance plasmidique ou par diminution de l'accumulation intracellulaire (efflux ou imperméabilité membranaire)). De plus, l'acide nalidixique n'étant plus utilisé en clinique, il ne paraît plus recommandé de tester encore cette molécule sur l'antibiogramme.

La norfloxacine devrait être testée uniquement sur les isolats urinaires car cet antibiotique n'est utilisé que pour le traitement d'infections urinaires non compliquées. Le choix entre ciprofloxacine et lévofloxacine devrait être basé sur des considérations locales (coût du traitement, effets secondaires), et il n'est pas nécessaire de les tester les deux molécules car leur activité intrinsèque est très similaire sur les entérobactéries et les résistances sont habituellement croisées. Il n'est pas nécessaire de tester l'activité de la moxifloxacine en routine sur les entérobactéries car le créneau d'utilisation de cet antibiotique est essentiellement limité au traitement de pneumonies communautaires chez des patients allergiques aux pénicillines. La moxifloxacine ne présente par ailleurs aucun avantage en terme d'activité antibactérienne sur les bactéries à Gram-négatif et le coût de traitement est nettement plus élevé que celui des autres fluoroquinolones.

Tableau 1. Seuils et concentrations critiques des quinolones pour les Entérobactéries

Quinolone	EUCAST (2011)	CLSI (2011)
Norfloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 4 / R ≥ 16
Ofloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 2 / R ≥ 8
Ciprofloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	S ≤ 1 / R ≥ 4
Lévofloxacine	S ≤ 1 / R > 2 (≥ 4)	S ≤ 2 / R ≥ 8
Moxifloxacine	S ≤ 0.5 / R > 1 (≥ 2)	-

Y. Glupczynski (UCL Mont-Godinne)

2.4. Culture M/11028 *Listeria monocytogenes* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémocultures prélevées chez un homme de 75 ans avec une histoire d'éthylisme et de cirrhose hépatique. Admis à l'hôpital pour plaintes cardiaques; pendant la nuit il fait 38.5°C de fièvre et il est confus ; des hémocultures (3 flacons) sont prélevées. Après 20h un flacon aérobie est positif. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

L'identification de la *Listeria* n'a pas posé de grands problèmes: 161 (94.7 %) des laboratoires ont retrouvé et correctement identifié le germe. Pour de plus amples informations concernant *L. monocytogenes* nous référons au commentaire de l'enquête EEQ 2007/3, échantillon M/6151 (p. 2-4) (https://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/download/microbiologie/2007/07-3F-MICROBIO.pdf).

La difficulté de cet échantillon se trouvait dans l'interprétation. Les informations cliniques mentionnaient qu'un seul flacon était positif – un fait qui n'est pas rare pour les septicémies à *L. monocytogenes* – mais en plus nous avons ajouté un staphylocoque à coagulase négatif (CNS).

L. monocytogenes est toujours significatif dans une hémoculture. Dans ce cas la possibilité que le CNS a également un rôle dans la maladie du patient est donc très faible et ce germe est donc probablement un contaminant. Cependant il est bien connu que les CNS peuvent parfois, même s'ils ne sont pas présents dans tous les flacons, mettre en évidence un problème clinique.

On retrouve une très grande diversité dans les façons de répondre par les laboratoires quand la possibilité de présence de « contaminants » (CNS, corynébactéries, microcoques, streptocoques viridans, ...²) existe.

Cette diversité est bien démontrée quand nous examinons les résultats de l'enquête: 114 labos n'ont mentionné que le *L. monocytogenes* et ne mentionnent même pas le CNS. D'un autre côté, il existe parmi les 47 labos qui ont mentionné les 2 germes, 16 centres qui répondraient la présence des CNS sans aucun commentaire et qui rapporteraient donc les 2 germes de façon égale!

Il est important qu'un labo ait une « politique » pour traiter de tels résultats: tous les résultats n'ont pas le même « poids ». Dans la phase post-analytique, le biologiste clinique doit interpréter ces résultats sur base individuelle et prendre soin qu'ils soient rapportés de façon claire et correcte. Contacter le clinicien devrait être un réflexe normal pour chaque hémoculture positive pertinente étant donné qu'il s'agit d'une « alarme dans la microbiologie ». Les données cliniques permettent de prendre une décision sur une base plus fondée. Ceci est aussi bien dans l'intérêt du patient (moins d'exams et traitements non-nécessaires) et dans celui du labo (identifications et antibiogrammes moins élaborés).

Quelques suggestions pour l'interprétation en cas de contaminants possibles:

- Prendre soin dans la procédure « prélèvement d'hémocultures » d'indiquer qu'il faut toujours effectuer au moins deux ponctions avec un volume final d'au moins 30 ml. Savoir comment le prélèvement a été effectué: qui a effectué la prise de sang, de quelle manière (veines périphériques, par cathéter central, directement dans les flacons ou par seringue...), y-a-t-il eu plusieurs prélèvements veineux? Un formulaire de réponse qui est déjà développé d'une telle manière peut être une grande aide. Demander toujours d'étiqueter correctement les flacons lors des prélèvements de façon qu'il soit possible de constituer les paires exactes. Si les flacons n'ont pas été étiquetés correctement, il faut le mentionner sous les remarques pré-analytiques: ceci peut être important lors de l'interprétation.
- Le nombre de flacons positifs avec un même isolat est le critère le plus important. Pour les germes qui sont connus comme contaminants possibles, on accepte en générale que « un seul positif n'est pas significatif ».
- Quand plusieurs flacons sont positifs avec un contaminant possible l'évaluation du « time to positivity » peut aider (plus les temps de différents flacons positifs sont homogènes, plus il y a une chance que ça soit significatif), de même que l'exécution d'un antibiogramme sur les isolats de différents flacons et de les comparer: des différences majeures entre les antibiogrammes augmentent la possibilité qu'il s'agit d'une contamination.
- Mentionner pour chaque germe où il existe un doute concernant la signification, une remarque dans le genre: « une contamination lors du prélèvement ne peut pas être exclue » et **ne JAMAIS transmettre d'antibiogrammes** tant qu'il n'est pas certain que le germe est significatif: *“not reporting these data on probable contaminants promotes good patient care”*³

Il est probablement important de remarquer ici que le pourcentage de « contaminants » dans les hémocultures d'un labo d'hôpital doit être suivi comme « *key performance indicator* » (avec comme valeur cible: $\leq 3\%$). Il existe d'ailleurs beaucoup de littérature sur comment réaliser la diminution du pourcentage de contamination.

Hans De Beenhouwer
OLVZ-Aalst

Références

1. CLSI. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2007.
2. Cumitech 1C Blood Cultures IV Baron E. J. et al., 2005. ASM Press, Washington, D.C
3. Improving the Clinical Utility of Microbiology Data: An update Joan Barenfanger. Clin Microbiol Newsletter 2003 ; 25 :(1) 1-8
4. Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients. Souvenir, D., et al., J. Clin. Microbiol. 1998; 36:1923-1926
5. Quality assurances:
Decreasing clinically irrelevant testing from clinical microbiology laboratories, part I Joan Barenfanger. Clin Microbiol Newsletter 2006 ; 28 :(3) 17-24
6. Updated Review of Blood Culture Contamination Keri K. Hall, Jason A. Lyman Clin Microbiol Rev. 2006; 19(4) : 788-802
7. Minimizing the Workup of Blood Culture Contaminants: Implementation and Evaluation of a Laboratory-Based Algorithm S. Richter, et al., J Clin Microbiol. 2002;40(7) : 2437-44
8. Doing it right the first time : Quality improvement and the contaminant blood culture F. Weinbaum et al. J Clin Microbiol. 1996; 35(3) : 563-65
9. Innovation for reducing blood culture contamination: initial specimen diversion technique. Patton RG, Schmitt T. J Clin Microbiol. 2010; 48(12) : 4501-3

III. Résultats des identifications

173 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 170 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 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/5383 *Enterobacter gergoviae* (urine)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Echantillon d'urine prélevé chez une femme de 77 ans qui a depuis quelques jours des plaintes d'infection urinaire. Elle se présente maintenant à l'hôpital avec une infection urinaire sévère. Examen urinaire direct: pyurie +++, bactéries +++.

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

<u><i>Enterobacter gergoviae</i></u>	163	95.9%
<i>Enterobacter gergoviae</i> + <i>Escherichia coli</i>	1	
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	
<i>Enterobacter species</i>	1	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	
<i>Serratia marcescens</i>	1	

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

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	4
N'est pas envoyé	164
Pas de réponse à la question	2
Total	170

3.2. Culture M/10848 *Enterococcus faecium* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémocultures prélevées chez un homme de 55 ans: 6 flacons positifs. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée.

<i>Enterococcus faecium</i>	158	92.9%
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4	
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2	
<i>Enterococcus gallinarum</i> ou <i>casseliflavus</i>	1	
<i>Enterococcus</i> species	3	
Coques à Gram positif	1	
Ne se pratique pas en ambulatoire; échantillon reçu envoyé en sous-traitance en milieu hospitalier	1	

Dix-neuf des laboratoires qui ont répondu *E. faecium*, ont mentionné explicitement qu'il s'agit d'un VRE; 13 de ces 19 ont mentionné la présence du gène Van B.

Un laboratoire qui a répondu *Enterococcus* species, a également mentionné explicitement qu'il s'agit d'un VRE.

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	31
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	50
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	35
Le laboratoire ayant répondu « Coques à Gram positif »	1
La raison de l'envoi n'est pas mentionnée	1
N'est pas envoyé	49
Pas de réponse à la question	3
Total	170

¹ Onze laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme (5 laboratoires ont mentionné explicitement la vancomycine (gène Van B, CMI), un labo la vancomycine et la teicoplanine, un labo l'ampicilline et un labo la gentamicine à haute niveau).

² Huit laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme (4 ont mentionné explicitement qu'il s'agit de la confirmation du gène Van B; un laboratoire mentionne: « typage de la résistance aux antibiotiques »).

3.3. Culture M/11025 *Escherichia coli* (urine)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Dame de 40 ans avec des plaintes récidivantes d'infections urinaires. Habituellement elle les traite elle-même ou elle est soignée par son généraliste. Elle se présente maintenant à l'hôpital avec une infection urinaire sévère. Examen urinaire direct: pyurie +++, bactéries +++. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

Escherichia coli

170 100%

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

Réponse	N labos
N'est pas envoyé	165
Pas de réponse à la question	5
Total	170

3.4. Culture M/11028 *Listeria monocytogenes* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémocultures prélevées chez un homme de 75 ans avec une histoire d'éthylisme et de cirrhose hépatique. Admis à l'hôpital pour plaintes cardiaques; pendant la nuit il fait 38.5°C de fièvre et il est confus ; des hémocultures (3 flacons) sont prélevées. Après 20h un flacon aérobie est positif. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

Cet échantillon contenait également un Staphylocoque à coagulase négatif (CNS) comme « contaminant ».

<u><i>Listeria monocytogenes</i></u> ¹	112	65.9%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> type 4</u>	2	1.2%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> (+ <i>Staphylococcus epidermidis</i>)</u> ²	5	2.9%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i></u> ³	26	15.3%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> (+ staphylocoque à coagulase négative)</u> ⁴	7	4.1%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + staphylocoque à coagulase négative</u> ⁵	6	3.5%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + <i>Staphylococcus hominis</i></u> ⁶	1	0.6%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + staphylocoque commensale</u>	1	0.6%
<u><i>Listeria monocytogenes</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Escherichia coli</i></u> ⁷	1	0.6%
<i>Listeria</i> species	3	
<i>Listeria</i> species (+staphylocoque à coagulase négative) ⁸	1	
<i>Corynebacterium</i> species + <i>Staphylococcus epidermidis</i> ⁹	2	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	
Coques à Gram positif	1	
Ne se pratique pas en ambulatoire; échantillon reçu envoyé en sous-traitance en milieu hospitalier	1	

¹ Quatorze de ces labos fournissent une remarque qu'un contaminant est présent (10 *S. epidermidis*, 3 CNS et 1 *S. xylosum*).

² Ces laboratoires ont mis la réponse *S. epidermidis* entre parenthèses pour indiquer qu'il s'agit d'un contaminant.

³ Douze de ces labos fournissent une remarque que le *S. epidermidis* est un contaminant.

⁴ Ces laboratoires ont mis la réponse CNS entre parenthèses pour indiquer qu'il s'agit d'un contaminant.

⁵ Quatre de ces labos fournissent une remarque que le CNS est un contaminant.

⁶ Ce laboratoire fournit une remarque que le *S. hominis* est un contaminant.

⁷ Ce laboratoire fournit une remarque que 2 pathogènes (*L. monocytogenes* et *E. coli*) et un contaminant (*S. epidermidis*) sont présents.

⁸ Ce laboratoire a mis la réponse CNS entre parenthèses pour indiquer qu'il s'agit d'un contaminant.

⁹ Un de ces 2 labos fournit une remarque qu'il s'agit de 2 contaminants.

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique ¹	72
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	12
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ³	17
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autres raisons (non précisées)	1
Le laboratoire ayant répondu « Coques à Gram positif »	1
La raison de l'envoi n'est pas mentionnée	3
N'est pas envoyé	53
Pas de réponse à la question	11
Total	170

¹ Un laboratoire a mentionné qu'il s'agit du serotypage et du biotypage.

² Un laboratoire a mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme.

³ Trois laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification et un laboratoire qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme.

IV. Antibiogramme

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

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

Nombre de participants = 168 pour l'échantillon M/10848 et 169 pour l'échantillon M/11025. Pour le M/10848 le labo qui envoie ce type d'échantillons et le labo ayant répondu « coques à Gram positifs », n'ont pas effectué d'antibiogramme. Pour le M/11025 un labo n'a pas effectué d'antibiogramme.

4.1. M/10848 *Enterococcus faecium*

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

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

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

- Van B: 14 labos (deux labos ont mentionné explicitement la confirmation par PCR)
- Van B-like: 2 labos
- Van B ou Van B-like, un traitement avec la teicoplanine n'est pas conseillé: 2 labos
- Van B probable, à confirmer: 3 labos
- VRE: 9 labos (un de ces labos a répondu la teicoplanine comme résistant en attente d'une confirmation du gène Van A ou Van B)
- Van C: 1 labo
- β -lactamase négatif: 1 labo

NB : dans les tableaux suivants, la mention « sensible (« S ») » doit être interprétée comme présence de synergie de la gentamicine à haut niveau avec les β -lactamines et/ou les glycopeptides (beaucoup de labos ont cependant mentionné que la synergie avec la vancomycine est impossible, vu la résistance du germe à cet antibiotique). Pour des raisons de lisibilité nous l'avons repris dans les tableaux comme « S ».

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	165	162	-	2	1 ¹
Gentamicine	S	158	142	6 ²	5 ³	5 ⁴
Vancomycine	R	165	1	6	154	4 ⁵
Teicoplanine	S	133	129	-	2 ⁶	2 ⁷

¹ Un labo a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

² Deux de ces laboratoires ont utilisé les disques à bas niveau; 2 utilisateurs du Vitek 2 ont changé un résultat brut « S » dans un résultat final « I ».

³ Quatre de ces laboratoires ont utilisé les disques à bas niveau.

⁴ Un labo a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire. Un labo a mentionné que la sensibilité à haute niveau pour les aminoglycosides doit être testée (qu'ils envoient). Un labo a mentionné « R bas niveau: Van B; synergie possible avec β -lactamines et teicoplanine (pas avec la vancomycine) ». Deux laboratoires ont laissé ouvert la réponse finale (un a mentionné un diamètre de 25 mm. pour les disques Neosensitabs classiques, lus avec le Sirscan; le deuxième a répondu pour le Vitek 2 compact: haut niveau et « S » pour l'antibiogramme brut et expert).

⁵ Trois laboratoires ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire. Un labo a laissé ouvert la réponse finale (diamètre avec les disques en papier = 12 mm. et le résultat brut = « R »).

⁶ Un de ces labos a répondu la teicoplanine comme résistant en attente d'une confirmation du gène Van A ou Van B. L'autre a mentionné « Van B like, le traitement clinique avec la teicoplanine ne donne pas de bons résultats ».

⁷ Deux laboratoires ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.11. 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 4.1.10.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	21 (22)	10	26	14 – 33	21	-	1	-
Gentamicine	12 (18)	120	23	10 – 27	16	-	2 ¹	-
Vancomycine	16 (17)	30	12	6 – 18	1	2	10	4 ²
Teicoplanine	4 (4)	30	18	15 – 21	4	-	-	-

¹ Les 2 résultats « R » ont été fournis par des laboratoires ayant utilisé des disques à bas niveau.

² Deux laboratoires ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire. Un laboratoire a référé à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat: I). Un labo a laissé ouvert la réponse finale (diamètre = 12 mm. et le résultat brut = « R »).

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs ("old") et avec les nouvelles charges CLSI ("new ") séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.1.3. a en b. Pour les nouvelles charges, les calculs de la médiane, le minimum et le maximum n'ont cependant pas été effectués étant donné le nombre limité de participants pour ce germe. Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres de ces disques sont repris dans les tableaux 4.1.11 a et b.

Tableau 4.1.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline ¹	20 (24)	33	30	21 – 38	24	-	-	-
Gentamicine	20 (27)	250	28	18 – 31	23	2 ²	1 ³	1 ⁴
Vancomycine ⁵	21 (25)	5	10	9 – 15	-	2	23	-
Teicoplanine	5 (10)	30	17	16 – 20	9	-	-	1 ⁶

¹ En plus un laboratoire a mentionné un diamètre >32 mm.

² Les 2 résultats « I » ont été fournis par des laboratoires ayant utilisé des disques à bas niveau.

³ Le résultat « R » a été fourni par un laboratoire ayant utilisé des disques à bas niveau.

⁴ Un laboratoire réfère à la détermination de la CMI qu'il a effectué (résultat: S).

⁵ En plus un laboratoire a mentionné un diamètre de 1 mm.

⁶ Un labo a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

Tableau 4.1.3.b. Résultats obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat			
		S	I	R	*
Ampicilline	4	3	-	-	1 ¹
Gentamicine	3	2	-	-	1 ²
Vancomycine	3	-	-	3	-
Teicoplanine	4	4	-	-	-

¹ Un labo a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

² Un labo a mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire.

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/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	12	12 x S	2 x 0.12 mg/L; 7 x 0.125 mg/L; 2 x 0.19 mg/L; 1 x 0.5 mg/L
Gentamicine	8	6 x S	2 x 4 mg/L; 2 x 6 mg/L; 1 x 8 mg/L; 1 x 12 mg/L
		1 x R	1 x 16 mg/L
		1 x * ¹	1 x 12 mg/L
Vancomycine	31	4 x I	2 x 8 mg/L; 1 x 12 mg/L; 1 x 16 mg/L
		27 x R ²	1 x 4 mg/L; 2 x 12 mg/L; 3 x 16 mg/L; 4 x 24 mg/L; 4 x 32 mg/L; 3 x 48 mg/L; 3 x 64 mg/L; 1 x 96 mg/L; 1 x > 4 mg/L; 2 x > 32 mg/L; 3 x ≥256 mg/L
Teicoplanine	21	20 x S	1 x 0.5 mg/L; 3 x 0.75 mg/L; 8 x 1 mg/L; 2 x 1.5 mg/L; 1 x 2 mg/L; 2 x 3mg/L; 1 x 4 mg/L; 1 x 8 mg/L; 1 x ≤1 mg/L
		1 x R ³	1 x 1 mg/L

¹ Un labo a mentionné « R bas niveau: Van B; synergie possible avec β-lactamines et teicoplanine (pas avec la vancomycine) ».

² Un labo (qui a obtenu une CMI de 12 mg/L) a mentionné: « Suspicion de Van B: extrapolation I→R de la vancomycine, par prudence »

³ Un labo a répondu la teicoplanine comme résistant en attente d'une confirmation du gène Van A ou Van B.

Les résultats obtenus avec le MICE test sont repris dans le tableau 4.1.5.

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec le MICE test pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	1	1 x S	0.25 mg/L
Gentamicine	1	1 x I	8 mg/L
Vancomycine	9	1 x I	8 mg/L
		8 x R	2 x 8 mg/L; 1 x 16 mg/L; 4 x 32 mg/L; 1 x CMI non mentionnée
Teicoplanine	2	2 x S	1 x 0.5 mg/L; 1 x CMI non mentionnée

Les résultats obtenus avec le MIC test Strip sont repris dans le tableau 4.1.6.

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec le MIC test Strip pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	2 x S	0.125 mg/L; 0.5 mg/L
Vancomycine	3	3 x R	8 mg/L; 16 mg/L; 48 mg/L
Teicoplanine	1	1 x S	0.25 mg/L

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.1.7.

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Vitek 2				Vitek 2 compact							
	Résultat final				Résultat final							
	S	I	R	*	Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	S	I	R	*	Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
Ampicilline	57	-	1	-	≤2	55 (58)	30	-	-	-	≤2	28 (30)
Gentamicine	55	1	-	1 ¹	‡	(57)	28	1	-	1 ²	‡	(30)
Vancomycine	-	-	54	-	≥32	50 (54)	-	-	29	-	≥32	29 (32)
Teicoplanine	54	-	-	-	≤0.5	51 (54)	31	-	1³	-	≤0.5	28 (32)

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

¹ Un labo a mentionné « R bas niveau: Van B; synergie possible avec β-lactamines et teicoplanine (pas avec la vancomycine) ».

² Un a laissé ouvert la réponse finale et a répondu: haut niveau et « S » pour l'antibiogramme brut et expert.

³ Un labo a mentionné « Van B like, le traitement clinique avec la teicoplanine ne donne pas de bons résultats ».

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 vancomycine un laboratoire a mentionné une CMI >256 mg/L pour le Vitek 2
- pour la teicoplanine un laboratoire a mentionné une CMI ≤5 mg/L pour le Vitek 2 compact

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.1.8.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	5	-	-
Gentamicine	4	1	-
Vancomycine	-	-	5
Teicoplanine	5	-	-

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.1.9.

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	10	-	-	≤2	10 (10)
Gentamicine	8	-	-	≤500	7 (8)
Vancomycine	-	-	11	>4	11 (11)
Teicoplanine	11	-	-	≤1	11 (11)

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.10. et 4.1.11 a et b.

Etant donné le nombre limité de participants pour ces méthodes pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

Tableau 4.1.10. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	5	5	-	-
Gentamicine	3	2	-	1 ¹
Vancomycine	4	1	-	3
Teicoplanine	1	1	-	-

¹ Le résultat « R » a été fourni par un laboratoire ayant utilisé des disques à bas niveau.

Tableau 4.1.11.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat			
		S	I	R	*
Ampicilline	4	4	-	-	-
Gentamicine	5	4	-	-	1 ¹
Vancomycine	3	-	-	3	-
Teicoplanine	1	1	-	-	-

¹ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre mais pas l'interprétation.

Tableau 4.1.11.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10848 (*Enterococcus faecium*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	5	5	-	-
Gentamicine	3	3	-	-
Vancomycine	4	1	-	3
Teicoplanine	1	1	-	-

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a utilisé le Microscan pour tester la sensibilité aux 4 antibiotiques (avec les résultats attendus pour tous ces antibiotiques)
- un laboratoire a utilisé le Sirscan pour lire le diamètre des disques en papier pour l'ampicilline, la gentamicine (toutes les 2 « S ») et la vancomycine (où il a référé à la CMI pour l'interprétation finale (« R »))
- cinq laboratoires ont utilisé le milieu vancoscreen pour tester la sensibilité à la vancomycine (tous avec le résultat « R ») ; pour un de ces laboratoires, il s'agit de la seule technique utilisée pour la détermination de la sensibilité à la vancomycine

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 (voir également les descriptions sous les différentes techniques pour l'explication de certaines de ces modifications):

- L'ampicilline:
 - o S→R
 - Vitek 2 compact: 1 labo
- La gentamicine:
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo
 - o I→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Osiris: 1 labo
- La vancomycine
 - o S→I
 - Disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - o I→R
 - Neosensitabs classiques: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
 - E-test: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
 - MICE: 3 labos (dont 2 également sur base d'autres techniques)
- La teicoplanine
 - o S→R
 - E-test: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo

4.2. M/11025 *Escherichia coli*

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

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

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	164	157	4	3	-
Amoxicilline-acide clavulanique	S	169	167	1	1	-
Co-trimoxazole	S	168	168	-	-	-
Céfuroxime	S	165	157	5	2 ¹	1 ²
Nitrofurantoïne	R	167	10	17	140	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	124	1	-	123	-
Lévofloxacine	R	14	-	-	14	-
Norfloxacine	R	40	-	-	40	-
Ofloxacine	R	9	-	-	9	-
Acide nalidixique	R	3	-	-	3	-
Quinolone ³	R	9	1	-	8	-

¹ Ces 2 laboratoires ont mentionné avoir testé la céfuroxime axetil.

² Un laboratoire répond: « S pour la céfuroxime parentérale et I pour la céfuroxime orale ».

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

Nous voulons insister pour que vous mentionniez le nom de la quinolone utilisée: ceci sera favorable pour l'évaluation des résultats.

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/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	14 (15)	10	18	15 – 23	13	1	1
Amoxicilline-acide clavulanique	15 (16)	20 + 10	21	18 – 28	16	-	-
Co-trimoxazole	17 (18)	1.25 + 23.75	27	25 – 30	18	-	-
Céfuroxime	13 (15)	30	22	18 – 25	13	2	-
Nitrofurantoïne	15 (19)	300	12	8 – 23	1	2	16
Quinolone							
Ciprofloxacine	10 (10)	5	6	6 – 10	-	-	10
Lévofloxacine	3 (3)	5	6	6 – 13	-	-	3
Norfloxacine	4 (6)	10	7	6 – 7	-	-	6

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs (“old”) et avec les nouvelles charges CLSI (“new”) 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 (charge classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	16 (19)	33	24	21 – 28	17	1	1
Amoxicilline-acide clavulanique	21 (22)	30 + 15	24	22 – 28	22	-	1
Co-trimoxazole ¹	20 (22)	5.2 + 240	37	30 – 40	22	-	-
Céfuroxime	20 (21)	60	26	22 – 30	20	1	-
Nitrofurantoïne	21 (22)	260	18	15 – 21	-	5	17
Quinolone							
Ciprofloxacine	13 (15)	10	10	9 – 10	-	-	15
Lévofloxacine	2 (2)	5	10	9 – 10	-	-	2
Norfloxacine	4 (4)	10	10	9 – 10	-	-	4
Ofloxacine	1 (1)	10	10	10 – 10	-	-	1

¹ En plus un laboratoire a mentionné un diamètre >32 mm.

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat			
					S	I	R	*
Ampicilline	5 (6)	10	18	17 – 19	6	-	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	7 (7)	20 + 10	21	20 – 24	7	-	-	-
Co-trimoxazole	6 (6)	1.25 + 23.75	30	25 – 33	6	-	-	-
Céfuroxime	6 (6)	30	23	20 – 24	5	-	-	1 [†]
Nitrofurantoïne	4 (6)	300	12	11 – 14	-	-	6	-
Quinolone								
Ciprofloxacine	5 (5)	5	9	9 – 10	-	-	5	-
Norfloxacine	2 (2)	10	10	9 – 10	-	-	2	-
Ofloxacine	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1	-

[†] Un laboratoire répond: «S pour la céfuroxime parentérale et I pour la céfuroxime orale ».

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/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	2 x S	4 mg/L; 8 mg/L
Amoxicilline-acide clavulanique	1	1 x S	6 mg/L
Co-trimoxazole	1	1 x S	0.047 mg/L
Céfuroxime	1	1 x S	4 mg/L
Quinolone			
Ciprofloxacine	1	1 x R	>32 mg/L

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/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Vitek 2			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Vitek 2 compact			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	Résultat final					Résultat final				
	S	I	R			S	I	R		
Ampicilline	61	1	1	8	53 (63)	35	-	-	8	24 (35)
Amoxicilline-acide clavulanique	61	1	1	8	36 (63)	35	-	-	8	17 (35)
Co-trimoxazole	63	-	-	≤20	61 (63)	34	-	-	≤20	30 (34)
Céfuroxime	62	1	-	4	59 (63)	35	-	-	4	29 (35)
Nitrofurantoïne	-	7	54	128	50 (61)	-	3	32	128	27 (35)
Quinolone										
Ciprofloxacine	-	-	50	≥4	49 (50)	-	-	27	≥4	24 (27)
Lévofloxacine	-	-	3	≥8	2 (3)	-	-	1	≥8	1 (1)
Norfloxacine	-	-	16	≥16	15 (16)	-	-	5	≥16	5 (5)
Acide nalidixique	-	-	2	≥32	2 (2)	-	-	-	-	-
Quinolone	1	-	2	≥4	3 (3)	-	-	4	≥4	3 (4)

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

- pour l'ampicilline 7 laboratoires ont retrouvé une CMI de 4 mg/L et un laboratoire une CMI de 16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 7 laboratoires ont trouvé une CMI de 4 mg/L
- pour l'amoxicilline-acide clavulanique 24 laboratoires ont retrouvé une CMI de 4 mg/L et un laboratoire une CMI ≤ 2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 13 laboratoires ont retrouvé une CMI de 4 mg/L et un laboratoire une CMI ≤ 2 mg/L
- pour la co-trimoxazole un laboratoire a trouvé une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2
- pour la céfuroxime un laboratoire a trouvé une CMI de 16 mg/L et un laboratoire une CMI ≤ 1 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact un laboratoire a trouvé une CMI de 8 mg/L et un laboratoire une CMI ≤ 1 mg/L
- pour la nitrofurantoïne 7 laboratoires ont retrouvé une CMI de 64 mg/L et un laboratoire une CMI de 256 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 3 laboratoires ont retrouvé une CMI de 64 mg/L et un laboratoire une CMI ≥ 16 mg/L
- pour la lévofloxacine un laboratoire a trouvé une CMI ≥ 4 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/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	5	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	5	-	-
Co-trimoxazole	5	-	-
Céfuroxime	3	-	2
Nitrofurantoïne	5	-	-
Quinolone			
Ciprofloxacine	-	-	4
Lévofloxacine	-	-	2
Norfloxacine	-	-	3
Ofloxacine	-	-	4

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/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	11	-	-	≤2	9 (11)
Amoxicilline-acide clavulanique	11	-	-	4/2	8 (11)
Co-trimoxazole	11	-	-	≤1/19	11 (11)
Céfuroxime	11	-	-	4	11 (11)
Nitrofurantoïne	4	-	6	*	(11)
Quinolone					
Ciprofloxacine	-	-	8	>1	8 (8)
Lévofloxacine	-	-	1	>2	1 (1)
Norfloxacine	-	-	1	>2	1 (1)
Quinolone	-	-	2	>1	2 (2)

* Les quatre laboratoires ayant mentionné 64 mg/L ont fourni l'interprétation « S »; les 5 ayant mentionné > 64 mg/L et le labo ayant mentionné ≥ 64 mg/L ont fourni l'interprétation « R »

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

- pour l'ampicilline 2 laboratoires ont retrouvé une CMI de 4 mg/L
- pour l'amoxicilline-acide clavulanique 2 laboratoires ont retrouvé une CMI de 8/2 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/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat		
					S	I	R
Ampicilline	7 (7)	10	20	16 – 24	6	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	8 (8)	20 + 10	23	20 – 33	8	-	-
Co-trimoxazole	8 (8)	1.25 + 23.75	30	26 – 31	8	-	-
Céfuroxime	7 (7)	30	21	19 – 23	6	1	-
Nitrofurantoïne	7 (8)	300	12	10 – 14	-	-	8
Quinolone							
Ciprofloxacine	6 (6)	5	6	6 – 6	-	-	6
Norfloxacine	4 (4)	10	6	6 – 6	-	-	4
Ofloxacine	2 (2)	5	8	6 – 9	-	-	2

Tableau 4.2.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (6)	33	24	23 – 26	6	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	5 (6)	30 + 15	26	24 – 28	6	-	-
Co-trimoxazole	5 (6)	5.2 + 240	37	36 – 43	6	-	-
Céfuroxime	4 (5)	60	26	25 – 29	5	-	-
Nitrofurantoïne	5 (6)	260	19	13 – 19	-	-	6
Quinolone							
Ciprofloxacine	2 (3)	10	9	9 – 9	-	-	3
Lévofloxacine	2 (2)	5	11	9 – 12	-	-	2
Acide nalidixique	1 (1)	130	9	9 – 9	-	-	1

Tableau 4.2.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/11025 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (5)	10	19	17 – 22	5	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	5 (5)	20 + 10	21	20 – 25	5	-	-
Co-trimoxazole	5 (5)	1.25 + 23.75	29	28 – 33	5	-	-
Céfuroxime	4 (4)	30	23	23 – 23	4	-	-
Nitrofurantoïne	4 (4)	300	13	11 – 14	-	-	4
Quinolone							
Ciprofloxacine ¹	3 (4)	5	9	6 – 16	1	-	3
Ofloxacine	1 (1)	5	9	9 – 9	-	-	1

¹ En plus un laboratoire a mentionné un diamètre de 34 mm.

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a utilisé le Microscan pour tester la sensibilité à l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la co-trimoxazole, la céfuroxime (tous « S »), la nitrofurantoïne (« I ») et la lévofloxacine (« R »)
- un laboratoire a utilisé le Sirscan pour lire le diamètre des disques en papier pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la co-trimoxazole, la céfuroxime (tous « S »), la nitrofurantoïne et la ciprofloxacine (les 2 derniers « R »)

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'ampicilline:
 - o I→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo
- L'amoxicilline- acide clavulanique:
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo

V. Parasitologie

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles formolées ont été envoyés.

163 laboratoires ont participé à l'enquête.

Nous voulons souligner qu'il vous est toujours possible de demander un nouvel échantillon au cours de l'enquête.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 51.5%. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter certaines erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/10973

Un homme de 21 ans, ayant voyagé en Tanzanie a souffert sur place d'une diarrhée aqueuse abondante avec de la fièvre. Depuis son retour il est fatigué, il a de temps en temps des crampes et parfois il y a du sang dans les selles.

P/10974

Une fille de 14 ans a fait un voyage de 14 jours en Indonésie (Bali et Jakarta). A la fin de la 2^e semaine, elle a développé une diarrhée. Après son retour elle se présente à l'hôpital avec une diarrhée aqueuse (5-6/jours) et des nausées.

L'échantillon P/10973 contenait des oocystes de *Cryptosporidium parvum*.

L'échantillon P/10974 contenait des oocystes de *Cyclospora cayetanensis*.

5.2. Les résultats pour l'échantillon P/10973

Les 163 laboratoires ont fourni 165 réponses. Quinze laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 146 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et deux laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/10973

Résultat	Nombre de laboratoires
<i>Cryptosporidium parvum</i>	145
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1
Absence de parasites*	15
Total	165

* Un de ces laboratoires a mentionné que la recherche de *Cryptosporidium* est sous-traitée. Un deuxième a indiqué que si les plaintes persisteraient et si aucune autre cause ne pourrait être mise en évidence, l'échantillon serait envoyé à un centre de référence. Un troisième mentionne: « A contrôler sur un nouveau prélèvement en cas de persistance des signes cliniques et y associer une coproculture ».

Un des laboratoires ayant répondu « *Cyclospora cayetanensis* », a probablement interverti les 2 échantillons : en effet, il a répondu « *Cryptosporidium parvum* » pour l'échantillon P/10974; l'autre laboratoire ayant répondu « *Cyclospora cayetanensis* » a donné la réponse « Absence de parasites » pour l'échantillon P/10974.

Les laboratoires ayant répondu la combinaison de 2 parasites, ont respectivement mentionné les combinaisons suivantes : « *Cryptosporidium parvum* + *Ascaris lumbricoides* » et « *Endolimax nana* + *Strongyloides stercoralis* ».

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Cryptosporidium parvum* sont repris dans le tableau 5.2.2.

Tableau 5.2.2. Stades d'évolution de *Cryptosporidium parvum* pour l'échantillon P/10973

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Oocyste	126
Kyste	13
Œuf	2
Non précisé	2
Forme végétative hématophage	1
Trophozoïte	1
Total	145

Un certain nombre des résultats aberrants sont probablement dus à l'utilisation d'anciens codes. Nous voulons insister pour que vous utilisiez toujours les codes les plus récentes. Si vous n'en disposez plus, vous pouvez demander un nouvel exemplaire ou consulter les codes sur notre site web:

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

Si vous utilisez le Toolkit, vous pouvez répondre par liste déroulante.

Six laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence. Il s'agit de 4 laboratoires ayant répondu « *C. parvum* », un laboratoire ayant répondu « *Endolimax nana* + *Strongyloides stercoralis* », et un laboratoire ayant répondu « Absence de parasites » (cfr. ci-dessus).

Commentaire concernant *Cryptosporidium parvum*

145 (89%) des 163 laboratoires ont fourni une réponse correcte. Il est possible que certains laboratoires n'ayant pas retrouvé les parasites, aient recherché le *Cryptosporidium* à l'aide d'immuno-essais. Il est important de consulter la notice afin de s'assurer que l'examen d'échantillons fixés donne des résultats fiables.

Cryptosporidium est une cause ubiquitaire fréquente de diarrhée, surtout chez les jeunes enfants (< 5 ans) et les personnes souffrant de déficiences immunitaires.

Cryptosporidium appartient au sousphylum des Apicomplexa et à la famille des Cryptosporidiidae. C'est un parasite intracellulaire, extracytoplasmatique. Deux espèces, *C. hominis* et *C. parvum*, sont responsables de la plupart des cas confirmés. *C. hominis* cause surtout des infections chez l'homme et est plutôt associé aux voyages tandis que *C. parvum* peut infecter aussi bien les hommes que les animaux et est retrouvé donc plus souvent dans les infections où il y a eu une exposition par contact avec des animaux. Il peut donc être intéressant d'effectuer une identification jusqu'au niveau de l'espèce afin de fournir une information épidémiologique qui peut mener jusqu'à la source de l'infection.

On peut également retrouver d'autres espèces de *Cryptosporidium* telle que *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. ubiquitum* et *C. canis* (1), essentiellement chez les patients immunodéprimés.

La transmission de *Cryptosporidium* est oro-fécale. Aussi bien des transmissions d'homme à homme (au sein d'une famille ou dans une crèche) que par l'intermédiaire d'animaux (visite dans une ferme pour enfants) sont possibles. Les oocystes, qui contiennent les sporozoïtes infectieux, peuvent survivre longtemps dans le sol humide et l'ingestion d'un faible nombre d'oocystes suffit pour causer la maladie. Des épidémies à grande échelle sont généralement associées à l'eau potable contaminée. La désinfection normale de l'eau ne tue pas les *Cryptosporidium*. La transmission par la nourriture est beaucoup moins fréquente.

Dans une infection par *Cryptosporidium* c'est surtout l'intestin grêle qui est atteint avec une malabsorption et une inflammation limitée qui provoque une diarrhée aqueuse, des crampes intestinales, des vomissements, une légère fièvre et une perte d'appétit. Le temps d'incubation est de 3-12 jours et dose-dépendant. En moyenne les symptômes durent 12 jours mais ils peuvent persister jusqu'à un mois. Le portage asymptomatique est possible.

Les patients souffrant de déficiences immunitaires (de cellules T) ont souvent des infections chroniques et tenaces dans lesquelles tout le tractus gastro-intestinal est atteint (y inclut la vésicule biliaire et le canal pancréatique).

L'infection se résout spontanément ; cependant la réhydratation peut s'avérer nécessaire. Étant donné que les oocystes sont sécrétés en grand nombre et qu'un faible nombre d'oocystes est suffisant pour causer la maladie, il faut recommander aux patients de respecter une bonne hygiène personnelle. Il faut de plus déconseiller aux patients de nager (parce que les oocystes ne sont pas tués par le chlore de l'eau de piscine et que la filtration est souvent insuffisante) et ceci jusque 2 semaines après l'arrêt de la diarrhée étant donné qu'il a été démontré que la sécrétion des oocystes dure aussi longtemps. Les moyens pour traiter l'infection sont limités et

le traitement d'un patient souffrant de déficience immunitaire aura donc pour but de rétablir l'immunité (2-3).

Le diagnostic peut se faire par microscopie et détection de l'antigène. La PCR est plus sensible et permet l'identification jusqu'au niveau de l'espèce mais est moins utilisée dans le diagnostic de routine.

Les oocystes ont un diamètre de 4-6 µm. A cause de leur faible taille, ils peuvent être difficiles à voir ou confondus avec des cellules de levures. Ils ne se colorent cependant pas à l'iode. Les colorations permanentes (trichrome, Fe-hematoxyline) ne colorent pas bien les oocystes mais en grande concentration ils peuvent être détectés. Les oocystes se colorent à l'auramine mais la confirmation par une coloration acido-résistante ou par un test immunologique est nécessaire. Une alternative simple pour le dépistage est la coloration négative selon Heine (4). Les échantillons fixés peuvent être colorés par les colorations acido-résistantes modifiées pour lesquelles une bonne décoloration est surtout nécessaire (3). La spécificité des méthodes microscopiques est bonne si elles sont effectuées par un personnel expérimenté et dépend de la qualité de l'échantillon, de la densité du parasite, du degré de coloration des oocystes et du temps passé à l'examen de l'échantillon. Les artéfacts peuvent poser un problème. Il est utile que les laboratoires qui manquent d'expérience avec la méthode comparent les résultats des patients avec un contrôle positif.

La détection de l'antigène s'effectue par EIA ou par des tests immunochromatographiques (rapides) individuels. Ces derniers existent pour la détection de *Cryptosporidium* seul ou en combinaison avec *Giardia* et éventuellement *E. histolytica*. La spécificité de tous ces tests est raisonnable. La sensibilité varie suivant les études et est meilleure pour les EIA que pour les tests rapides (5-8). Les laboratoires avec un nombre de demandes suffisant font donc mieux de les tester en batch par EIA. La qualité de la détection de l'antigène de *C. hominis* est égale à celle de *C. parvum*. Il semble que la détection des *Cryptosporidium* spp. moins fréquentes est moins bonne (5,8).

Pour la moitié des patients dont les échantillons sont examinés à l'IMT, le clinicien demande la recherche de *Cryptosporidium*. *Cryptosporidium* est retrouvé chez 0.41-0.68% des patients. *Cryptosporidium* est sporadiquement démontré dans l'échantillon coloré au Fe-hematoxyline.

Une étude sur 2591 voyageurs qui ont consulté à l'IMT entre avril 2005 et mai 2006 a prouvé que respectivement 12, 14 et 31 des infections par *Cryptosporidium* ont été diagnostiquées par la coloration selon Heine, par ELISA ou par PCR. La PCR était nettement plus positive si le parasite avait également été détecté microscopiquement et/ou par ELISA (9).

Étant donné que les oocystes de *Cryptosporidium* sont directement infectieux, il est préférable de fixer les selles avec la formaline ou le SAF sauf si des mesures appropriées concernant la biosécurité ont été prises.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

Références

1. The ANOFEL *Cryptosporidium* National Network. 2010. Laboratory-based surveillance for *Cryptosporidium* in France, 2006–2009. *Eurosurveillance*, Volume 15, Issue 33
2. Davies AP and Chalmers RM. 2009. Cryptosporidiosis. *BMJ*. 339: 963-967.
3. Manual of Clinical Microbiology. P. Murray. 8ste editie. Hfst.134. *Cryptosporidium*, *Cyclospora* and *Isospora*. Y. Ortega et al. Blz. 2008.
4. Potters I, Van Esbroeck M. 2010. Negative Staining Technique of Heine for the Detection of *Cryptosporidium* spp.: A Fast and Simple Screening Technique. *The Open Parasitology Journal*. 4: 1-4.
5. Agnamey P, Sarfati C, Pinel C, Rabodoniriina M, Kapel N, Dutoit E, Garnaud C, Diouf M, Garin JF, Totet A, Derouin F. ANOFEL *Cryptosporidium* National Network. 2011. Evaluation of four commercial rapid immunochromatographic assays for detection of *Cryptosporidium* antigens in stool samples: a blind multicenter trial. *J Clin Microbiol*. 49 (4):1605-7.
6. El-Moamly AA, El-Sweify MA. ImmunoCard STAT! cartridge antigen detection assay compared to microplate enzyme immunoassay and modified Kinyoun's acid-fast staining technique for detection of *Cryptosporidium* in fecal specimens. *Parasitol Res*. 2011 Aug 14. [Epub ahead of print]
7. Gaafar MR. Evaluation of enzyme immunoassay techniques for diagnosis of the most common intestinal protozoa in fecal samples. *Int J Infect Dis*. 2011 Aug;15(8):e541-4. Epub 2011 Jun 1.
8. Chalmers RM, Campbell B, Crouch N, Charlett A, Davies A. 2011. Comparison of the diagnostic sensitivity and specificity of seven *Cryptosporidium* assays used in the United Kingdom. *J Med Microbiol*. Published July 14 as doi: 10.1099/jmm.0.034181-0.
9. Ten Hove R. J., M. van Esbroeck, T. Vervoort, J. van den Ende, L. van Lieshout and J. J. Verweij. Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009. 28(9):1045-53.

Figure 5.2.1. *C. parvum*

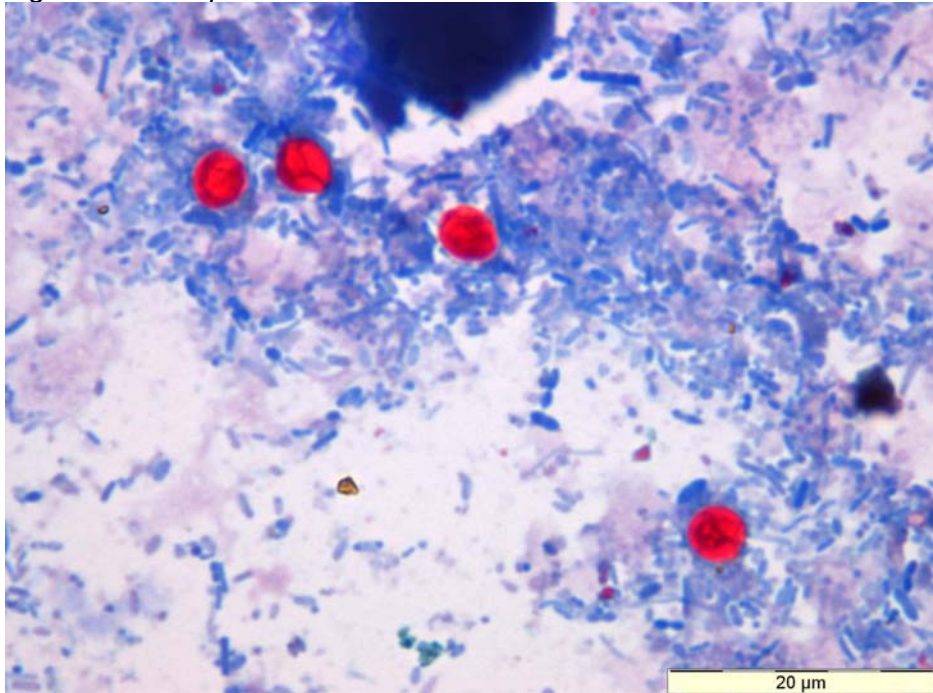


Figure 5.2.2. *C. parvum*

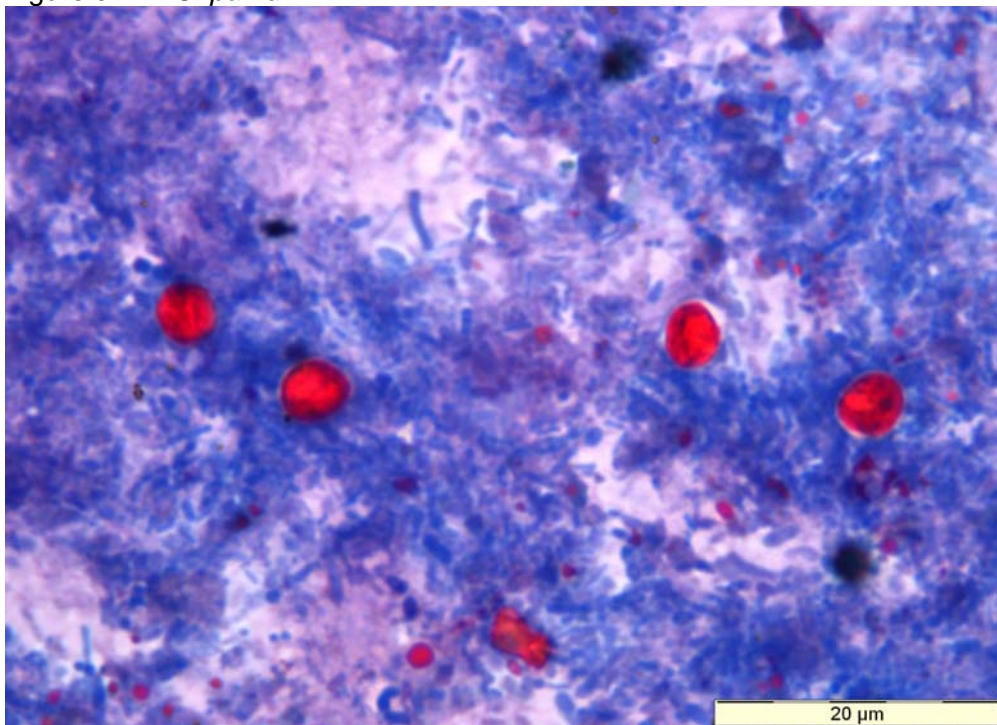


Figure 5.2.3. *C. parvum*

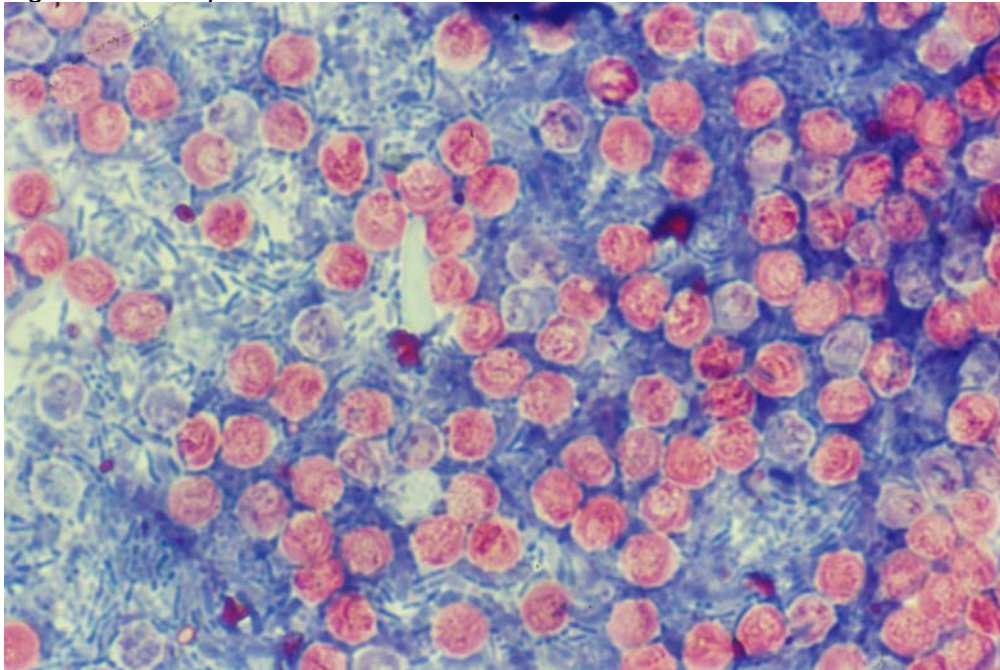


Figure 5.2.4. *C. parvum*

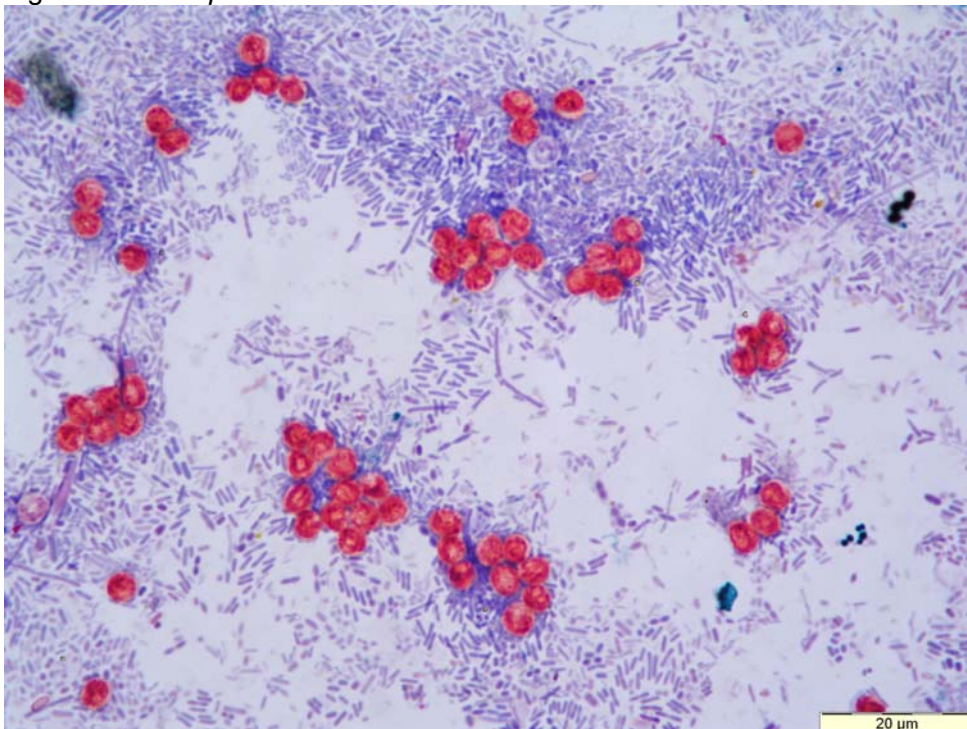


Figure 5.2.5. *C. parvum*

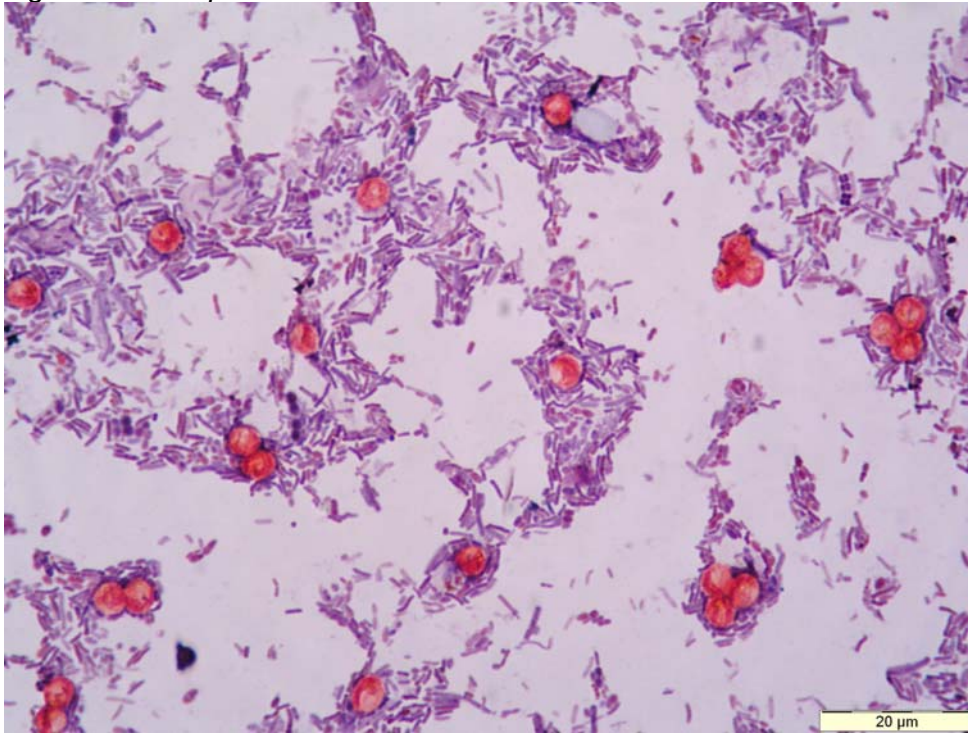
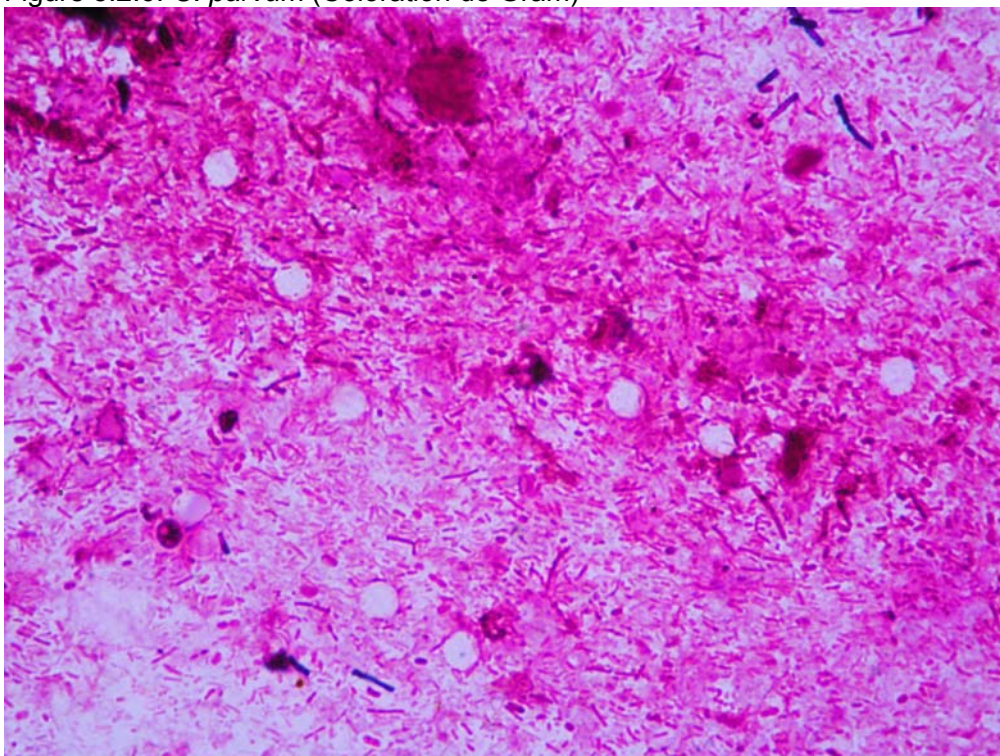


Figure 5.2.6. *C. parvum* (Coloration de Gram)



5.3 Les résultats pour l'échantillon P/10974

Les 163 laboratoires ont fourni 165 réponses. Quatre laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 157 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 2 laboratoires la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/10974

Résultat	Nombre
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	150
<i>Entamoeba coli</i>	4
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	2
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2
<i>Entamoeba histolytica / dispar</i>	1
Absence de parasites	4
Total	165

Un des laboratoires ayant répondu « *Cryptosporidium parvum* », a probablement interverti les 2 échantillons : en effet, il a répondu « *Cyclospora cayetanensis* » pour l'échantillon P/10973; l'autre laboratoire ayant répondu « *Cryptosporidium parvum* », a retrouvé aussi bien le *C. parvum* que le *C. cayetanensis*.

Les laboratoires ayant répondu la combinaison de 2 parasites, ont respectivement mentionné les combinaisons suivantes : « *Cyclospora cayetanensis* + *Cryptosporidium parvum* » et « *Endolimax nana* + *Entamoeba hartmanni* ».

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Cyclospora cayetanensis* sont repris dans le tableau 5.3.2. Un laboratoire a mentionné 2 stades d'évolution (oocyste + kyste).

Tableau 5.3.2. Stades d'évolution de *Cyclospora cayetanensis* pour l'échantillon P/10974

Stade d'évolution	Nombre
Oocyste	140
Kyste	8
Œuf	1
Forme végétative hématophage	1
Non précisé	1
Total	151

Dix-huit laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence. Tous ces laboratoires ont retrouvé le *Cyclospora cayetanensis*.

Commentaire concernant *Cyclospora cayetanensis*

Cyclospora cayetanensis appartient au groupe des coccidies intestinales, plus particulièrement au sous-phylum Apicomplexa et à la famille des Eimeriidae. *Cyclospora* est retrouvée en Amérique du Nord, Centrale et du Sud, dans les Caraïbes, en Afrique, dans le sud-est de l'Asie, en Europe de l'est et en Australie. Dans les pays industrialisés il s'agit surtout d'une pathologie importée. Les épidémies sont causées par de la nourriture ou de l'eau contaminée, par exemple aux États-Unis.

Cyclospora est un parasite obligatoirement intracellulaire. Il n'existe pas de reproduction en dehors de l'hôte. Les oocystes contiennent des sporocystes qui à leur tour contiennent des sporozoïtes. La sporogonie se retrouve en dehors de l'hôte. Il faut 7-15 jours avant que les oocystes qui sont sécrétés dans les selles, deviennent infectieux pour un nouvel hôte.

C. cayetanensis cause une diarrhée prolongée aussi bien chez les hôtes avec une résistance normale que chez les patients atteints du SIDA. Le temps d'incubation varie entre 1 à 7 jours. La diarrhée, qui peut durer jusqu'à 7 semaines, n'est pas sanguinolente et est accompagnée de perte de poids, d'anorexie, de ballonnements, de crampes, d'un sentiment de malaise général et de fatigue. Une légère fièvre peut exister. Chez les patients atteints du SIDA l'infection est plus violente et peut durer encore plus longtemps. Les infections se résolvent spontanément. Les infections sérieuses peuvent être traitées par triméthoprime-sulfaméthoxazole. Le portage asymptomatique est rare.

Les stades de vie intermédiaires se passent dans le cytoplasme des entérocytes du duodénum et du jéjunum. Les oocystes non-sporulés sont sécrétés dans les selles. On présume que la *Cyclospora* est spécifique pour l'hôte. Le réservoir n'est pas connu. Il n'existe pas d'évidence d'une contamination directe de l'animal à l'homme ou d'homme à homme.

Le diagnostic est effectué par la détection dans les selles d'oocystes parfaitement ronds, qui ont un diamètre de 8-10 µm. La paroi claire et lisse des oocystes et la présence d'inclusions qui ressemblent à des morulas et qui sont fortement réfringentes facilitent leur mise en évidence. Les techniques de concentration sont indispensables pour rechercher les infections moins sévères avec une sensibilité suffisante. Dans les préparations fraîches, colorées au lugol, les oocystes ne fixent d'habitude pas le lugol. La coloration acido-résistante des oocystes est variable (certains oocystes n'absorbent pas la coloration acido-résistante), ce qui ne favorise pas la sensibilité de l'examen. Leur caractéristique acido-résistante a son importance quand on utilise ces colorations acido-résistantes pour la recherche des *Cryptosporidium*, avec lesquelles *Cyclospora* peut être confondue quand les quatre sporozoïtes de *Cryptosporidium* ne peuvent pas être bien visualisés dans les oocystes. Il en va de même si on utilise l'immunofluorescence pour la recherche des *Cryptosporidies* et autres parasites. Les oocystes de *Cyclospora* démontrent notamment une autofluorescence à une longueur d'onde de 340-380 nm mais pour observer cela les préparations ne peuvent pas être trop épaisses.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

Références

1. Kansouzidou A, Charitidou C, Varnis T, Vavatsi N, Kamaria F. *Cyclospora cayetanensis* in a patient with travelers' diarrhea: case report and review. J Travel Med. 2004 Jan-Feb;11(1):61-3.
2. Manual of Clinical Microbiology. P. Murray. 8ème édition. Chap.134. *Cryptosporidium*, *Cyclospora* and *Isospora*. Y. Ortega et al.

Figure 5.3.1. Coloration de Ziehl

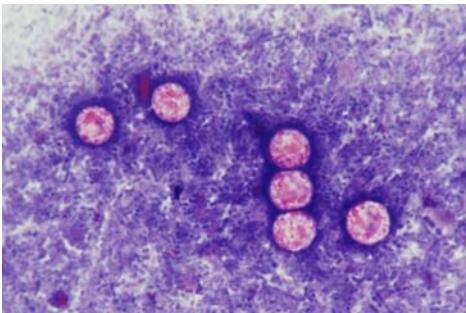


Figure 5.3.2. *C. cayetanensis*

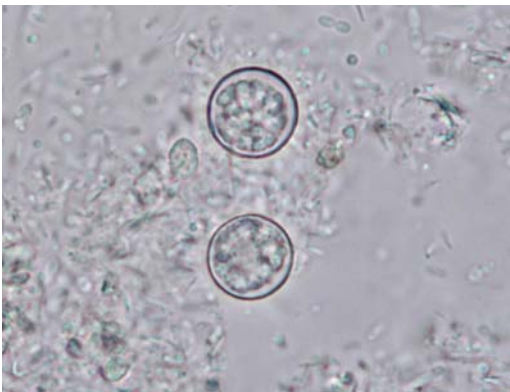


Figure 5.3.3. *C. cayetanensis*



VI. Sérologie

6.1. EBV

6.1.1 Informations concernant les échantillons

Un échantillon (IS/11067) a été envoyé pour effectuer la sérologie d'EBV. Les laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair ont cependant reçu un échantillon différent sous ce même numéro.

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes:

« Un étudiant de 18 ans se plaint de frissons, d'une faible fièvre, de mal de tête, d'un manque d'appétit et d'une forte fatigue. Il se présente chez son généraliste où une prise de sang est effectuée. »

Les résultats attendus étaient :

Laboratoires pairs: Ac. hétérophiles : négatif
 IgG (totaux, VCA, EBNA): négatif
 IgM (totaux, VCA): négatif
 Interprétation : Sérologie négative pour EBV (code 04)

Laboratoires impairs: Ac. hétérophiles : négatif
 IgG (totaux, VCA, EBNA): positif
 IgM (totaux, VCA): négatif
 Interprétation : Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV (code 03)

6.1.2. Les participants

154 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse : 88 labos avec numéro d'agrément pair et 66 avec numéro d'agrément impair.

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

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

Les 88 laboratoires pairs ont effectué 265 tests (47 Ac. hétérophiles, 9 IgG totaux, 10 IgM totaux, 57 VCA IgG, 14 VCA-EA IgG, 76 VCA IgM, 45 EBNA IgG, 6 EA IgG et 1 EA IgM).

Les 66 laboratoires impairs ont effectué 203 tests (48 Ac. hétérophiles, 6 IgG totaux, 6 IgM totaux, 37 VCA IgG, 9 VCA-EA IgG, 55 VCA IgM, 36 EBNA IgG, 5 EA IgG et 1 EA IgM).

Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 6.1.1.

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

Tableau 6.1.1. Combinaisons des tests effectués par les participants

Nombre de tests	Type de trousse	Laboratoires pairs	Laboratoires impairs
1 test	Ac. Hétérophiles	2	3
2 tests	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG	-	1
	VCA IgG + VCA IgM	14	7
	VCA-EA IgG + VCA IgM	3	2
	EBNA IgG + VCA IgM	1	1
	IgG totaux + IgM totaux	2	-
3 tests	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM	15	10
	Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM	3	3
	Ac. Hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux	4	5
	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + VCA IgM	3	8
	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + IgM totaux	1	-
	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + EA IgM	-	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	9	7
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	6	-
	IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	2	-
4 tests	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	13	8
	Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	2	4
	Ac. Hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	1	1
	2 Ac. Hétérophiles + VCA IgM + EBNA IgG	1	-
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	1
5 tests	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	1	4
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG + EA IgM	1	-
Total		88	66

6.1.3. Réactifs utilisés

6.1.3.1. Anticorps hétérophiles

Tableau 6.1.3. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps hétérophiles.

Fabricant	Trousse	Labos pairs	Labos impairs
Alere Health (= Inverness Medical)	Clearview IM	30	34
Biokit	Monogen	5	3
bioMérieux	Monoslide test	1	-
Dipromed (distributeur International Medical)	Mononucleosis (Qualitative Rapid Test)	-	2
Fumouze	MNI-test Mononucleose	2	1
Meridian	Monospot	3	3
	Monospot Latex	3	-
Microgen (distributeur Lucron)	Infectious Mononucleosis Screening Reagent	-	1
Omega Diagnostics	Avitex IM	-	1
Plasmatec (distributeur Forlab)	IM Latex test kit	-	1
Servibio (distributeur Biognost)	Servitex MNI	2	-
Spinreact (distributeur Lameris)	IM Latex	-	1
Stanbio	Rapet IM	-	1
Thermo Scientific	Accutex Infectious Mononucleosis Latex	1	-
Total		47	48

6.1.3.2. IgG

Les 15 déterminations (9 labos pairs et 6 labos impairs) des IgG totaux ont été effectuées avec la trousse Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens).

Les 23 déterminations (14 labos pairs et 9 labos impairs) des VCA-EA IgG ont été effectuées avec la trousse VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux).

Tableau 6.1.3. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps VCA anti-EBV IgG.

Fabricant	Trousse	Labos pairs	Labos impairs
bioMérieux	VIDIA EBV VCA IgG	1	-
BioRad	Anti-EBV VCA IgG Elisa	1	1
Dia.Pro Diagnostic Bioproducts	EBV VCA IgG	1	-
DiaSorin	Liaison VCA IgG	30	20
	ETI-VCA-G	1	-
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr VCA IgG	5	2
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa	8	3
Genbio (distributeur BMD)	Immunowell EBV VCA IgG	-	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgG	1	3
	Premier EBV VCA IgG	2	-
Novatec (distributeur BMD)	EBV VCA IgG ELISA	2	1
Siemens	Immulate EBV VCA IgG	4	5
	Novagnost anti EBV IgG	1	1
Total		57	37

Tableau 6.1.4. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps EBNA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	Labos pairs	Labos impairs
bioMérieux	VIDAS EBV EBNA IgG	10	10
BioRad	Anti-EBV EBNA IgG Elisa	1	2
Dia.Pro Diagnostic Bioproducts	EBV EBNA IgG	1	-
DiaSorin	Liaison EBNA IgG	20	15
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr EBNA IgG	4	1
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa	4	3
	Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA) IgG IFA	-	1
Genbio (distributeur BMD)	Immunowell EBNA IgG	1	-
Novatec (distributeur BMD)	EBV EBNA IgG ELISA	1	-
Siemens	Immulite EBV EBNA IgG	-	4
	Novagnost EBV EBNA IgG	3	-
Total		45	36

Tableau 6.1.5. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps EA anti-EBV IgG

Fabricant	Trousse	Labos pairs	Labos impairs
DiaSorin	Liaison EA IgG	4	4
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr EA IgG	1	-
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus early antigen (EBV-EA) IgG Elisa	1	-
	Epstein Barr virus early antigen (EBV-EA) IgG IFA	-	1
Total		6	5

6.1.3.3. IgM

Les 16 déterminations (10 labos pairs et 6 labos impairs) des IgM totaux ont été effectuées avec la trousse Enzygnost anti-EBV IgM II (Siemens).

Tableau 6.1.6. Réactifs utilisés pour rechercher les anticorps VCA anti-EBV IgM

Fabricant	Trousse	Labos pairs	Labos impairs
bioMérieux	VIDAS EBV VCA IgM	14	13
	VIDIA EBV VCA IgM	1	-
BioRad	Anti-EBV VCA IgM Elisa	2	1
Dia.Pro Diagnostic Bioproducts	EBV VCA IgM	1	-
DiaSorin	Liaison EBV IgM	32	22
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Epstein Barr VCA IgM	5	2
Euroimmun (distributeur Biognost)	Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa	9	4
Genbio (distributeur BMD)	Immunowell EBV VCA IgM	1	1
Meridian	Merifluor EBV VCA IgM	1	2
	Premier EBV VCA IgM	2	-
Novatec (distributeur BMD)	EBV VCA IgM ELISA	3	1
Siemens	Immulate EBV VCA IgM	4	8
	Novagnost anti EBV IgM	1	1
Total		76	55

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

6.1.4. Les résultats

6.1.4.1. Laboratoires pairs

Anticorps hétérophiles

43 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), 2 laboratoires un résultat borderline et un laboratoire a répondu que l'interprétation du test était impossible.

IgG

Tous les résultats pour les IgG, indépendamment de la nature de ces IgG, étaient négatifs.

IgM

Tous les résultats pour les IgM, indépendamment de la nature de ces IgM, étaient négatifs.

Interprétations

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation: « Sérologie négative pour EBV » (code 04).

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.1.7.:

Tableau 6.1.7. Interprétation par les laboratoires pairs

Interprétation	Labos pairs
Sérologie négative pour EBV (code 4).	86
Ac. hétérophiles borderline positifs ; pour exclure le début d'une infection par EBV, un nouveau prélèvement est nécessaire ¹	1
Pas d'interprétation ²	1
Total	88

¹ Interprétation fournie par un laboratoire qui effectue les Ac. hétérophiles (borderline), les VCA IgG, les VCA IgM et les EBNA IgG (ces 3 derniers tests étaient tous négatifs).

² Interprétation fournie par un laboratoire qui n'effectue que les Ac. hétérophiles (négatifs).

6.1.4.2. Laboratoires impairs

Anticorps hétérophiles

47 laboratoires ont obtenu un résultat négatif ; un laboratoire a obtenu un résultat positif.

IgG

IgG totaux

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Un aperçu des résultats quantitatifs est présenté dans le tableau 6.1.8.

Tableau 6.1.8. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Enzygnost anti-EBV IgG pour les laboratoires impairs.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Enzygnost anti-EBV IgG (U/mL)	6	162	126	201	*

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

VCA IgG

35 laboratoires ont obtenu un résultat positif et 2 laboratoires un résultat négatif. Pour un de ces 2 derniers laboratoires, la question se pose s'il ne s'agit pas d'une erreur de transcription au moment de remplir le formulaire de réponse: pour les VCA IgM ce laboratoire a rapporté un résultat positif.

Pour 1 trousse avec un nombre suffisant de participants nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ces résultats sont repris dans le tableau 6.1.9.

Tableau 6.1.9. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse Liaison VCA IgG pour les laboratoires impairs.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Liaison VCA IgG (U/mL)	20	403	291	590	20

VCA-EA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.
Un aperçu des résultats quantitatifs est repris dans le tableau 6.1.10.

Tableau 6.1.10. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour la trousse VIDAS EBV VCA/EA IgG pour les laboratoires impairs.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
VIDAS EBV VCA/EA IgG (index)	7	3.37	3.10	3.92	0.21

EBNA IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau 6.1.11.

Tableau 6.1.11. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les EBNA IgG pour l'échantillon IS/11067 pour les trousse les plus utilisées (laboratoires impairs).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
VIDAS EBV EBNA IgG (index)	9	2.14	2.00	2.38	0.21
Liaison EBNA IgG (U/mL)	15	94.2	84.9	105.0	20

EA IgG

Trois laboratoires ont obtenu un résultat négatif et deux un résultat borderline.

IgM

IgM totaux

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

VCA IgM

54 laboratoires qui ont effectué ce test ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat positif (il s'agit du laboratoire déjà mentionné sous les résultats des VCA IgG).

EA IgM

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

Interprétations

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation: « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV » (code 03).

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.1.12.:

Tableau 6.1.12. Interprétation par les laboratoires impairs

Interprétation	N labs
Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV (code 3).	60
Sérologie négative pour EBV (code 4). ¹	3
Sérologie positive dans l'essai IgM pour EBV; afin d'exclure une infection primaire par EBV une confirmation est nécessaire par tests supplémentaires (à savoir GOT/GPT, formule lymphos, R = T, Paul-Bunnel-Davidson) (code 002). ²	1
En plus du test pour les Ac. hétérophiles, il faut effectuer la sérologie spécifique pour l'EBV: EBV IgM, EBV IgG, EBNA IgG. ³	1
Immunité acquise. ⁴	1
Total	66

¹ Deux de ces interprétations ont été fournies par des laboratoires qui n'effectuent que les Ac. hétérophiles (négatifs). La troisième a été fournie par un laboratoire qui effectue les Ac. hétérophiles, les VCA IgG et les VCA IgM (tous négatifs).

² Interprétation fournie par le laboratoire qui a répondu les VCA IgG négatifs et les VCA IgM positifs.

³ Interprétation fournie par un laboratoire qui n'effectue que les Ac. hétérophiles (négatifs).

⁴ Interprétation fournie par un laboratoire qui effectue les Ac. hétérophiles (négatifs), les VCA IgG (positifs), les VCA IgM (négatifs) et les EBNA IgG (positifs).

6.1.5. Commentaire de l'enquête

La détermination des différents paramètres sérologiques pour l'EBV posa peu de problèmes en soi. A quelques exceptions près (et une erreur à nouveau due sans doute à des erreurs de copie) les réponses correspondaient à celles attendues. L'interprétation posa elle aussi peu de problèmes, bien qu'il faille remarquer que quelques laboratoires qui n'ont déterminé que les anticorps hétérophiles ont donné une interprétation "sérologie négative pour EBV". Cela est évidemment impossible en ne se basant que sur la détermination d'anticorps hétérophiles. La présence d'anticorps hétérophiles, si la demande est effectuée dans un contexte clinique adéquat, est "assez" spécifique pour une infection EBV aiguë, mais la sensibilité est relativement basse, surtout chez les enfants. Dix à 50 % des enfants de moins de 5 ans ne sont pas en état de produire des anticorps hétérophiles, mais aussi chez les adolescents et les adultes (certainement les personnes âgées) la sensibilité n'est pas de 100%. Des anticorps hétérophiles faussement positifs peuvent être trouvés chez des patients atteints de leucémie, ayant un lymphome, une infection de rubéole, ... Par ailleurs les anticorps hétérophiles peuvent persister parfois assez longtemps.

Pour la plupart des personnes immunocompétentes, la détermination de 3 paramètres sérologiques suffisent à l'interprétation de la sérologie EBV: VCA IgM (Viral Capsid Antigen), VCA IgG et EBNA-1 IgG (Epstein Barr Nuclear Antigen). La présence d'anticorps EBNA-1 exclut définitivement une infection primaire récente. Mais pas tous les individus ne produisent des anticorps EBNA-1 IgG et en outre les anticorps EBNA-1 IgG peuvent disparaître à nouveau.

Une infection primaire est caractérisée par l'apparition rapide d'anti-VCA IgM. Quand les anti-VCA-IgG apparaissent, les anti-VCA IgM diminuent jusqu'à disparition complète. Les anti-VCA-IgG persistent à vie chez les personnes immunocompétentes. Une infection EBV passée est caractérisée par l'absence d'anti-VCA IgM et la présence d'IgG contre tant les VCA que les EBNA.

Ci-après le tableau pour l'interprétation des différents paramètres sérologiques (qui avait déjà été remis lors de la discussion précédente).

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

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

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

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

L'interprétation "sérologie négative pour EBV" attendue pour les laboratoires pairs, a été évaluée correctement par la grande majorité. Seul un laboratoire qui n'a déterminé que les anticorps hétérophiles, a indiqué qu'il n'était pas possible d'interpréter et un laboratoire qui a rapporté un résultat douteux pour les anticorps hétérophiles a suggéré de prendre un nouvel échantillon pour exclure un début d'infection EBV.

Parmi les laboratoires impairs, 2 laboratoires qui n'ont déterminé que les anticorps hétérophiles, ont choisi l'interprétation "sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV", ce qui est impossible sur base de cette seule détermination comme déjà dit précédemment. La plupart des laboratoires ont donné l'interprétation "sérologie suggérant une infection ancienne par EBV" correcte.

An Boel, OLZV Aalst

Références

3. Hess, RD. 2004. Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the laboratory Perspective: Still Challenging after 35 Years. *J Clin Microbiol.* 42:3381-87.
4. Gärtner, BC et al. 2003. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference method. *Clin Diagn Lab Immunol.* 10:78-82.
5. Up To Date 2011,19.1.

6.2. La rubéole

6.2.1. Les échantillons

Un échantillon (IS/11068) a été envoyé pour effectuer la sérologie de la rubéole. Les laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair ont cependant reçu un échantillon différent sous ce même numéro.

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes:

« Une jeune femme, qui n'a pas été vaccinée dans sa jeunesse, se présente chez son médecin avec un rash et de la fièvre.»

Les résultats attendus étaient :

Laboratoires pairs : IgG positif
 IgM négatif
 Interprétation : Immunité (code 02)

Laboratoires impairs : IgG positif
 IgM borderline à positif
 Interprétation : Possibilité d'une infection récente (code 03)

6.2.2. Les participants

153 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse : 89 labos avec numéro d'agrément pair et 64 avec numéro d'agrément impair.

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

- recomBlot Rubella IgG (Mikrogen, distributeur Euribel)
- Liaison Rubella IgG et Liaison Rubella IgM (DiaSorin)
- Rubella virus IgG Elisa, Rubella virus IgM Elisa et Rubella virus avidity determination IgG Elisa (Euroimmun, distributeur Biognost)

Laboratoires avec un numéro d'agrément pair

6 laboratoires ont effectué 1 test, 82 laboratoires ont effectué 2 tests et 1 laboratoire a effectué 4 tests. Au total ils ont donc effectué 174 tests.

Tous les laboratoires qui ont effectué 1 test, ont déterminé les IgG. Les 82 laboratoires ayant effectué 2 tests ont déterminé les IgG et les IgM ; le laboratoire qui a effectué 4 tests a déterminé 2 fois les IgG et 2 fois les IgM (avec des méthodes différents).

Au total les laboratoires ont donc effectué 90 déterminations des IgG et 84 déterminations des IgM.

Laboratoires avec un numéro d'agrément pair

5 laboratoires ont effectué 1 test, 53 laboratoires ont effectué 2 tests et 6 laboratoires ont effectué 3 tests. Au total ils ont donc effectué 129 tests.

Quatre des laboratoires qui ont effectué 1 test ont déterminé les IgG et 1 laboratoire a déterminé les anticorps totaux. Les 53 laboratoires ayant effectué 2 tests ont déterminé les IgG et les IgM ; les 6 laboratoires qui ont effectué 3 tests ont déterminé les IgG et 2 fois les IgM (avec des méthodes différents).

Au total les laboratoires ont donc effectué 1 détermination des anticorps totaux, 63 déterminations des IgG et 65 déterminations des IgM.

6.2.3. Réactifs utilisés

Pour la détermination des anticorps totaux

Le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux a utilisé la trousse d'hémagglutination inhibition de Siemens.

Pour la détermination des IgG

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

Fabricant	Trousse	Labos pairs	Labos impairs
Abbott	Architect Rubella IgG	19	20
	AxSYM Rubella IgG	8	6
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DXi Rubella IgG	7	2
	Access Rubella IgG	5	3
bioMérieux	VIDAS Rub IgG II	8	11
	VIDIA Rub IgG	1	-
Diasorin	Liaison Rubella IgG	16	9
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnositics products Rubella IgG	3	3
Roche	Cobas Rubella IgG	7	1
	Modular Rubella IgG	4	2
	Elecsys Rubella IgG	2	-
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgG	5	3
	Immulite Rubella IgG	5	3
Total		90	63

Pour la détermination des IgM

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

Fabricant	Trousse	Labos pairs	Labos impairs
Abbott	Architect Rubella IgM	19	19
	AxSYM Rubella IgM	7	6
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DXi Rubella IgM	6	2
	Access Rubella IgM	5	3
bioMérieux	VIDAS Rub IgM	10	15
	VIDIA Rub IgM	1	-
Diasorin	Liaison Rubella IgM	16	9
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnosics products Rubella IgM	2	3
Roche	Cobas Rubella IgM	5	1
	Modular Rubella IgM	2	2
	Elecsys Rubella IgM	2	-
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgM	4	3
	Immulite Rubella IgM	5	2
Total		84	65

6.2.4. Résultats

6.2.4.1 Laboratoires pairs

IgG

Tous les 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).

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau 6.2.3.

Tableau 6.2.3. La médiane, le minimum et le maximum obtenus par les laboratoires pairs pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon IS/11068

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cutt-off
Architect Rubella IgG (IU/mL)	19	43.9	35.5	54.0	10.0
AxSYM Rubella IgG (IU/mL)	8	71.1	28.0	89.4	10.0
Unicel DXi Rubella IgG (IU/mL)	7	74.4	56.6	100.0	15.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	8	78.5	64.0	93.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	16	32.5	25.1	40.8	10.0
Cobas Rubella IgG (IU/mL)	7	158.8	148.4	166.0	10.0

IgM

Les résultats des déterminations des IgM sont présentés dans le tableau 6.2.4.

Tableau 6.2.4.: Résultats pour les IgM anti-rubéole pour l'échantillon IS/11068 (laboratoires pairs)

Résultat	N labos
Négatifs	78
Positif	3
Borderline	2
Total	83

Le laboratoire ayant déterminé les IgM avec 2 techniques, a obtenu des résultats négatifs pour ces 2 techniques.

Les trois résultats positifs et un des résultats borderline ont été obtenus avec la trousse Immulite Rubella IgM. La firme Siemens a été contactée à ce sujet et a examiné l'échantillon. Ils nous ont communiqué la conclusion suivante :

“Results for this sample on L2KRM kit lot 211 are similar to those on kit lot 210 with nonreactive results after treatment with HBT indicating the results were affected by heterophilic interference”.

Les HBT (“Heterophile blocking tubes”) sont des réactifs qui combattent l'interférence par des anticorps hétérophiles (“heterophilic antibodies”). Ces anticorps hétérophiles sont des anticorps endogènes retrouvés dans le sérum/plasma de patients et qui peuvent fixer les immunoglobulines d'autres espèces, y compris les espèces utilisées dans la production des anticorps qui sont utilisés comme réactifs dans les immunoessais. Ces immunoglobulines peuvent interférer dans les immunoessais et causer une augmentation de la valeur mesurée, qui est indépendante de la vraie concentration de l'analyte concerné, avec pour conséquence une éventuelle classification erronée de l'échantillon.

Interprétations

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau 6.2.5.

Tableau 6.2.5. Interprétations pour l'échantillon IS/11068 (labos pairs).

Interprétation	Nombre de laboratoires
Immunité (code 002)	76
Immunité si IgM négatifs ¹	1
Immunité probable par une infection dans le passé ²	1
Présence des IgG (les IgM ne sont pas déterminées). Si IgM négatives:→ code 002 (immunité); si IgM positives:→ code 003:→confirmer par avidité ³	1
Pas d'immunité (code 001) ⁴	2
Possibilité d'une infection récente (code 003) ⁵	7
Pas de réponse ⁶	1
Total	89

¹ Ce laboratoire n'a déterminé que les IgG (positives).

² Ce laboratoire a déterminé les IgG (positives) et IgM (négatives).

³ Ce laboratoire n'a déterminé que les IgG (positives)

⁴ Ces 2 laboratoires ont déterminé les IgG (positives) et IgM (négatives).

⁵ Trois de ces laboratoires ont obtenu des résultats positifs pour les IgG et les IgM. Deux ont obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat borderline pour les IgM. Deux n'ont déterminé que les IgG (positives) mais ont mentionné que les IgM devraient être déterminées.

⁶ Un laboratoire a laissé l'interprétation ouverte ; il a obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat négatif pour les IgM.

Les remarques fournies par les laboratoires ayant répondu le code d'interprétation 2, sont reprises dans le tableau 6.2.6

Tableau 6.2.6. Remarques fournies par les laboratoires ayant répondu le code d'interprétation 2 pour l'échantillon IS/11068 (labos pairs).

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	53
Une confirmation est nécessaire par un nouveau prélèvement	4
Une confirmation est nécessaire par des tests supplémentaires (rougeole, parvovirus B19)	1
Détermination d'HCG si incertitude concernant une grossesse: si +: détermination des IgM; si -: pas d'analyse supplémentaire	1
Total	59

6.2.4.2 Laboratoires impairs

Anticorps totaux

Le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux, les a trouvés positives.

IgG

Les résultats des déterminations des IgG sont présentés dans le tableau 6.2.7.

Tableau 6.2.7.: Résultats pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon IS/11068 (laboratoires impairs)

Résultat	N labos
Positif	61
Borderline	2
Total	63

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau 6.2.8.

Tableau 6.2.8. La médiane, le minimum et le maximum obtenus par les laboratoires impairs pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon IS/11068.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cutt-off
Architect Rubella IgG (IU/mL)	20	29.0	25.4	42.4	10.0
AxSYM Rubella IgG (IU/mL)	6	31.0	24.2	40.0	10.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	11	33.0	29.0	38.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	9	14.8	11.1	18.0	10.0

IgM

Les résultats des déterminations des IgM sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.9.: Résultats pour les IgM anti-rubéole pour l'échantillon IS/11068 (laboratoires impairs)

Résultat	N labos
Positif ¹	33
Positif /borderline ¹	2
Positif /négatif ¹	1
Borderline	19
Négatif	3
Pas de résultat qualitatif ²	1
Total	59

¹ Trois des laboratoires ayant utilisé 2 techniques, ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques; les trois autres ont obtenu des résultats différents avec les 2 techniques.

² Un laboratoire a bien fourni le résultat quantitatif (index 0.93 obtenu avec la trousse ADVIA Centaur Rubella IgM) mais a laissé ouvert l'interprétation qualitative.

Pour les trouses avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau 6.2.10. en fonction du résultat qualitatif.

Tableau 6.2.10. La médiane, le minimum et le maximum obtenus par les laboratoires impairs pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon IS/11068.

Trousse (unité)	Résultat qualitatif	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	N labos	Cutt-off
Architect Rubella IgM (index)							<1.20 = non-réactif; 1.20 - 1.60 = zone grise; ≥ 1.60 = réactif
	+	1	1.27				
	±	16		1.33	0.66	1.41	
AxSYM Rubella IgM (index)	-	2	0.56 et 1.29				<0.600 = non-réactif; 0.600 - 0.799 = zone grise; ≥ 0.800 = réactif
	±	4		0.688	0.670	0.760	
	-	2	0.578 et 0.597				
VIDAS Rub IgM (index)							<0.8 = non-réactif; 0.8 - 1.2 = zone grise; ≥ 1.2 = réactif
	+	15		2.12	1.92	2.35	
	±	1	21.3				
Liaison Rubella IgM (au/mL)							<20 = négatif; 20 - 25 = zone grise; ≥ 25 = positif
	+	8		32.8	29.3	37.7	
	±	1					

Interprétations

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau 6.2.11.

Tableau 6.2.11. Interprétations pour l'échantillon IS/11068 (labos impairs).

Interprétation	Nombre de laboratoires
Possibilité d'une infection récente (code 003)	54
Immunité (code 002) ou Possibilité d'une infection récente (code 003) si les IgM sont positives ¹	1
Immunité (code 002) ²	5
Immunité après ancienne infection (valeur « reste » IgM). Rash = début de la maladie → IgM élevées + IgG faibles ³	1
Probable immunité? Vu le caractère borderline des IgM, sérologie à contrôler sur un nouveau prélèvement ⁴	1
Positif ⁵	1
Pas de réponse ⁶	1
Total	64

¹ Ce laboratoire n'a déterminé que les IgG (positives).

² Deux de ces laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat négatif pour les IgM. Deux ont obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat borderline pour les IgM. Un laboratoire a obtenu un résultat positif pour les IgG et n'a pas fourni l'interprétation qualitative pour les IgM.

³ Ce laboratoire a obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat borderline pour les IgM.

⁴ Ce laboratoire a obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat borderline pour les IgM.

⁵ Ce laboratoire a obtenu des résultats positifs pour les IgG et les IgM.

⁶ Un laboratoire a laissé l'interprétation ouverte ; il a obtenu un résultat positif pour les IgG.

Les remarques fournies par les laboratoires ayant répondu le code d'interprétation 3, sont reprises dans le tableau 6.2.12

Tableau 6.2.12. Remarques fournies par les laboratoires ayant répondu le code d'interprétation 3 pour l'échantillon IS/11068 (labos impairs).

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation est nécessaire par un nouveau prélèvement	29
Une confirmation est nécessaire par des tests supplémentaires	8
Une confirmation est nécessaire par des tests supplémentaires et par un nouveau prélèvement	6
Une confirmation est nécessaire par un nouveau prélèvement et ISP: band E2 (≈ audité) par immunoblot	1
Une confirmation n'est pas nécessaire	4
Contrôler grossesse? Si oui, concerter avec le gynécologue + contrôle éventuel avec une autre technique	1
Total	49

Les tests supplémentaires qui sont conseillés, sont repris dans le tableau 6.2.13.

Tableau 6.2.13. Tests supplémentaires conseillés pour l'échantillon IS/11068 (labos impairs).

Test conseillé	Nombre de laboratoires
Rubella IgM (= labos qui n'ont déterminé que les IgG)	3
Confirmation des Rubella IgM avec une autre technique	3
Confirmation des Rubella IgM par immunoblot	1
Confirmation des Rubella IgM avec une autre technique et avidité	1
Recomblot Rubella IgG	1
PCR	1
2 ^e technique	1
Avidité	2
Test de grossesse et si positif: Rubella IgG E2	1
Total	14

6.2.5. Rubella: Commentaire concernant l'enquête

Un échantillon (IS/11068) a été envoyé (les laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair ont cependant reçu un échantillon différent sous ce même numéro). L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Jeune femme, qui n'a pas été vaccinée dans sa jeunesse, se présente chez son médecin avec un rash et de la fièvre.»

Echantillon S/11068, laboratoires pairs

Cet échantillon, positif en IgG et négatif en IgM, n'a pas posé de grands problèmes pour la majorité des participants, ni en ce qui concerne les déterminations analytiques, ni en ce qui concerne les interprétations. Les résultats des déterminations des IgG ont très bien montré la grande dispersion des valeurs analytiques suivant l'appareil utilisé. Même si on utilise les Unités Internationales (UI/ml) il faut tenir compte du fait qu'elles ont été standardisées vis-à-vis de standards de l'OMS différents, ce qui rend la comparaison entre les résultats analytiques des différents appareils impossible. L'observation que 4 des 5 résultats non-négatifs (positifs et borderline) pour les IgM ont été obtenus avec la trousse Immulite Rubella IgM doit être examinée et expliquée par le producteur Siemens. L'interprétation de choix "immunité" a été fournie par 85% (76 des 89) des laboratoires qui ont renvoyé leur formulaire de réponse. Il est également correct qu'il est impossible d'exclure une infection récente si on a uniquement effectué la détermination des IgG sans connaissance des IgM. L'interprétation "pas d'immunité" dans le cas d'une positivité analytique des IgG et une négativité des IgM ne peut pas être considérée comme correcte. L'exécution de l'avidité des IgG Rubella en cas d'un résultat possiblement positif des IgM (le laboratoire en question n'a effectué que les IgG) ne peut pas être conseillée dans le contexte clinique: les déterminations d'avidité des IgG ont plutôt pour but de dater les infections, ce qui est surtout important dans le début de la grossesse. Une autre manière de dater une infection récente par Rubella est de démontrer la présence des IgG anti-E2 par immunoblot: ces IgG dirigées contre la glycoprotéine E2 de l'enveloppe apparaissent 3-4 mois après une infection primaire par Rubella. Il est correct que l'importance des infections par Rubella chez les adultes se situe principalement dans la prévention du Syndrome Congénitale de Rubella mais étant donné que la rubéole est devenue rare en Belgique (grâce à la vaccination qui est largement répandue) l'importance de la détermination des IgM en cas d'une image clinique suggestive en dehors de la grossesse, comme dans l'exemple actuel, doit être soulignée.

Echantillon S/11068, laboratoires impairs

Les résultats des déterminations des IgG n'ont montré pour cet échantillon également pas de problème: 97% (61 des 63) des laboratoires ayant renvoyé leur formulaire de réponse ont obtenu un résultat positif; 91.5% (54 des 59) des laboratoires ayant renvoyé leur formulaire de réponse ont obtenu un résultat non-négatif (positif et borderline) pour les IgM. Il est important de confirmer une infection récente par au moins une des possibilités suivantes: a) la confirmation de la positivité des IgM par une autre méthode analytique, de préférence au Centre National pour la rougeole et la rubéole; b) démontrer une sérologie évolutive sous forme d'une augmentation significative sur un nouveau prélèvement 1-2 semaines après la première analyse (avec la même méthode); c) démontrer la présence d'anticorps à avidité élevée/IgG anti-E2 s'il est important de dater l'infection (voir la discussion plus haut).

Il est également important de remarquer que dans le contexte clinique présent la probabilité d'une infection par Rubella est élevée, ce qui augmente la valeur prédictive positive du test d'IgM.

Elizaveta Padalko
UZ Gent

Références

6. [Wandinger KP](#), [Saschenbrecker S](#), [Steinhagen K](#), [Scheper T](#), [Meyer W](#), [Bartelt U](#), [Enders G](#). Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis. [J Virol Methods](#).
7. [Fölster-Holst R](#), [Kreth HW](#). Viral exanthems in childhood--infectious (direct) exanthems. Part 1: Classic exanthems. [J Dtsch Dermatol Ges](#). 2009 Apr;7(4):309-16.
8. Lennette E.H.n Smith T.F. Laboratory Diagnosis of Viral Infections. 3rd edition, 1999, Marcel Dekker Inc.

6.3. Antigène Legionella

6.3.1. Les échantillons

Il y avait 2 échantillons d'urine pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/6792 en Ag/11069. L'échantillon Ag/6792 était négatif et l'échantillon Ag/11069 positif. L'échantillon Ag/11069 a déjà été envoyé lors de l'enquête 2010/2 sous le numéro Ag/10093.

6.3.2. Les participants

79 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

78 laboratoires ont effectué un test et un laboratoire deux tests.

6.3.3. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.3.1. Réactifs utilisés pour les tests pour la détection de l'antigène Legionella

Fabricant	Réactif	Ag/6792	Ag/11069
Alere Health (Inverness Medical)	Binax Now Legionella Urinary Ag test	63	63
Biorad	Legionella Urine Antigen EIA	1	1
Coris Bioconcept (distributeur International Medical)	Legionella V-test	4	4
IVD Research Inc. (distributeur Herman Diagnostics)	Legionella Urinary Antigen Lateral Flow	3	3
Meridian	SAS Legionella Test	7	7
Oxoïd	Xpect Legionella Test	2	2
Total		80	80

6.3.4. Résultats

6.3.4.1. Echantillon Ag/6792

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif (le labo ayant utilisé 2 méthodes a obtenu un résultat négatif avec ces 2 techniques).

6.3.4.2. Echantillon Ag/11069

78 laboratoires ont obtenu un résultat positif (le labo ayant utilisé 2 méthodes a obtenu un résultat positif avec ces 2 techniques). Un laboratoire a obtenu un résultat négatif.

6.3.5. Commentaire

Nous référons au commentaire concernant l'EEQ 2010/2 repris dans le rapport global concerné (p.77-79).