

**INSTITUT SCIENTIFIQUE DE SANTE PUBLIQUE
QUALITE DES LABORATOIRES MEDICAUX**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

RAPPORT GLOBAL

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

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2012/03

Microbiologie

Klebsiella pneumoniae
Propionibacterium acnes

Parasitologie

Taenia species
Isospora belli

Sérologie

HIV
Mycoplasma

ISP-12/03/Micro/Séro/Para/89

Service Qualité des laboratoires médicaux
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique
www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS EN MICRO/SERO/PARA

ISP (secrétariat)	:	02/642.55.21 – FAX : 02/642.56.45
(Dr. VERNELEN K.)	:	02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coordinateur)	:	e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
Pharm. BOEL An	:	053/72.47.85 – FAX : 053/72.45.88
	:	e-mail : an.boel@olvz-aalst.be
Dr. CLAEYS Geert	:	09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
	:	e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans	:	053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
	:	e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves	:	02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
	:	e-mail : yves.degheldre@chirec.be
Dr. DEDISTE Anne	:	02/535.45.42
	:	e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce	:	02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
	:	e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. LAGROU Katrien	:	016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
	:	e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
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. PADALCO 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. VERROKEN Alexia	:	02/764.67.32 – FAX : 02/764.69.33
	:	e-mail : alexia.verroken@uclouvain.be
Dr. WOESTYN Sophie	:	056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
	:	e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Réunion du comité d'experts : 10/01/2013

Autorisation de diffusion de rapport : Kris Vernelen - 16/01/2013



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

Tables des matières

I.	Remarques générales	1
II.	Identifications	2
	2.1 M/11719, M/11720 et M/11721 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
	2.2 M/11726 <i>Propionibacterium acnes</i>	10
III.	Résultats des identifications	19
	3.1 M/11719 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (frottis rectal)	19
	3.2 M/11720 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (aspiration bronchique)	20
	3.3 M/11721 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (urine)	21
	3.4 M/11726 <i>Propionibacterium acnes</i> (révision de prothèse d'épaule)	22
IV.	Antibiogramme	23
	4.1 M/11719 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
	4.2 M/11720 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	31
	4.3 M/11721 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	45
V.	Parasitologie	63
	5.1 Les échantillons	63
	5.2 Les résultats pour l'échantillon P/11892	64
	5.3 Les résultats pour l'échantillon P/11967	68
VI.	Sérologie	72
	6.1 <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	72
	6.1.1 Informations concernant les échantillons	72
	6.1.2 Les participants	72
	6.1.3 Réactifs utilisés	74
	6.1.4 Les résultats	76
	6.1.4.1. Echantillon S/7731	76
	6.1.4.2. Echantillon S/11713	80
	6.1.5. Commentaire concernant l'enquête	84
	6.2 HIV	87
	6.2.1 Information concernant l'échantillon envoyé	87
	6.2.2 Les participants	87
	6.2.3 Réactifs utilisés	88
	6.2.4 Les résultats	89
	6.2.4.1. Echantillon S/5309	89
	6.2.4.2. Echantillon IS/8900	90
	6.2.4.3. Interprétations	90
	6.2.5 Commentaire	93

I. Remarques générales

Pour la 3^e enquête du cycle 2012 (enquête 2012/3), le matériel suivant a été expédié le 1 octobre 2012.

1.1 Quatre échantillons lyophilisés pour identification.

Pour 3 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2 Deux échantillons de selles pour la recherche de parasites.

1.3 Quatre échantillons de plasma pour la sérologie du **Mycoplasma** et du **VIH**.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	163
2.	Pour la parasitologie :	156
3.	Pour la sérologie	
	Mycoplasma :	148
	VIH :	165

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

Nous remercions Marc Lontie et Geert Claeys 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 les frottis bactériens pour colorations:

https://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/nl/microbiologie.htm
et puis cliquer sous « Codes » sur « Frottis pour colorations »

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 Cultures /11719, M/11720 et M/11721 *Klebsiella pneumoniae*

Entérobactéries productrices de carbapénémases

Définition

Les carbapénémases sont des β -lactamases qui hydrolysent les pénicillines, les céphalosporines (dans la plupart des cas), et à un degré variable les carbapénèmes et les monobactames (aztreonam) (ces derniers ne sont pas hydrolysés par les métallo- β -lactamases). Bien que la présence de ces enzymes ait été rapportée chez de nombreux genres et espèces de Gram-négatif, ce commentaire ne s'attachera qu'aux entérobactéries productrices de carbapénémases (CPE), les *Pseudomonas* producteurs de Métallo-beta lactamase ayant déjà fait l'objet d'un contrôle qualité antérieurement (cf. EEQ 2007/2).

Epidémiologie et importance clinique

Le problème de la dissémination des carbapénémases est apparu en Europe vers la fin des années 1990, en particulier dans les pays méditerranéens (Italie, Grèce), celles-ci étant observées principalement chez *Pseudomonas aeruginosa*. A partir de 2004, la Grèce a été affectée par une épidémie majeure occasionnée par un clone de *Klebsiella pneumoniae* producteur d'une métallo- β -lactamase de type VIM-1, et celle-ci a été rapidement suivie par une deuxième épidémie dès 2006 causée cette fois par une *Klebsiella pneumoniae* productrice d'une carbapénémase de type KPC (classe A de Ambler). Cette carbapénémase est actuellement la plus répandue en Europe parmi les Entérobactéries. En Grèce et en Italie, environ 60% et 15%, respectivement des isolats invasifs de *K. pneumoniae* (souches d'hémocultures) étaient de sensibilité intermédiaire ou résistante aux carbapénèmes (Rapport EARS-Net ECDC, 2011). Dans les autres pays Européens, des cas sporadiques ainsi que des épidémies ont été rapportées, mais la prévalence reste faible ($\leq 1\%$). Parmi les autres carbapénémases émergentes, on relève la New-Delhi Métallo- β -lactamase (NDM-1), qui est très prévalente en Inde au Pakistan et au Moyen-Orient. Les carbapénémases de type OXA-48 (classe D de Ambler) initialement rapportées en Turquie en 2004, puis largement retrouvées en Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Lybie) et au Moyen-Orient (Egypte, Liban,...) sont celles qui se répandent le plus rapidement et de nombreuses épidémies ont été signalées dans la plupart des pays en Europe depuis 2010.

En Belgique, le programme de surveillance initié conjointement par l'ISP-WIV et le Centre National de Référence, montre qu'on assiste à une augmentation du nombre d'entérobactéries productrices de carbapénémases, OXA-48 représentant plus de 80% des cas, suivi par KPC (environ 15% des cas). Des épidémies à caractère loco-régional ont été rapportées dans plusieurs provinces du pays, particulièrement chez l'espèce *K. pneumoniae* (plus rarement au niveau d'autres espèces telles *Enterobacter cloacae* ou *Citrobacter freundii*). Une étude réalisée par le CNR des carbapénémases en 2012 dans 25 hôpitaux belges a estimé que la prévalence d'Entérobactéries non sensibles aux carbapénèmes (I ou R) chez les patients hospitalisés était de l'ordre de 3% et que environ 10% de ces souches (soit une prévalence de 0.3%) étaient productrices de carbapénémases (principalement *K. pneumoniae* OXA-48) (Huang TD et al, soumis pour publication).

A noter également que depuis 2012, des souches d'*E. coli* productrices de carbapénémase OXA-48 sont de plus en plus fréquemment rencontrées dans la flore commensale et dans les urines de patients non hospitalisés. La Table 1 résume la

classification des principales carbapénémases et leur fréquence de distribution selon les différentes espèces.

Mécanismes de résistance

Les carbapénémases sont très majoritairement codées par des gènes de résistance transférés par des plasmides ou d'autres éléments génétiques transposables (transposons, séquences d'insertion). Ces enzymes sont exprimées à des niveaux variables et elles exercent une activité hydrolytique différente sur les différents substrats β -lactames en fonction de leurs propriétés biochimiques et de l'appartenance à l'une ou l'autre des trois classes d'Ambler (Classe A, B ou D). Les phénotypes et le niveau de résistance observé vis-à-vis des carbapénèmes peuvent également varier en fonction de l'espèce et de l'association fréquente des carbapénémases avec d'autres mécanismes de résistance (p.ex. : autres type β -lactamases dont BLSE et/ou céphalosporinase AmpC, surexpression de pompes à efflux, diminution de perméabilité de la paroi).

Cependant, dans la majorité des cas, une diminution de sensibilité aux carbapénèmes chez les entérobactéries n'est pas liée à la production de carbapénémases mais est associée à la présence de BLSE et/ou de céphalosporinases AmpC associées à une diminution de la perméabilité de la paroi par altération ou déficience de porines.

Le plus souvent, les CPE sont résistantes aux céphalosporines de troisième (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et de quatrième génération (céfépime). Les CPE de type OXA-48 présentent une sensibilité diminuée ou une résistance aux carbapénèmes, mais elles restent parfois encore sensibles aux céphalosporines. Cependant, dans la plupart des cas, les entérobactéries productrices d'OXA-48 co-produisent une BLSE de type CTX-M, et elles sont donc aussi résistantes aux céphalosporines. La détection de carbapénémases a une grande importance sur le plan épidémiologique et en terme de santé publique (risque de dissémination de souches et transfert horizontal de plasmides d'une espèce vers une autre) cependant la nécessité de détecter la présence d'une carbapénémase pour catégoriser le résultat de l'antibiogramme reste controversée. Le comité EUCAST recommande de ne pas interpréter le résultat, l'impact de la présence d'une carbapénémase sur la virulence des souches et sur le pronostic des patients infectés reste encore mal connu. Il considère que les carbapénémases ont un impact clinique majeur (en terme de diminution de l'efficacité du traitement) lorsqu'elles confèrent une diminution de sensibilité ou une résistance aux carbapénèmes et que la CMI vis-à-vis d'un ou de plusieurs d'entre eux (imipénème, méropénème, ertapénème et doripénème) est supérieure à la valeur du seuil de screening épidémiologique (ECOFFs) défini par l'EUCAST (cf. Table 2).

Méthodes recommandées pour la détection des CPE

1. Tests de screening

Les CPE ont souvent une CMI en dessous du seuil limite de sensibilité aux carbapénèmes que ceux-ci soient basés sur les normes de l'EUCAST ou sur celles du CLSI. Cependant, les valeurs de screening (ECOFFs) définies par l'EUCAST peuvent s'avérer utiles pour le dépistage des CPE (cf. Table 2). Le méropénème offre le meilleur compromis de sensibilité et de spécificité. L'ertapénème a une excellente sensibilité, mais une spécificité faible, en particulier chez *Enterobacter* spp. à cause de son instabilité aux BLSE et aux céphalosporinases, lorsque celles-ci sont associées à une diminution de perméabilité de la paroi. Pour le méropénème la valeur seuil de screening recommandé par l'EUCAST pour la détection des CPE a été définie comme une CMI >0.125 mg/L et un diamètre < 25 mm. Cependant, sur la base de l'expérience belge, un nombre substantiel de CPE de type OXA-48 ont une zone d'inhibition supérieure à 24 mm, et il est probablement indiqué de considérer comme *a priori* suspecte de CPE toute entérobactérie présentant un diamètre < 27 mm. Pour l'imipénème et l'ertapénème, les valeurs seuils de screening des carbapénémases sont une double dilution plus élevée (>1 mg/L pour l'imipénème ; >0.125 mg/L pour l'ertapénème) que les valeurs des ECOFF définies par l'EUCAST afin d'améliorer la spécificité.

Il semble également important de rappeler ici que *K. pneumoniae* (pas *Klebsiella oxytoca*) et dans une moindre mesure *E. coli* sont de loin les deux espèces les plus fréquemment associées à la présence d'une carbapénémase. La présence de CPE reste actuellement très exceptionnelle dans certaines espèces d'entérobactéries (p.ex. : *Enterobacter aerogenes*, *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp.) pour lesquelles une diminution de sensibilité observée aux carbapénèmes correspond le plus souvent à des combinaisons de mécanismes de résistance (p.ex. : BLSE et/ou Céphalosporinase + perte de porines et ou PBP de paroi de faible affinité pour les carbapénèmes)

2. Méthodes de confirmation

Des tests phénotypiques recherchant la présence d'une synergie entre le méropénème et des inhibiteurs de carbapénémases peuvent être facilement réalisés mais ces méthodes sont lentes et ne permettent d'obtenir un résultat qu'au minimum 18-24 h après l'antibiogramme.

L'algorithme proposé dans la Table 3 permet de différencier les métallo- β -lactamases (classe B), les carbapénémases de classe A, celles de la classe D et les isolats non-producteurs de carbapénémases (BLSE et/ou AmpC plus perte de porines). Ces tests peuvent être réalisés par la méthode de diffusion des disques en gélose selon les normes de l'EUCAST ou du CLSI. Des disques papiers imprégnés d'inhibiteurs peuvent être fabriqués maisons. Un kit utilisant des tablettes est actuellement commercialisé (Neosensitabs Rosco, Denmark) et il est très probable que des tests similaires soient prochainement mis sur le marché par d'autres fabricants.

Il n'existe actuellement pas d'inhibiteurs de carbapénémases de classe D. Une résistance de haut niveau à la témocilline (CMI \geq 256 mg/l ; absence de zone d'inhibition en disque) constitue un bon marqueur phénotypique pour la différenciation d'une CPE OXA-48 et la combinaison d'une BLSE avec une perte de porine (pas de résistance de haut niveau à la témocilline). La présence d'une résistance de haut niveau à la pipéracilline/tazobactam est également un bon indicateur de la présence d'OXA-48 (en particulier lorsque cette résistance est associée à la résistance à la témocilline). Cependant, aucun de ces marqueurs pris individuellement n'est spécifique d'OXA-48, d'autres mécanismes de résistance pouvant conférer ces mêmes phénotypes.

Il est déconseillé d'utiliser le test de Hodge en routine, car sa réalisation est compliquée (difficulté de standardisation, nécessité d'utiliser des souches contrôles positifs et négatifs), l'interprétation des résultats difficile (mauvaise reproductibilité) et la sensibilité et la spécificité sont médiocres.

Plusieurs méthodes basées sur l'hydrolyse des carbapénèmes par MALDI-TOF, par mesure spectrophotométrique ou par test biochimique colorimétrique (Carba NP test) ont été proposées récemment. Ces tests peuvent être réalisés directement sur colonies (avant l'antibiogramme) et permettent d'obtenir un résultat après quelques heures par le MALDI-TOF et après seulement 60-120 min par le Carba NP test, offrant ainsi l'avantage de pouvoir les utiliser dans le cadre d'un dépistage rapide de CPE. A la différence des techniques spectrophotométriques et du MALDI-TOF, le Carba NP test ne nécessite aucun équipement particulier et il peut donc être implémenté dans tous les laboratoires. Dans des évaluations préliminaires, le Carba NP test a montré d'excellentes performances, avec une sensibilité et une spécificité proches de 100%. De plus, une modification du test (Carba NP II test) utilisant des inhibiteurs spécifiques permettrait d'identifier précisément le type de carbapénémase. Ces méthodes n'ont cependant été évaluées que dans un nombre limité de laboratoires de recherche et doivent encore faire l'objet d'une validation à plus large échelle. La commercialisation prochaine de ces tests rapides (en particulier pour le Carba NP test) devrait permettre leur introduction dans les laboratoires de routine.

Des méthodes génotypiques basées sur des techniques de PCR ont été rapportées. Ces techniques nécessitent une infrastructure spécialisée en biologie moléculaire et restent par ailleurs trop coûteuses pour être utilisées en routine. Des méthodes commercialisées combinant amplification génique (par ligase-PCR) et détection par hybridation spécifique sur biopuce à ADN sont également disponibles et permettent l'obtention de résultats (détection précise du type de CPE et d'autres types de beta-lactamases) en quelques heures. Globalement, les méthodes génotypiques ont le désavantage de ne pas permettre la détection de nouveaux types ou de variants de carbapénémases existantes et leur utilisation reste encore limitée aux seuls laboratoires spécialisés et aux centres de référence.

Commentaire relatif aux isolats envoyés dans cette EEQ

Les trois souches de *Klebsiella pneumoniae* envoyées dans le cadre de l'EEQ 2012/3 étaient toutes les trois productrices de carbapénémases et répondaient donc à la définition de CPE (« Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae »).

La souche **M/11719** produisait une métallo- β -lactamase (classe B de Ambler) de type VIM-1 (Verona Imipenemase). La souche **M/11720** produisait une carbapénémase de type KPC (Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase, classe A de Ambler), tandis que la souche **M/11721** était porteuse d'une carbapénémase de type OXA-48 (classe D de Ambler).

L'identification de l'espèce ne posait pas de problème pour ces souches, la quasi-totalité des participants ayant correctement identifié les trois souches comme appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae*.

Malgré la diversité des méthodes d'antibiogramme des tests complémentaires utilisés, la majorité des participants ont détecté ou suspecté la présence d'une carbapénémase (en précisant qu'ils enverraient une telle souche au laboratoire de référence pour confirmation de son identification comme une CPE). Comme demandé dans le contrôle de qualité, un certain nombre de laboratoires ont proposé de tester des antibiotiques

complémentaires sur ces trois souches; les molécules les plus fréquemment suggérées ont été la colistine, la tigecycline, la gentamicine.

Les souches **M/11179** et **M/11720** présentaient une résistance de haut niveau aux carbapénèmes (CMI ≥ 32 mg/L) et étaient par ailleurs résistantes vis-à-vis de l'ensemble des antibiotiques testés. Un certain nombre de laboratoires ont réalisé des tests complémentaires (tests de synergie par méthodes des disques combinés en présence d'inhibiteurs spécifiques, test de Hodge modifié, CMI par E test à la témocilline,...). La souche **M/11179** ne produisait pas de BLSE (elle présentait une sensibilité conservée à l'aztreonam, cet antibiotique n'étant pas hydrolysé par les métallo- β -lactamases) tandis que la souche **M/11720** co-produisait une BLSE de type SHV-12. La détection de BLSE ou d'autres types de β -lactamase est difficile à mettre en évidence par les tests phénotypiques car la présence de ces β -lactamases (révélées par la synergie entre céphalosporines de troisième génération et l'acide clavulanique) peut être masquée par la carbapénémase. Chez les CPE, la mise en évidence d'une BLSE associée peut être révélée phénotypiquement par l'utilisation de tests de synergie en présence d'inhibiteurs spécifiques de carbapénémases (p.ex : EDTA pour les métallo- β -lactamases, acide boronique pour les carbapénémases de classe A). Cependant, la détection d'une BLSE semble d'importance secondaire en présence d'une carbapénémase tant au niveau clinique que en matière d'hygiène hospitalière.

La souche **M/11721** ne produisait qu'une seule enzyme de type OXA-48, celle-ci étant exprimée à bas niveau avec une CMI au méropénème de 0.25 mg/L et une zone d'inhibition de 22 mm (sensibilité limite). Sur la seule base des concentrations critiques pour la catégorisation clinique telles que définies par l'EUCAST, une telle souche aurait encore été déclarée sensible et il est donc important de prendre en considération les valeurs seuils de screening pour la détection des carbapénémases exprimées à bas niveau. C'est cette souche qui posait le plus de problème, plus de la moitié des laboratoires ayant rapporté la souche sensible ou intermédiaire (en résultat brut). Sur le plan de l'interprétation clinique, l'EUCAST recommande actuellement de rapporter effectivement la sensibilité aux carbapénèmes en fonction des valeurs de la CMI et de ne pas modifier les résultats sur base de la présence d'une carbapénémase. Cette recommandation reste cependant controversée car il n'existe actuellement **que très peu de données cliniques ayant montré l'efficacité thérapeutique des carbapénèmes en cas d'infection par des souches de type CPE dont la CMI reste inférieure aux concentrations critiques des seuils cliniques (et donc encore sensibles)**. En ce qui concerne le rapportage du résultat, il paraît prudent, certainement dans le cadre d'infections sévères (p.ex. : hémocultures positives) **d'ajouter un commentaire précisant que l'utilisation des carbapénèmes dans de telles situations ne peut se faire qu'après concertation entre le clinicien et le microbiologiste ou l'infectiologue.**

En cas d'infection à CPE il est important que **les laboratoires de microbiologie utilisent des méthodes quantitatives (mesures de CMI)**, permettant de mesurer avec précision et selon un protocole standard le niveau de sensibilité ou de résistance de ces souches, vis-à-vis des carbapénèmes et éventuellement d'autres classes d'antibiotiques que l'on envisage d'utiliser pour le traitement.

En cas d'utilisation thérapeutique de carbapénèmes, il paraît également fort important de contrôler la valeur de la CMI de la souche par une autre méthode (p.ex : E test ou microdilution) que celles utilisées pour l'antibiogramme de routine. En cas de discordance de résultats, c'est la méthode de référence qui doit être prise en considération (i.e: CMI par microdilution en bouillon). En Belgique, des plaques de

microdilutions Sensititre sont disponibles dans le commerce (Sensititre® GNX2F panels, Trek Diagnostic Systems, Cleveland, USA).

Ici encore, un assez grand nombre de laboratoires ont soit suspecté ou reconnu la présence d'une carbapénémase et ont suggéré à juste titre qu'ils enverraient une telle souche au laboratoire de référence pour confirmation du mécanisme de résistance.

Sur toute souche suspecte reçue, le centre national de référence réalise d'abord des tests phénotypiques (confirmation de l'identification bactérienne par MALDI-TOF MS, antibiogramme élargi (16 antibiotiques) par diffusion des disques en gélose, tests d'hydrolyse des carbapénèmes par le carba NP test). En fonction des résultats préliminaires, des tests complémentaires (amplification génique par PCR multiplexes) sont réalisés 2x par semaine (les mardis et jeudis). Les résultats positifs pour CPE sont communiqués par courrier électronique, et des protocoles papiers définitifs sont édités une fois par semaine (tous les vendredis). Le turn around time maximum de réponse du CNR des BLSE/Carbapénémase était de 10 jours et ne dépassait pas 7 jours dans plus de 90% des cas.

Afin d'accélérer le processus de réponse, il est instamment demandé aux laboratoires extérieures d'envoyer des cultures fraîches sur milieu gélosé plutôt qu'en tube profond (car dans ce cas, nécessité de procéder à un repiquage sur gélose qui diffère la réalisation des tests de 24 h).

Pr. Y. Glupczynski, Centre national de référence,
des bactéries à Gram-négatif multi-résistantes, CHU UCL Mont-Godinne

Table 1. Classification des carbapénémases acquises à médiation plasmidique et distribution dans les genres/espèces de bactéries à gram-négatif.

Classe moléculaire (Ambler)	Carbapénémases	Entérobactéries	Non-fermentants
A (non-métallo)	KPC IMI, NMC, SME	+++ +	+ -
B (métallo)	IMP, VIM NDM AIM, DIM, SIM, SPM, TMB	+++ +++ -	+++ ++ +
D (non-métallo)	OXA-48, -181 OXA-23, -40, -58, -143	+++ +/-	- +++

Table 2. Concentrations et diamètres critiques des carbapénèmes selon les recommandations de l'EUCAST (Version 3.0, 1/1/2013) et valeurs seuils de screening pour la détection d'Entérobactéries productrices de carbapénémase (CPE).

Carbapénèmes	CMI (mg/L)		Diffusion des disques en gélose (diamètre d'inhibition en mm)	
	Breakpoint S/I	Screening cut-off	Breakpoint S/I	Screening cut-off
Meropenem ¹	≤2	>0.125	≥22	<25 ²
Imipenem	≤2	>1	≥22	<23
Ertapenem ³	≤0.5	>0.125	≥25	<25

¹ Meilleur compromis entre sensibilité et spécificité.

² Dans l'expérience belge, un nombre substantiel d'isolats producteurs de carbapénémases OXA-48 ont une zone d'inhibition au méropénème supérieur au diamètre seuil de screening actuellement recommandé par l'EUCAST (Zone de 24-26 mm); En cas d'épidémie avérée à CPE producteur de carbapénémase OXA-48, il est recommandé d'utiliser un seuil de screening pour toute zone au méropénème <27 mm, bien que ceci puisse entraîner une diminution de la spécificité du test.

³ Sensibilité élevée mais spécificité faible (en particulier chez *Enterobacter* spp); l'utilisation de l'ertapénème seul (sans le méropénème) n'est pas recommandée; en cas d'épidémie avérée, l'utilisation de l'ertapénème en screening peut par contre s'avérer très intéressante grâce à sa sensibilité élevée de détection de CPE (en particulier OXA-48 et KPC).

Il est à noter que les galeries d'antibiogramme des systèmes automatisés contiennent des gammes de concentrations de carbapénèmes (ertapénème et méropénème) qui sont trop élevées (concentration la plus basse généralement = à 1 mg/L) ce qui n'autorise malheureusement pas leur usage pour le screening de CPE.

Table 3. Méthodes de détection phénotypique par synergie avec différents inhibiteurs de carbapénémases

β-lactamase	Synergie en présence de disques de meropenem (10-µg) combinés avec différents inhibiteurs			Temocilline (MIC >128 mg/L)
	DPA/EDTA	Ac. Boronique (APBA)	CLOX	
MBL	≥5	-	-	+
KPC	-	≥4	-	V
OXA-48-like¹	-	-	-	+
AmpC + porin loss	-	≥4	≥5	V
ESBL + porin loss	-	-	-	-

MBL=metallo-β-lactamase, KPC=*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, DPA= acide dipicolinique, EDTA=ethylenediaminetetraacetic acid, APBA= Acide aminophenyl boronique, CLOX= cloxacilline.

¹ Il est recommandé de tester la témocilline dans les cas où aucune synergie n'est détectée en présence d'inhibiteurs spécifiques, afin de différencier les souches BLSE plus perte de porines et les OXA-48.

2.2. Culture M/11726 *Propionibacterium acnes*

Bactériologie, culture et identification :

Propionibacterium acnes (PA) est une bactérie du genre *Propionibacterium*, un genre qui est caractérisé par la production d'acide propionique comme acide gras principal issu de la métabolisation du glucose (d'où le nom du genre).

PA est en principe un germe anaérobie, mais il est aérotoleant et dans la pratique il pousse presque aussi bien en atmosphère aérobie qu'en atmosphère anaérobie, comme on pouvait éventuellement le remarquer pour cet échantillon. Dans les cultures primaires le PA ne pousse souvent qu'après 5 à 8 jours, dans les sous-cultures les colonies poussent après 1 (très petites colonies) à 2 jours.

Microscopiquement le PA a la morphologie de bacilles diphtéroïdes (à Gram positif). En combinaison avec la croissance souvent en aérobiose, la constatation générale que les corynebactéries colonisent souvent la peau et les muqueuses, la connaissance qu'ils n'ont souvent pas d'intérêt clinique, il se peut bien que le PA soit considéré comme une corynebactérie et qu'il ne soit pas ou soit mal identifié.

Les colonies qui ont bien poussé, ont un aspect typique (voir photo), et l'identification peut être confirmée par les tests biochimiques classiques ou par les galeries ou panels classiques. Les caractéristiques les plus importantes sont Indole + catalase+, une combinaison unique pour ce groupe de bactéries à Gram positif. Comme c'est le cas pour beaucoup de bactéries, l'identification par spectrographie MaldiTof est concluante.

Ecologie :

PA est une bactérie humaine, qui est retrouvé en grand nombre sur la peau et sur les muqueuses. Des études récentes ont démontré que différentes populations peuvent être différenciées dans différentes zones (voir la figure 1). La densité peut être très élevée dans (une partie) des follicules pileux, où la bactérie est présente sous condition de biofilm. Les bactéries en biofilm ont d'autres caractéristiques physiologiques, biologiques, et probablement aussi pathogéniques, et ils ont certainement une autre sensibilité aux antibiotiques que lors qu'ils croissent en « phase planctonique » (en tubes).

Le PA est présent plus de cent fois plus que les staphylocoques à coagulase négative dans la peau. La bactérie joue probablement un rôle dans la résistance à la colonisation de la peau pour les autres bactéries.

Caractéristiques biologiques particulières des PA

Quand nous avons effectué la culture d'un PA d'une biopsie pulmonaire en 1994, nous avons voulu démontrer que la bactérie était bien présente dans le tissu et nous avons préparé un antisérum pour la coloration histochimique des coupes pulmonaires. Un lapin a été vacciné avec une suspension formolée de PA. Quand l'animal a été tué pour recueillir le sérum, un certain nombre de nodules étaient présents à l'endroit d'injection, qui avait un aspect macroscopique de tumeurs caséeuses et dont l'histologie ressemblait celle d'une tuberculose. Un détail important était (après 3 semaines) la présence de nombreux bacilles diphtéroïdes (qui n'étaient donc pas « digérés » en dépit de la phagocytose).

Il existe une littérature abondante concernant les caractéristiques immuno-modulatrices des PA. Il est bien connu que la bactérie cause des granulomes chez les cobayes, qu'elle puisse causer des modifications importantes dans les systèmes réticulo-endothéliaux, qu'elle puisse exister aussi bien morte que vivante dans les macrophages et les tissus (la résistance la plus importante est trouvée chez les bactéries en phase post-lag, ou chez les bactéries qui ont été traitées au chloramphénicol ou à la tétracycline). Elle a également été appelée anciennement *Corynebacterium parvum*, et elle a été et est encore utilisée comme thérapie adjuvante dans le traitement du cancer. Même si ça tombe en dehors de ce texte le PA est encore toujours considéré par certains comme agent potentiel de la sarcoïdose et du cancer de la prostate (même s'il est vrai que d'autres contestent ce point de vue). Des études importantes et significatives sont encore régulièrement publiées à ce sujet mais l'ultime preuve étiologique n'a pas encore été fournie.

Infections:

Acné: la contribution du PA à l'acné ne fait pas partie de ce résumé

Contamination: étant donné la localisation et la biologie de la bactérie il est compréhensible que le PA puisse être présent en petit nombre dans différents échantillons cliniques superficiels et profonds. La présence dans les hémocultures est dans la majorité des cas un indicateur de contamination.

Étant donné sa présence sur la peau et les muqueuses, *P. acnes* peut faire partie de la microflore qui est retrouvé dans différentes **infections mixtes aérobie-anaérobies**.

Infections de prothèses orthopédiques

PA est en effet reconnu comme un des principaux agents d'infection en cas d'arthroplastie de l'épaule, et également, mais en moindre degré, d'infections de prothèses du genou et de la hanche.

Le diagnostic **d'infections associées aux prothèses** est souvent très difficile, surtout en cas d'infection de faible degré où la douleur et la luxation de la prothèse sont souvent les seuls symptômes, et qui ne peuvent pas être distingués de la luxation survenant par usure, par la maladie de polyéthylène. Cliniquement il y a une très grande ressemblance et en plus les paramètres inflammatoires (vitesse de sédimentation, CRP...) sont souvent complètement normaux. Et la signification des bactéries cultivées n'est pas toujours automatiquement claire. Il n'existe pas de « golden standard » pour la définition des infections de prothèse de faible intensité.

Dans une étude des cultures positives ont été trouvés chez 58 % des patients qui ont subi une « clean orthopedic surgery » primaire. Dans plusieurs études des PA ont été retrouvés dans du matériel prélevé lors des révisions de prothèse; dans un grand nombre de cas aucun antibiotique n'a été administré sans que des infections se sont produites.

Vous pouvez retrouver des informations très importantes à ce sujet dans 2 articles du Clinical Microbiological Newsletter 2011 (voir la liste de références).

L'examen de nos échantillons de routine des 12 derniers mois, pour lesquels nous avons un intérêt particulier pour le PA (et où nous avons adapté nos techniques de cultures par une incubation prolongée pour certains types d'échantillons) a montré que nous avons trouvé ce germe avec une fréquence étonnante. Après la revue de la littérature et après que nous ayons trouvé la bactérie dans plusieurs cas, nous avons systématiquement incubé pendant plus longtemps, nous avons utilisé plus de milieux et les orthopédistes ont prélevé plus d'échantillons. Nous avons également détecté des infections pour d'autres prothèses.

Autres infections de corps étrangers

Nous avons également pu comparer nos expériences de la dernière année à la littérature :

- Présence dans les frottis des prothèses mammaires enlevés, sans signes d'infections, au moment de placer la prothèse définitive (la littérature montre que 50 % des prothèses mammaires enlevés sont colonisées par des bactéries, souvent de bactéries de la peau)
- Plusieurs infections des drains d'holter (les drains ont été enlevés suite à un dysfonctionnement ou à cause de la formation des nodules sur le trajet du cathéter), plusieurs infections de pacemaker
- Plusieurs infections (ou colonisations?) d'une ouverture de la boîte crânienne ou du matériel étranger utilisé en neurochirurgie (la littérature montre que les lambeaux de l'os du crâne sont très souvent contaminés par des bactéries de la peau)
- Présence de PA dans les échantillons de ponction ou lors d'opérations, prélevés du tissu cérébral, dans beaucoup de cas il n'existe aucun argument pour une infection
- Plusieurs infections de prothèses vasculaires
- Dans plusieurs autres échantillons préopératoires, cultures de fistules,....dont la signification est très discutable

Autres infections: le PA est également un agent rare d'endocardites, d'endophtalmites (après chirurgie)

Détection optimale de PA

- En tout cas il faut incuber suffisamment longtemps (14 jours semblent nécessaires, en cas d'incubation prolongée jusque 3 semaines on retrouve encore des cultures positives, dont l'intérêt clinique n'est pas clair).
- Ultrasons : étant donné qu'ils existent en biofilm on peut éventuellement détacher les bactéries par sonication. La sensibilité augmentera certainement, mais c'est cher, compliqué et certainement pas facile (appareil et réglage correct), et il existe un risque de contamination. En plus, en cas d'utilisation d'ultrasons il faut tenir compte d'un seuil: s'il y a une croissance de moins de 5 colonies, ceci doit être considéré comme non-significatif. Cet argument est une fois de plus une illustration du fait qu'une culture positive n'est pas automatiquement significative.
- La détection par PCR multiplex est également une possibilité d'améliorer la détection: dans une comparaison avec la culture après ultrasons, on a constaté des discordances dans les 2 directions: cette technique ne livre pas non plus des résultats parfaits
- Notre propre expérience à l'UZ Gent : nous avons découvert que le PA a une manière de croître spécifique dans le bouillon thioglycolate, et nous avons pu l'évaluer de façon approfondie. Le PA a une croissance très spécifique dans ce milieu sous forme de petites boules, qui n'apparaissent qu'après 4-6 jours, et dont le volume augmente (2-3 mm) sous incubation, sans se décomposer (si le milieu n'est pas secoué). L'avantage: milieu compact (la conservation des géloses dans une étuve pendant 2-3 semaines nécessite un grand volume), sans manipulation on peut facilement l'étudier pendant 7, 14 ou même 21 jours.
- Autres milieux: nous avons trouvé beaucoup plus de PA sur l'agar Schaedler incubée en anaérobie (21 jours) que sur bouillon Thioglycolate (21 jours); la croissance était encore moindre sur une gélose au sang de mouton incubée en aérobie (7 jours) (la raison n'en est pas vraiment claire: atmosphère anaérobie ?, milieu plus riche?, incubation plus longue?)

Des points qui sont également d'importance pour le médecin prescripteur :

- Il faut prélever suffisamment d'échantillons (dans des interventions orthopédiques on prélève souvent 4 à 6 échantillons), cultiver suffisamment de matériel (non uniquement des frottis, mais aussi des fragments de tissu), cultiver sur plusieurs milieux
- Une période sans antibiotiques avant de prélever le matériel pour culture par voie chirurgicale.
- Communication et interprétation: un rapport quantitatif, la communication avec le chirurgien, la comparaison avec les résultats histologiques. La connaissance de la problématique des infections de prothèse et le PA.

Sensibilité aux antibiotiques, traitement, prévention :

P. acnes est sensible aux pénicillines, à la clindamycine, au linézolide, à la vancomycine, à la tigécycline, à la co-trimoxazole, à la rifampicine aux quinolones et aux tétracyclines mais pas à la métronidazole. Dans les études où les bactéries des biofilms sont testées pour différents antibiotiques, les CMI sont multipliées par 100 fois et ces antibiotiques n'ont donc pas d'activité. Il y a des suggestions que le traitement de combinaison avec la rifampicine serait une meilleure option, mais le dernier mot n'est pas dit à ce sujet.

L'amoxicilline semble un antibiotique pratique et est probablement le premier choix en absence de corps étranger retiré. Il n'est pas clair si le *P. acnes* peut être éliminé d'un biofilm associé à une prothèse avec des antibiotiques, sans retrait répété du matériel étranger. Un traitement à long terme avec les antibiotiques, les « spacers » avec antibiotiques pour un remplacement temporaire de l'articulation sont utilisés couramment dans ces situations...

Ces constatations et le pratique, avec entre autres le manque de bons paramètres d'inflammation de suivi, montrent que le traitement des infections de prothèses n'est pas facile: pour certains un enlèvement temporaire ou définitive est possible (p.ex. pacemakers), pour d'autres, p.ex. des prothèses d'articulations, c'est beaucoup plus difficile.

La résistance à la désinfection: PA est tué moins facilement par la désinfection classique pré-opérative que les staphylocoques à coagulase négative. Ceci peut être dû à la localisation profonde, à la densité de population énorme, et à la phase de biofilm.

Conclusion :

PA a des caractéristiques biologiques uniques et un habitat unique dans le corps humain, qui explique pourquoi la bactérie peut être introduite dans le tissu pendant la chirurgie, et pourquoi dans certains cas (surtout en présence de corps étranger) elle n'est pas éliminée par les macrophages et même avec les antibiotiques. La présence dans des échantillons cliniques peut signifier aussi bien la contamination, la colonisation que l'infection. Les infections peuvent être asymptomatiques ou symptomatiques, elles sont souvent très chroniques, peuvent survenir plusieurs mois ou ans après l'opération. L'interprétation du PA dans un échantillon clinique est un exercice délicat d'équilibriste et la gestion des prothèses (surtout orthopédiques) où il y a oui ou non une infection claire est un vrai défi.

Références

(Une petite sélection d'un grand nombre de publications)

1. Bronchopneumonia caused by *Propionibacterium acnes*. G.Claeys, G.Verschraegen, C.De Potter, C.Cuvelier, R.Pauwels . Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 13,747-9, 1994
2. Eric Gomez and Robin Patel. Laboratory Diagnosis of Prosthetic Joint Infection, Part I. Clinical Microbiology Newsletter 2011: 33, 55-60.
3. Eric Gomez and Robin Patel. Laboratory Diagnosis of Prosthetic Joint Infection, Part II. Clinical Microbiology Newsletter 2011: 33,63 – 70.
4. Hyun Jung Park, Shin Na, Seong Yeon Park, Song Mi Moon, Oh-Hyun Cho, Ki-Ho Park, Yong Pil Chong, Sung-Han Kim, Sang-Oh Lee, Yang Soo Kim, Jun Hee Woo, Mi-Na Kim and Sang-Ho Choi. Clinical Significance of *Propionibacterium acnes* Recovered from Blood Cultures: Analysis of 524 Episodes. Journal of Clinical Microbiology, 2011,49, 1598-1601.
5. Butler-Wu S.M., E.M. Burns, P. S. Pottinger, A.S. Magaret, J.L. Rakeman, F. A. Matsen and B.T. Cookson. Optimization of Periprosthetic Culture for Diagnosis of *Propionibacterium acnes* Prosthetic Joint Infection. Journal of Clinical Microbiology,. 2011,49; 2490-2495.
6. Alexeyev O.A., A.C.Jahns. Sampling and detection of skin *Propionibacterium acnes* : current status. Minireview. Anaerobe 2012; 18, 479-83.
7. Kanafi Z.A., D.J sexton and E.L. Baron. Invasive Propionibacterium infections. <http://www.uptodate.com/contents/invasive-propionibacterium-infections> (2011)
8. Piper, K.E. et al.. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. J. Clin. Microbiol. 2009; 47,1878-1884.
9. Dodson C.E., E.V.Craig, F.A. Cordasco,D. M. Dines, J.S. Dines, M.E. DiCarlo, B.D. Brause, R.F. Warren. *Propionibacterium acnes* infection after shoulder arthroplasty: A diagnostic challenge J Shoulder Elbow Surg. 2010; 19, 303-307

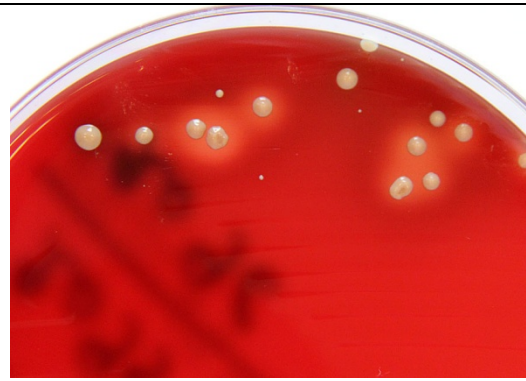
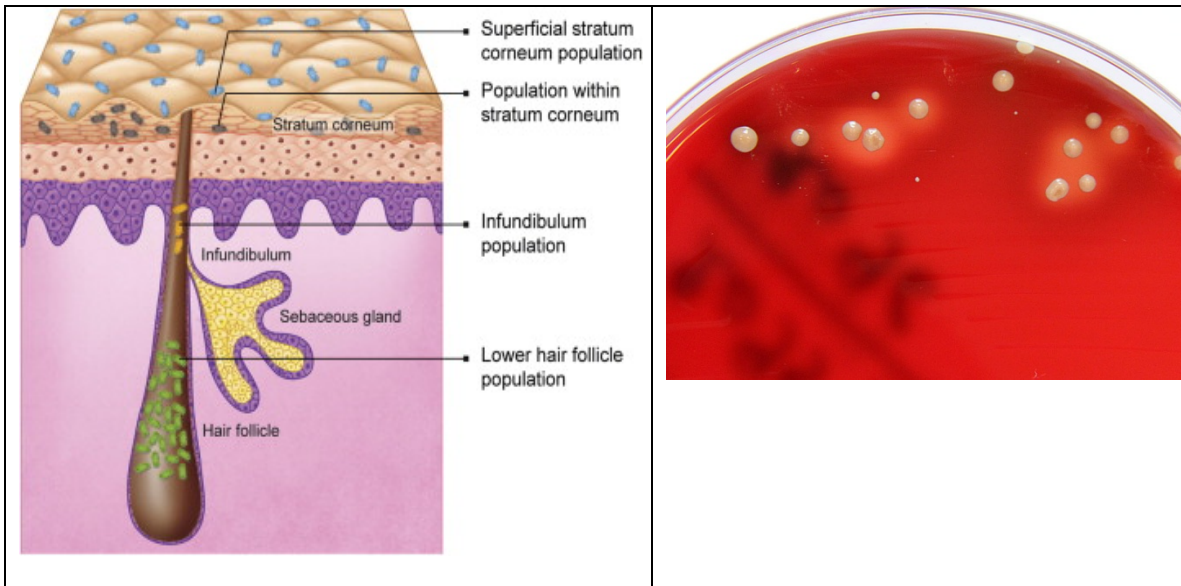
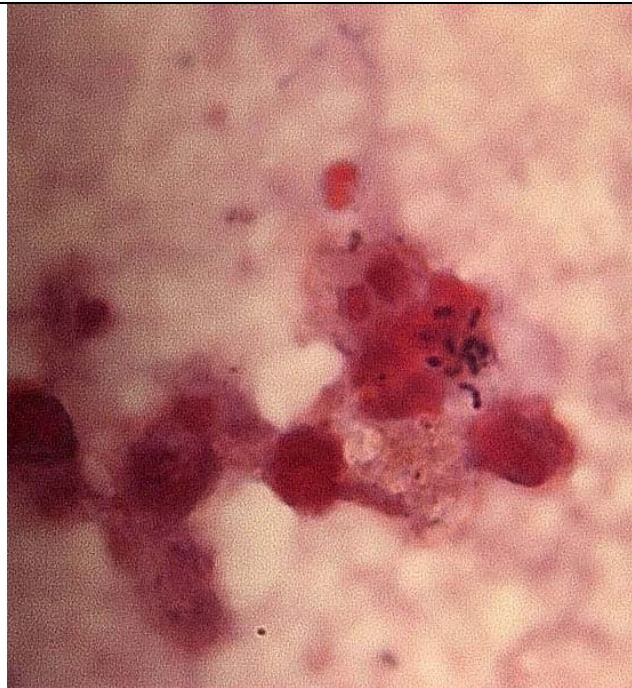


Figure 1. La distribution de *P. acnes* dans la peau. On peut distinguer 4 zones: la population la plus dense est trouvée dans le follicule pileux; celle-ci a en plus des caractéristiques de biofilm. Les différentes populations ont différentes caractéristiques biologiques (with permission from O.Alexeyev).

Figure 2. Aspect typique d'une colonie mature de *P. acnes* sur gélose au sang, en aérobie ou en anaérobie.



((à gauche) figure 3 : coloration de Gram d'un frottis d'un tissu infecté par *P. acnes* (collection de sang sousdurale après l'enlèvement d'une méningéome)

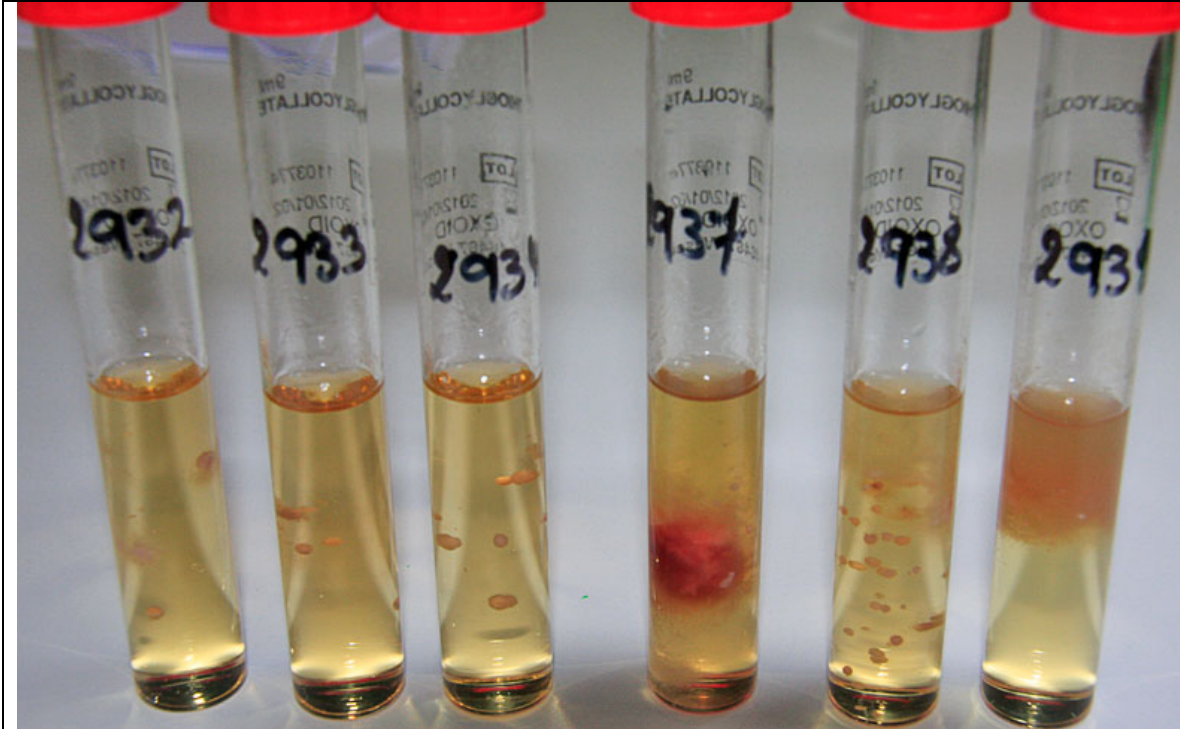
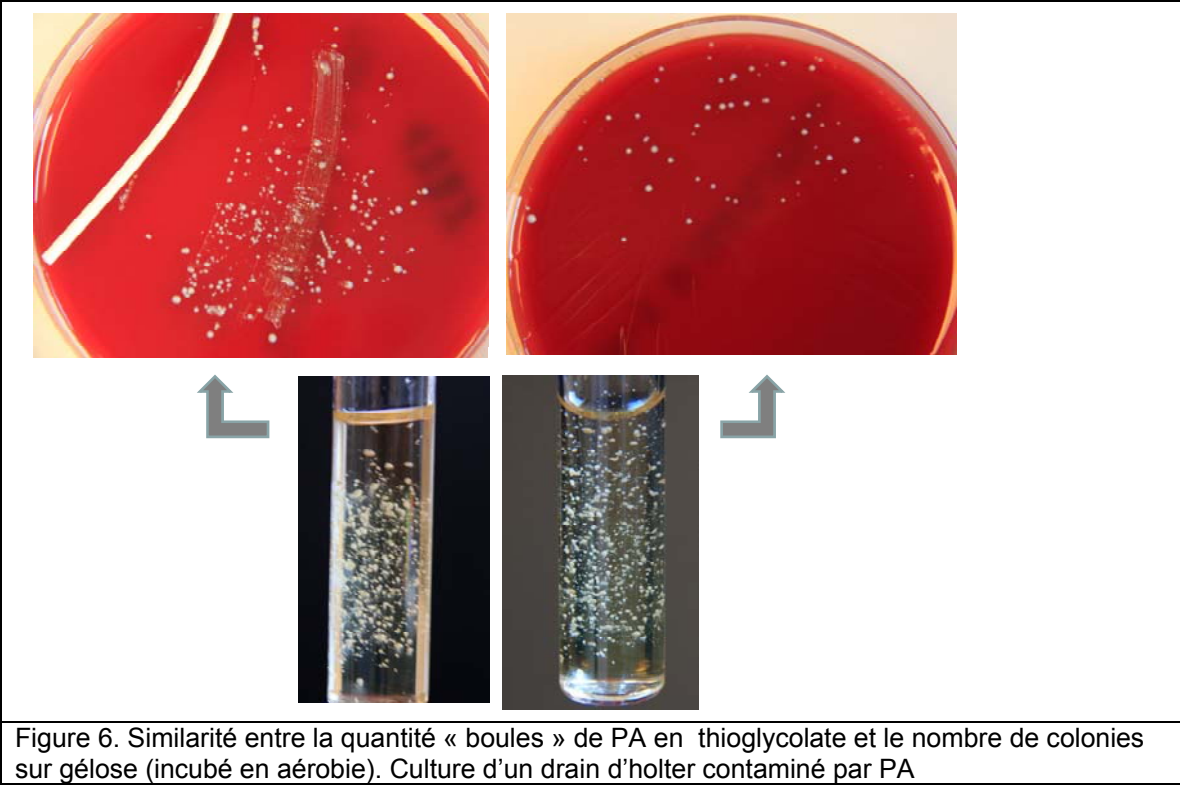


Figure 4. *P. acnes* dans un milieu de thioglycolate. 6 échantillons prélevés à l'occasion d'une révision de prothèse montrent différents nombres de colonies (« boules »). Les boules ne se forment qu'après 5-7 jours, et continuent à croître. Le milieu ne peut plus être secoué après inoculation.



Figure 5. Macrocolonies de *P. acnes* sur un matériel de biopsie dans un bouillon thioglycolate.



III. Résultats des identifications

165 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 163 laboratoires belges ou luxembourgeois et 2 laboratoires étrangers. Ces 2 derniers n'ont pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1 Culture M/11719 *Klebsiella pneumoniae* (frottis rectal)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Souche isolée à partir d'un frottis rectal de dépistage chez un homme de 43 ans transféré d'un hôpital en Crête. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	135	82.8%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i></u>	26	15.9%
<u><i>Klebsiella pneumoniae</i> complexe</u>	1	0.6%
Pas de réponse ¹	1	

¹ Il est à noter que pour les échantillons M/11719, M/11720 et M/11721 un ou plusieurs laboratoires ont laissé ouverte l'identification. Etant donné que ces laboratoires ont bien effectué l'AB et répondu aux questions s'y rapportant, nous supposons qu'il s'agit d'un oubli au moment de remplir les identifications (à cause de l'attention exceptionnelle attribuée à l'AB).

3.2 Culture M/11720 *Klebsiella pneumonia* (aspiration bronchique)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Souche isolée à partir d'une aspiration bronchique chez une patiente de 63 ans BPCO hospitalisée depuis 2 semaines pour un épisode d'exacerbation aigue. L'examen direct à la coloration de Gram montre 10-25 polynucléaires/champs, <10 cellules épithéliales et quelques images de bacilles Gram-négatifs. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	136	83.4%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i></u>	25	15.3%
<u><i>Klebsiella pneumoniae</i> complexe</u>	1	0.6%
Pas de réponse ¹	1	

¹ Il est à noter que pour les échantillons M/11719, M/11720 et M/11721 un ou plusieurs laboratoires ont laissé ouverte l'identification. Etant donné que ces laboratoires ont bien effectué l'AB et répondu aux questions s'y rapportant, nous supposons qu'il s'agit d'un oubli au moment de remplir les identifications (à cause de l'attention exceptionnelle attribuée à l'AB).

3.3 Culture M/11721 *Klebsiella pneumoniae* (urine)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Souche isolée à partir d'un prélèvement d'urine chez un patient de 58 ans suivi en hôpital de jour pour chimiothérapie d'un lymphome non hodgkinien. Le sédiment urinaire montre 10-20 GB/champs et de nombreux germes. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	133	81.6%
<u><i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i></u>	25	15.3%
<u><i>Klebsiella pneumoniae</i> complexe</u>	1	0.6%
<i>Raoultella terrigena</i>	1	
Pas de réponse ¹	3	

¹ Il est à noter que pour les échantillons M/11719, M/11720 et M/11721 un ou plusieurs laboratoires ont laissé ouverte l'identification. Etant donné que ces laboratoires ont bien effectué l'AB et répondu aux questions s'y rapportant, nous supposons qu'il s'agit d'un oubli au moment de remplir les identifications (à cause de l'attention exceptionnelle attribuée à l'AB).

3.4 Culture M/11726 *Propionibacterium acnes* (révision de prothèse d'épaule)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Echantillon d'une révision de prothèse d'épaule à cause de douleur chronique. Paramètres d'inflammation négatifs. Coloration de Gram du fragment de tissu: polynucléaires +++, pas de bactéries. Une identification jusqu'au niveau de l'espèce est souhaitée. »

<u><i>Propionibacterium acnes</i></u>	148	90.8%
<i>Propionibacterium avidum</i>	1	
<i>Propionibacterium granulosum</i>	1	
<u><i>Propionibacterium species</i></u>	4	
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	1	
<i>Corynebacterium propinquum</i>	1	
<i>Corynebacterium species</i>	1	
<i>Granulicatella elegans</i>	1	
<i>Streptococcus mitis/oralis</i> groupe	1	
Absence de pathogènes	1	
Pas de croissance	3	

Quelques laboratoires ont agrémenté leur réponse *Propionibacterium acnes* de la remarque que ce germe appartient à la flore cutanée commensale et qu'il faut évaluer sur base de la clinique et de l'évolution s'il doit être considéré comme contaminant ou agent causatif de l'identification.

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 du centre de référence.

Les 163 laboratoires qui ont participé à l'enquête, ont renvoyé des résultats pour les antibiogrammes.

4.1. M/11719 *Klebsiella pneumoniae*

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

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes ; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat le plus résistant dans le tableau 4.1.1, sauf si les laboratoires l'ont mentionné autrement.

Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque concernant cet échantillon (pour des raisons de facilité de lecture, les réponses semblables ont été groupées):

- 6 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une métallo- β -lactamase, type VIM (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 29 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une métallo- β -lactamase (MBL)/carbapénèmase classe B (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 27 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une carbapénèmase (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 1 labo a mentionné MBL+, BLSE -
- 1 labo a mentionné carbapénèmase +, BLSE -
- 2 labos ont mentionné MBL+, BLSE +
- 1 labo a mentionné BLSE -, MBL+, suspicion de KPC
- 4 labos ont mentionné carbapénèmase +, BLSE +
- 2 labos ont mentionné BLSE +
- 1 labo a mentionné: « Impossible de déterminer par tests phénotypiques si présence de β -lactamase à spectre élargi ou de phénotype céphalosporinase de haut niveau. Souches envoyées au laboratoire de référence pour détection par biologie moléculaire: 1) des carbapénèmases 2) BLSE »
- 1 labo a mentionné suspicion de KPC
- 1 labo a mentionné « genta S, tige I, coli R, azt R, Hodge test +, erta R »

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	163	-	-	163	-
Céfuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Pipéracilline-tazobactame	R	155	-	-	155	-
Méropénème	R	154	-	-	154 ³	-
Imipénème ⁴	R	5	-	-	5	-
Ertapénème ⁵	R	2	-	-	2	-
Lévofloxacine	R	92	-	-	91	1 ⁶
Ofloxacine ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacine	R	157	-	-	157	-
Amikacine	R	151	3	14	134	-
Gentamicine ⁸		3	3	-	-	-

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

² Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) pour la ceftazidime mais pas l'interprétation.

³ Un laboratoire a donné la réponse "R" mais a ajouté la remarque: "Carbapénémase +: la souche est envoyée au laboratoire de référence pour confirmation de la carbapénémase; le méropénème n'est normalement pas transmis au clinicien"

⁴ Cinq laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu de la meropénème.

⁵ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ertapénémé au lieu de la meropénème.

⁶ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥ 8 $\mu\text{g/mL}$) pour la lévofloxacine mais pas l'interprétation.

⁷ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.

⁸ Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

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 les appareils Osiris, Adagio ou Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans les tableaux 4.1.9., 4.1.10 et 4.1.11c.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

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 (18)	10	6	6 – 7	-	-	18
Amoxicilline-acide clavulanique	19 (20)	20+10	6	5 – 10	-	-	20
Céfuroxime	17 (17)	30	6	6 – 7	-	-	17
Ceftazidime	14 (22)	30	6	6 – 7	-	-	22
Pipéracilline-tazobactame	11 (17)	100 + 10	6	6 – 11	-	-	17
Méropénème	18 (20) ¹	10	6	6 – 9	-	-	20
Imipénème	2 (3) ²	10	9.5	6 – 13	-	-	3
Lévofloxacine	6 (7)	5	7	6 – 7	-	-	7
Ciprofloxacine	18 (19)	5	6	5 – 7	-	-	19
Amikacine	16 (17)	30	13	6 – 15	-	2	15

¹ En plus un laboratoire a répondu un diamètre ≤6 mm.

² En plus un laboratoire a répondu un diamètre de 0 mm.

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs (« old ») et avec les nouvelles charges (« new ») séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.1.3. a et b. Pour les charges classiques, les calculs de la médiane, le minimum et le maximum n'ont cependant pas été effectués étant donné le nombre limité de participants (N < 6). 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/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	3	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	4	-	-	4
Céfuroxime	4	-	-	4
Ceftazidime	4	-	-	4
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Méropénème	5	-	-	5
Imipénème	1	-	-	1
Lévofloxacine	1	-	-	1
Ofloxacine	1	-	-	1
Ciprofloxacine	3	-	-	3
Amikacine	5	1	1	3

Tableau 4.1.3.b. Résultats obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

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	10 (10)	10	9	9 – 10	-	-	10
Amoxicilline	- (1)	-	-	-	-	-	1
Amoxicilline-acide clavulanique	11 (12)	20 + 10	11	9 – 18	-	-	12
Céfuroxime	10 (10)	30	9	9 – 10	-	-	10
Ceftazidime	7 (11)	30	9	9 – 10	-	-	11
Pipéracilline-tazobactame	11 (12)	100 + 10	11	9 – 12	-	-	11
Méropénème	11 (12)	10	10	9 – 11	-	-	12
Lévofloxacine	4 (4)	5	9	9 – 10	-	-	4
Ciprofloxacine	9 (10)	5	10	9 – 10	-	-	10
Amikacine	8 (10)	30	12	9 – 13	-	1	9
Gentamicine	1 (1)	10	17	-	-	-	1

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

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	2 x R	2 x ≥256 mg/L
Amoxicilline-acide clavulanique	3	3 x R	64 mg/L; 2 x ≥256 mg/L
Céfuroxime	1	1 x R	≥256 mg/L
Ceftazidime	3	3 x R	3 x ≥256 mg/L
Pipéracilline-tazobactame	4	4 x R	4 x ≥256 mg/L
Méropénème	16	16 x R	16 x ≥32 mg/L
Imipénème	1	1 x R	>32 mg/L
Ciprofloxacine	3	3 x R	3 x ≥32 mg/L
Amikacine	3	3 x R	2 x 64 mg/L; 96 mg/L

Cinq laboratoires ont utilisé le test MICE pour déterminer la sensibilité au méropénème et ils ont tous obtenu le résultat « R » avec une valeur CMI ≥32 mg/L.

Cinq laboratoires ont utilisé le MIC test Strip pour déterminer la sensibilité au méropénème et ils ont tous obtenu le résultat « R » avec une valeur CMI ≥32 mg/L; deux laboratoires ont utilisé ce test pour déterminer la sensibilité à l'ertapénème et ils ont obtenu le résultat « R » avec une valeur CMI ≥32 mg/L.

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

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact					
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final				Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R	*		
Ampicilline	-	-	66	≥32	66 (66)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	66	≥32	66 (66)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Céfuroxime	-	-	66	≥64	66 (66)	-	-	32	-	≥64	31 (32)
Ceftazidime	-	-	66	≥64	66 (66)	-	-	31	1 ¹	≥64	31 (32)
Pipéracilline-tazobactame	-	-	65	≥128	64 (65)	-	-	29	-	≥128	28 (29)
Méropénème	-	-	60	≥16	59 (60)	-	-	28 ²	-	≥16	27 (28)
Lévofloxacine	-	-	36	≥8	36 (36)	-	-	21	1 ³	≥8	21 (22)
Ciprofloxacine	-	-	65	≥4	65 (65)	-	-	32	-	≥4	31 (32)
Amikacine	1	6	55	≥64	52 (62)	-	1	26	-	≥64	23 (27)
Gentamicine	1	-	1	2 et 4	1 et 1 (2)	1	-	-	-	≤1	1 (1)

¹ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥64 µg/mL) pour la ceftazidime mais pas l'interprétation.

² Un laboratoire a donné la réponse "R" mais a ajouté la remarque: "Carbapénèmase +: la souche est envoyée au laboratoire de référence pour confirmation de la carbapénèmase; le méropénème n'est normalement pas transmis au clinicien"

³ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥8 µg/mL) pour la lévofloxacine mais pas l'interprétation.

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

- pour la pipéracilline-tazobactame un laboratoire a mentionné une CMI >256 mg/L pour le Vitek 2
- pour la méropénème un laboratoire a mentionné une CMI >32 mg/L pour le Vitek 2
- pour l'amikacine 8 laboratoires ont mentionné une CMI de 32 mg/L pour le Vitek 2, un laboratoire une CMI de 16 mg/L et un laboratoire une CMI de 2 mg/L ; pour le Vitek 2 compact, 3 participants ont mentionné une CMI de 32 mg/L

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

Tableau 4.1.6 Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>		
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	-	-	2
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	2
Céfuroxime	-	-	2
Ceftazidime	-	-	2
Pipéracilline-tazobactame	-	-	2
Méropénème	-	-	2
Lévofloxacine	-	-	3
Ciprofloxacine	-	-	2
Amikacine	-	-	2

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

Tableau 4.1. 7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>			<i>Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)</i>	<i>Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Ampicilline	-	-	16	>8	16 (16)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	16	>8/2	16 (16)
Céfuroxime	-	-	16	>8	16 (16)
Ceftazidime	-	-	16	>8	16 (16)
Pipéracilline-tazobactame	-	-	16	>16/4	16 (16)
Méropénème	-	-	14	>8	13 (14)
Lévofloxacine	-	-	12	>2	12 (12)
Ciprofloxacine	-	-	16	>1	16 (16)
Amikacine	-	-	16	>16	16 (16)

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur de CMI. Pour le méropénème un laboratoire a mentionné une CMI >32 mg/L

Les résultats obtenus avec l'appareil Microscan sont repris dans le tableau 4.1.8.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Microscan pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>		
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	3
Céfuroxime	-	-	3
Ceftazidime	-	-	3
Pipéracilline-tazobactame	-	-	3
Méropénème	-	-	2
Lévofoxacine	-	-	2
Ciprofloxacine	-	-	3
Amikacine	-	1	2

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris, Adagio et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.9., 4.1.10. et 4.1.11 a, b et c.

Etant donné le nombre limité de participants (N < 6), les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés pour la plupart de ces méthodes.

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Nombre d'utilisateurs</i>	<i>Résultat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	3	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	3	-	-	3
Céfuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	3	-	-	3
Pipéracilline-tazobactame	3	-	-	3
Méropénème	2	-	-	2
Lévofoxacine	3	-	-	3
Amikacine	2	-	-	2
Ampicilline	3	-	-	3

Tableau 4.1.10. Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline-acide clavulanique	5	-	-	5
Céfuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Pipéracilline-tazobactame	5	-	-	5
Méropénème	5	-	-	5
Lévofloxacine	3	-	-	3
Ciprofloxacine	3	-	-	3
Amikacine	5	-	1	4

Tableau 4.1.11.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline-acide clavulanique	2	-	-	2
Céfuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Méropénème	3	-	-	3
Ertapénème	2	-	-	2
Lévofloxacine	2	-	-	2
Amikacine	2	2	-	-

Tableau 4.1.11. b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline-acide clavulanique	5	-	-	5
Céfuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Pipéracilline-tazobactame	5	-	-	5
Méropénème	4	-	-	4
Lévofloxacine	1	-	-	1
Ciprofloxacine	4	-	-	4
Amikacine	5	-	2	3

Tableau 4.1.11. c. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	7 (8)	10	6	6 – 6	-	-	8
Amoxicilline-acide clavulanique	7 (8)	20+10	6	6 – 6	-	-	8
Céfuroxime	7 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Ceftazidime	4 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Pipéracilline-tazobactame	4 (8)	100 + 10	6	6 – 6	-	-	8
Méropénème	7 (7)	10	6	6 – 6	-	-	7
Lévofloxacine	3 (3)	5	7	6 – 6	-	-	3
Ciprofloxacine	7 (8)	5	6	6 – 6	-	-	8
Amikacine	7 (8)	30	12	9 – 14	-	1	7

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'amoxicilline-acide clavulanique:
 - o I→R
 - Neosensitabs charges nouvelles: 1 labo
- L'amikacine:
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo
 - o I→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - Sirscan disques en papier: 1 labo

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

Quinze laboratoires ont laissé ouverte la réponse à la question; probablement qu'un certain nombre d'entre eux ont voulu indiquer de cette façon qu'ils ne proposaient aucun autre antibiotique à tester.

Quinze (autres) laboratoires ont mentionné explicitement qu'ils ne proposeraient aucun autre antibiotique à tester; certains d'entre eux ont donné la remarque qu'il s'agissait d'un échantillon de dépistage et donc pas d'une vraie infection.

Un certain nombre de laboratoires qui ont proposé des AB, ont également mentionné qu'un traitement n'est pas indiqué/nécessaire étant donné qu'il ne s'agit pas d'une infection mais d'un porteur.

Quelques laboratoires ont mentionné qu'il faut effectuer un test de Hodge.

Tableau 4.1.12. Antibiotiques supplémentaires, suggérés par les laboratoires de tester pour l'échantillon M/11719 (*Klebsiella pneumoniae*).

	Antibiotique proposé	N labos
1 AB	Tigécycline	8
	Colistine	6
	Méropénème ¹	2
	Aztréoname	1
	Ertapénème	1
	Gentamicine	1
2 AB	Colistine – Tigécycline	44
	Aztréoname – Tigécycline	4
	Aztréoname – Colistine	2
	Gentamicine – Tétracyclines	2
	Polymyxines – Tigécycline	2
	Autre aminoside – synergie vancomycine/céphalosporines	1
	Céphalosporines 3 ^e /4 ^e génération – Sulfamides	1
	Colistine – Moxifloxacine	1
	Colistine – Polymyxine	1
	Gentamicine – Tigécycline	1
	Tigécycline - Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
3 AB	Aztréoname – Colistine – Tigécycline	13
	Colistine – Fosfomycine – Tigécycline	4
	Aztréoname – Gentamicine – Tigécycline	2
	Colistine – Témocilline – Tigécycline	2
	Aztréoname – Colistine – Polymyxine B	1
	Colistine – Ertapénème – Témocilline	1
	Colistine – Gentamicine – Tigécycline	1
	Colistine – Gentamicine – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
	Colistine – Rifampicine – Tigécycline	1
	Colistine – Thiamfénicol – Tigécycline	1
	Colistine – Tigécycline – Tobramycine	1
	Colistine – Tigécycline – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
4 AB	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Tigécycline	8
	Aztréoname – Colistine – Témocilline – Tigécycline	4
	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Témocilline	1
	Aztréoname – Doxycycline – Gentamicine – Tigécycline	1
	Aztréoname – Ertapénème – Gentamicine – Tigécycline	1
	Colistine – Fosfomycine – Gentamicine – Tigécycline	1
	Fosfomycine – Polymyxines – Témocilline – Tigécycline	1
	Colistine – Tigécycline – (éventuellement Chloramfénicol – Fosfomycine)	1
5 AB	Aztréoname – Colistine – Fosfomycine – Gentamicine - Tigécycline	3
	Aztréoname – Colistine – Fosfomycine – Rifampicine - Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Témocilline – Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Tigécycline - Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
	Aztréoname – Colistine – Témocilline – Tigécycline - Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1

¹ Un laboratoire qui a testé le méropénème avec les disques et le Vitek 2 (résultat « R » avec ces 2 techniques) a mentionné qu'il s'agit d'une confirmation avec l'E-test.

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné avoir testé (certains de) ces antibiotiques:

- Colistine: 8 labos: 8 x R
- Tigécycline: 6 labos: 3 x S, 3 x I
- Aztréoname: 2 labos: 2 x S
- Ertapénème: 2 labos: 2 x R
- Gentamicine: 2 labos: 2 x S
- Témocilline: 1 labo: R
- Triméthoprime/Sulfaméthoxazole: 1 labo: R

156 laboratoires enverraient en routine cette souche à un laboratoire de référence pour analyse et confirmation des mécanismes de résistance.

4.2. Culture M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*)

Les laboratoires n'ont pas tous déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques. Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat le plus résistant dans le tableau 4.2.2.

Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque concernant cet échantillon (pour des raisons de facilité de lecture, les réponses semblables ont été groupées):

- 35 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une KPC/ carbapénèmase classe A (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 27 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une carbapénèmase (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 1 labo a mentionné KPC+, BLSE +
- 4 labos ont mentionné carbapénèmase +, BLSE -
- 1 labo a mentionné BLSE -, MBL-, suspicion de KPC
- 2 labos ont mentionné BLSE +
- 1 labo a mentionné MBL -, BLSE -
- 1 labo a mentionné MBL -
- 1 labo a mentionné: « Impossible de déterminer par tests phénotypiques si présence de β -lactamase à spectre élargi ou de phénotype céphalosporinase de haut niveau. Souches envoyées au laboratoire de référence pour détection par biologie moléculaire: 1) des carbapénèmases 2) BLSE »
- 1 labo a mentionné « genta S, tige R, coli S, azt R, Hodge test +, erta R (tige et coli ne sont pas conseillés en cas d'infections respiratoires) »

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	163	-	-	163	-
Céfuroxime	R	160	-	-	160	-
Ceftazidime	R	162	-	-	161	1 ²
Pipéracilline-tazobactame	R	154	-	-	154	-
Méropénème	R	155	-	-	155 ³	-
Imipénème ⁴	R	4	-	-	4	-
Ertapénème ⁵	R	2	-	-	2	-
Lévofloxacine	R	93	-	-	92	1 ⁶
Ofloxacine ⁷	R	1	-	-	1	-
Ciprofloxacine	R	156	-	-	156	-
Amikacine	R	151	2	6	143	-
Gentamicine ⁸	R	4	4	-	-	-

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

² Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) pour la ceftazidime mais pas l'interprétation.

- ³ Un laboratoire a donné la réponse "R" mais a ajouté la remarque: « Carbapénèmase +: la souche est envoyée au laboratoire de référence pour confirmation de la carbapénèmase; le méropénème n'est normalement pas transmis au clinicien »
- ⁴ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu de la méropénème.
- ⁵ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ertapénémé au lieu de la méropénème.
- ⁶ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥ 8 $\mu\text{g/mL}$) pour la lévofloxacine mais pas l'interprétation.
- ⁷ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.
- ⁸ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.11. 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 les appareils Osiris, Adagio ou Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans les tableaux 4.2.9., 4.2.10 et 4.2.11c.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	15 (17)	10	6	6 – 7	-	-	17
Amoxicilline-acide clavulanique	18 (19)	20+10	6	5 – 7	-	-	19
Céfuroxime	16 (16)	30	6	6 – 7	-	-	16
Ceftazidime	14 (21)	30	6	6 – 6	-	-	21
Pipéracilline-tazobactame	10 (15)	100 + 10	6	6 – 7	-	-	15
Méropénème	17 (20) ¹	10	6	6 -10	-	-	20
Imipénème	1 (2)	10	15	-	-	-	2
Lévofloxacine	6 (7)	5	7	6 – 8	-	-	7
Ciprofloxacine	16 (17)	5	6	5 – 7	-	-	17
Amikacine	15 (16)	30	13	10 – 20	1	1	14

¹ En plus un laboratoire a répondu un diamètre ≤ 6 mm et un laboratoire « 15 + 6 ».

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs (“old”) et avec les nouvelles charges (“new”) séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.2.3. a et b. Pour les charges classiques, les calculs de la médiane, le minimum et le maximum n’ont cependant pas été effectués étant donné le nombre limité de participants (N < 6). Les résultats des laboratoires ayant utilisé l’appareil Sirscan pour l’interprétation des diamètres de ces disques sont repris dans les tableaux 4.2.11 a et b.

Tableau 4.2.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge Neosensitabs) pour l’échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline-acide clavulanique	3	-	-	3
Céfuroxime	3	-	-	3
Ceftazidime	3	-	-	3
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Méropénème	4	-	-	4
Imipénème	1	-	-	1
Lévofoxacine	1	-	-	1
Ofloxacine	1	-	-	1
Ciprofloxacine	2	-	-	2
Amikacine	4	-	-	4

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge nouvelles) pour l’échantillon M/11681 (*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	10 (10)	10	9	9 – 10	-	-	10
Amoxicilline	- (1)	-	-	-	-	-	1
Amoxicilline-acide clavulanique	11 (12)	20 + 10	11	9 – 18	-	-	12
Céfuroxime	10 (10)	30	9	9 – 10	-	-	10
Ceftazidime	7 (11)	30	9	9 – 10	-	-	11
Pipéracilline-tazobactame	7 (11)	100 + 10	9	9 – 10	-	-	11
Méropénème	12 (13)	10	10	9 – 11	-	-	13
Lévofoxacine	4 (4)	5	9	9 – 10	-	-	4
Ciprofloxacine	9 (10)	5	10	9 – 10	-	-	10
Amikacine	9 (10)	30	12	9 – 13	-	1	9
Gentamicine	1 (1)	10	18	-	-	-	1

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

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Amoxicilline-acide clavulanique	3	3 x R	3 x ≥ 256 mg/L
Céfuroxime	1	1 x R	≥ 256 mg/L
Ceftazidime	3	3 x R	3 x ≥ 256 mg/L
Pipéracilline-tazobactame	6	6 x R	6 x ≥ 256 mg/L
Méropénème	18	18 x R	18 x ≥ 32 mg/L
Imipénème	1	1 x R	> 32 mg/L
Ciprofloxacine	3	3 x R	3 x ≥ 32 mg/L
Amikacine	2	1 x R 1 x S	64 mg/L 2 mg/L

Cinq laboratoires ont utilisé le test MICE pour déterminer la sensibilité au méropénème et ils ont tous obtenu le résultat « R » avec une valeur CMI ≥ 32 mg/L.

Six laboratoires ont utilisé le MIC test Strip pour déterminer la sensibilité au méropénème et ils ont tous obtenu le résultat « R » avec une valeur CMI ≥ 32 mg/L; deux laboratoires ont utilisé ce test pour déterminer la sensibilité à l'ertapénème et ils ont obtenu le résultat « R » avec une valeur CMI ≥ 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/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact					
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final				Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R	*		
Ampicilline	-	-	67	≥32	67 (67)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	67	≥32	67 (67)	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Céfuroxime	-	-	67	≥64	67 (67)	-	-	32	-	≥64	31 (32)
Ceftazidime	-	-	67	≥64	67 (67)	-	-	31	1 ¹	≥64	31 (32)
Pipéracilline-tazobactame	-	-	64	≥128	64 (64)	-	-	29	-	≥128	28 (29)
Méropénème	-	-	60	≥16	60 (60)	-	-	28 ²	-	≥16	27 (28)
Lévofloxacine	-	-	37	≥8	37 (37)	-	-	21	1 ³	≥8	21 (22)
Ciprofloxacine	-	-	66	≥4	66 (66)	-	-	32	-	≥4	31 (32)
Amikacine	2	-	60	≥64	60 (62)	-	-	28	-	≥64	27 (28)
Gentamicine	2	-	-	≤1 et 4	1 et 1 (2)	1	-	-	-	2	1 (1)

¹ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥64 µg/mL) pour la ceftazidime mais pas l'interprétation.

² Un laboratoire a donné la réponse "R" mais a ajouté la remarque: "Carbapénèmase +: la souche est envoyée au laboratoire de référence pour confirmation de la carbapénèmase; le méropénème n'est normalement pas transmis au clinicien"

³ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 compact (≥8 µg/mL) pour la lévofloxacine mais pas l'interprétation.

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

- pour l'amikacine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤1 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤2 mg/L

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/11720 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>		
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	-	-	2
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	2
Céfuroxime	-	-	2
Ceftazidime	-	-	2
Pipéracilline-tazobactame	-	-	2
Méropénème	-	-	2
Lévofoxacine	-	-	3
Ciprofloxacine	-	-	2
Amikacine	-	-	2

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/11720 (*Klebsiella pneumoniae*)

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>			<i>Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)</i>	<i>Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Ampicilline	-	-	16	>8	16 (16)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	16	>8/2	16 (16)
Céfuroxime	-	-	16	>8	16 (16)
Ceftazidime	-	-	16	>8	16 (16)
Pipéracilline-tazobactame	-	-	16	>16/4	16 (16)
Méropénème	-	-	14	>8	13 (14)
Lévofoxacine	-	-	12	>2	12 (12)
Ciprofloxacine	-	-	16	>1	16 (16)
Amikacine	-	-	16	>16	16 (16)

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur de CMI. Pour le méropénème un laboratoire a mentionné une CMI de 32 mg/L

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

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Microscan pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	3
Céfuroxime	-	-	3
Ceftazidime	-	-	3
Pipéracilline-tazobactame	-	-	3
Méropénème	-	-	2
Lévofloxacine	-	-	2
Ciprofloxacine	-	-	3
Amikacine	-	-	3

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris, Adagio et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.2.9., 4.2.10. et 4.2.11 a, b et c.

Etant donné le nombre limité de participants (N < 6) pour la plupart de ces méthodes pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	3	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	3	-	-	3
Céfuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	3	-	-	3
Pipéracilline-tazobactame	3	-	-	3
Méropénème	2	-	-	2
Lévofloxacine	3	-	-	3
Amikacine	2	-	-	2

Tableau 4.2. 10. Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline- acide clavulanique	5	-	-	5
Céfuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Pipéracilline- tazobactame	5	-	-	5
Méropénème	5	-	-	5
Lévofoxacine	3	-	-	3
Ciprofloxacine	3	-	-	3
Amikacine	5	-	1	4

Tableau 4.2. 11.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques) pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline- acide clavulanique	2	-	-	2
Céfuroxime	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Pipéracilline- tazobactame	2	-	-	2
Méropénème	3	-	-	3
Ertapénème	2	-	-	2
Lévofoxacine	2	-	-	2
Amikacine	2	-	2	-

Tableau 4.2. 11.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (nouvelles charges) pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Nombre d'utilisateurs</i>	<i>Résultat</i>		
		<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	5	-	-	5
Amoxicilline- acide clavulanique	5	-	-	5
Céfuroxime	5	-	-	5
Ceftazidime	5	-	-	5
Pipéracilline- tazobactame	5	-	-	5
Méropénème	4	-	-	4
Lévofoxacine	1	-	-	1
Ciprofloxacine	4	-	-	4
Amikacine	5	-	1	4

Tableau 4.2. 11.c. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Nombre d'utilisateurs</i>	<i>Charge (µg/disque)</i>	<i>Diamètre médian</i>	<i>Valeurs extrêmes</i>	<i>Résultat</i>		
					<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	7 (8)	10	6	6 – 6	-	-	8
Amoxicilline- acide clavulanique	7 (8)	20+10	6	6 – 6	-	-	8
Céfuroxime	7 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Ceftazidime	4 (8)	30	6	6 – 6	-	-	8
Pipéracilline- tazobactame	4 (8)	100 + 10	6	6 – 6	-	-	8
Méropénème	7 (7)	10	6	6 – 12	-	-	7
Lévofoxacine	3 (3)	5	7	6 – 6	-	-	3
Ciprofloxacine	7 (8)	5	6	6 – 6	-	-	8
Amikacine	7 (8)	30	13	11 – 14	-	1	7

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

Onze laboratoires ont laissé ouverte la réponse à la question; probablement qu'un certain nombre d'entre eux ont voulu indiquer de cette façon qu'ils ne proposaient aucun autre antibiotique à tester.

Un laboratoire a mentionné explicitement qu'il ne proposerait aucun autre antibiotique à tester.

Quelques laboratoires ont mentionné qu'il faut effectuer un test de Hodge.

Tableau 4. 2.12. Antibiotiques supplémentaires, suggérés par les laboratoires de tester pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique proposé	N labos
1 AB	
Colistine	13
Tigécycline	4
Méropénème ¹	2
Aztréoname	1
Ertapénème	1
Gentamicine	1
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
Synergie vancomycine/Céphalosporines	1
2 AB	
Colistine – Tigécycline	48
Tigécycline – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	3
Aztréoname – Colistine	2
Colistine – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	2
Gentamicine – Tigécycline	2
Colistine – Céfépime	1
Colistine – Gentamicine	1
Colistine – Moxifloxacine	1
Colistine – Polymyxine	1
Gentamicine – Tétracyclines	1
Polymyxines – Tigécycline	1
3 AB	
Aztréoname – Colistine – Tigécycline	14
Colistine – Gentamicine – Tigécycline	7
Colistine – Fosfomycine – Tigécycline	4
Colistine – Témocilline – Tigécycline	3
Colistine – Gentamicine – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	2
Colistine – Rifampicine - Tigécycline	2
Aztréoname – Colistine – Gentamicine	1
Aztréoname – Colistine – Polymyxine B	1
Aztréoname – Colistine – Témocilline	1
Aztréoname – Gentamicine – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
Chloramfenicol - Céphalosporines 3 ^e /4 ^e génération – Sulfamides	1
Colistine – Ertapénème – Témocilline	1
Colistine – Thiamfenicol – Tigécycline	1
Colistine – Tigécycline – Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
Gentamicine – Tigécycline - Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	1
4 AB	

	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Tigécycline	4
	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Témocilline	2
	Aztréoname – Colistine – Tigécycline - Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	2
	Aztréoname – Colistine – Témocilline – Tigécycline	1
	Aztréoname – Doxycycline - Gentamicine – Tigécycline	1
	Colistine – Ertapénème - Gentamicine – Tigécycline	1
	Colistine – Fosfomycine - Gentamicine – Tigécycline	1
	Colistine – Gentamicine - Tigécycline - Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	1
	Colistine – Tigécycline – (éventuellement Chloramfenicol – Fosfomycine)	1
	Fosfomycine – Polymyxines – Témocilline – Tigécycline	1
5 AB	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Tigécycline - Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	2
	Aztréoname – Colistine - Fosfomycine - Gentamicine – Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine - Fosfomycine - Rifampicine – Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Gentamicine – Témocilline – Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Témocilline – Tigécycline - Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	1
6 AB	Aztréoname – Colistine - Fosfomycine – Gentamicine – Tigécycline - Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	1

¹ Un laboratoire qui a testé le méropénème avec les disques et le Vitek 2 (résultat « R » avec ces 2 techniques) a mentionné qu'il s'agit d'une confirmation avec l'E-test.

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné avoir testé (certains de) ces antibiotiques:

- Colistine: 10 labos: 10 x S
- Tigécycline: 6 labos: 1 x S, 3 x I, 2 x R
- Gentamicine: 3 labos: 3 x S
- Aztréoname: 2 labos: 2 x R
- Ertapénème: 2 labos: 2 x R
- Témocilline: 1 labo: R
- Triméthoprime/Sulfaméthoxazole: 1 labo: S

157 laboratoires enverraient en routine cette souche à un laboratoire de référence pour analyse et confirmation des mécanismes de résistance.

4.3. Culture M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*)

Les laboratoires n'ont pas tous déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques. Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat le plus résistant dans le tableau 4.3.1.

Un certain nombre de laboratoires ont fourni une remarque concernant cet échantillon (pour des raisons de facilité de lecture, les réponses semblables ont été groupées):

- 24 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une carbapénèmase, type OXA-48 (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 8 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une carbapénèmase de classe B/ carbapénèmase type OXA (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 34 labos ont mentionné la présence/suspicion d'une carbapénèmase (quelques laboratoires ont mentionné les tests qu'ils ont effectués)
- 1 labo a mentionné OXA-48 ou BLSE
- 1 labo a mentionné BLSE et possibilité de carbapénèmase
- 1 labo a mentionné OXA-48+, BLSE -
- 1 labo a mentionné possibilité de carbapénèmase +, BLSE -
- 1 labo a mentionné BLSE -, MBL+, suspicion de KPC
- 1 labo a mentionné MBL-, carbapénèmase possible
- 1 labo a mentionné « Nous avons noté une diminution de la sensibilité au méropénème (CMI = 1). Mécanisme probable ; pénicillinase résistante aux inhibiteurs (PRI) »
- 2 labos ont mentionné MBL -
- 1 labo a mentionné BLSE -
- 1 labo a mentionné résistance constitutive, céphalosporinase C1, C2
- 1 labo a mentionné "genta S, tige I, coli S, azt S, Hodge test +, erta R"
- 1 labo a mentionné: « Nous ne testons jamais en routine tous les antibiotiques demandés mais si ampicilline, céphalotine, SXT et norfloxacine = R nous faisons une recherche de BLSE + un antibiogramme avec témocilline, gentamicine, imipénème et céfoxitine (surtout pour les personnes âgées ou des résidents de maisons de repos) »

Tableau 4.3.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	S/I	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	161	-	-	-	-	161	-
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	163	-	-	-	-	163	-
Céfuroxime	S	160	123 ²	1 ³	12	-	17	7 ⁴
Ceftazidime	S	160	143 ⁵	-	4	-	8	5 ⁶
Céfotaxime ⁷		1	-	-	-	-	-	1 ⁷
Méropénème	S	151	69 ⁸	-	32 ⁹	1	37 ¹⁰	12 ¹¹
Imipénème ¹²		4	3	-	1	-	-	-
Ertapénème ¹³		3	-	-	-	-	3	-
Lévofoxacine	R	74	1	-	20	-	53	-
Ofloxacin ¹⁴		1	-	-	1	-	-	-
Ciprofloxacine	R	154	-	-	23	-	131	-
Norfloxacine ¹⁵		2	-	-	-	-	2	-
Co-trimoxazole	R	160	-	-	-	-	160	-
Nitrofurantoïne	R	143	1	-	3	-	139	-
Gentamicine	S	150	146	-	2	-	2	-
Amikacine ¹⁶		4	4	-	-	-	-	-

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

² Deux laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S » :

- Suspicion de carbapénémase: si confirmé: céfuroxime et ceftazidime R
- OXA 48? Pas d'interprétation proposée (EUCAST ou CLSI 2012) pour les céphalosporines. A signaler au clinicien la présence possible (à confirmer) d'une carbapénémase et la CMI limite S du céfuroxime.

³ Un laboratoire a mentionné « S en cas d'administration IV et I cas d'administration PO »

⁴ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Phoenix (8 mg/l) mais pas l'interprétation.

Six autres laboratoires ont donné une remarque:

- deux laboratoires attendraient le résultat du centre de référence
- contacter le microbiologiste pour discussion (ne peut pas être exprimé en S, I, R)
- test de Hodge positif; témocilline R classe D? OXA-48?; cet AB n'est pas rapporté mais on contacte le médecin prescripteur
- test de Hodge & envoi pour exclusion de CPE (sensibilité au méropénème diminuée et témocilline R). Le résultat dépend de CPE
- CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénémase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence. » Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires.

⁵ Cinq laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S » :

- deux laboratoires: « si la CPE est confirmée, il n'est pas conseillé d'utiliser la ceftazidime s'il y a également une présence de BLSE ou amp C »
- Suspicion de carbapénémase: si confirmé: céfuroxime et ceftazidime R
- OXA 48? Pas d'interprétation proposée (EUCAST ou CLSI 2012) pour les céphalosporines. A signaler au clinicien la présence possible (à confirmer) d'une carbapénémase et la CMI limite S du céfuroxime.
- Suspicion de carbapénémase type OXA 48. Les résultats expertisés de ceftazidime et du méropénème dépendent de la confirmation de la présence d'une carbapénémase de type OXA-48. Si absence:→ceftazidime et méropénème sensibles. Si présence:→ceftazidime et méropénème intermédiaire sensibles. Remarque : absence de guidelines CLSI pour l'interprétation des résultats des céphalosporines (et des carbapénèmes) en cas de présence d'une carbapénémase de type OXA 48.

⁶ Cinq laboratoires ont donné une remarque:

- Carbapénémase?: souche envoyée au laboratoire de référence pour détermination des carbapénèmes →suspicion CMI méropénème ≥1; le méropénème n'est normalement pas répondu au généraliste: dans ce cas-ci nous l'avons repris à cause de la carbapénémase. La ceftazidime non plus (nous avons mentionné les CMI pour les statistiques)
- contacter le microbiologiste pour discussion (ne peut pas être exprimé en S, I, R)

- test de Hodge positif; témocilline R classe D? OXA-48?; cet AB n'est pas rapporté mais on contacte le médecin prescripteur
 - test de Hodge & envoi pour exclusion de CPE (sensibilité au méropénème diminuée et témocilline R). Le résultat dépend de CPE
 - CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénèmase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence. » Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires.
- 7 Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la céfotaxime au lieu de la ceftazidime et attendrait le résultat du centre de référence.
- 8 Quatre laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S »:
- CPE classe D; CLSI 2009: méropénème 4 µg/mL:→S; CLSI 2012: méropénème 4 µg/mL:→R
 - Vitek AES: suspicion de carbapénèmase: →diffusion sur disque: ertapénème: ø19; Méropénème: ø22: →souche à envoyer au labo de référence
 - CPE classe D; méropénème CMI = 4 µg/mL: CLSI 2009 = S; CLSI 2012 = R; le software de notre vitek utilise encore le CLSI 2009
 - Ne sera pas répondu: le résultat dépend du centre de référence. Conseil d'EUCAST: toutes les souches avec une CMI pour méropénème ≥1 mg/L et un zone ø ≤23 mm. sont envoyées pour exclure une carbapénèmase
- 9 Un laboratoire a ajouté une remarque à sa réponse « I »: « La PCR pour OXA-48 était positive: nous ajoutons une remarque pour le méropénème au rapport: Cette souche produit une carbapénèmase ce qui a été confirmée par techniques moléculaires. On ne peut considérer un traitement avec le méropénème qu'après consultation de l'infectiologue ou du microbiologiste. Si le traitement avec le méropénème est nécessaire, il faut utiliser une dose élevée (6 g/jour). »
- 10 Cinq laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « R »:
- deux laboratoires: « Le Vitek 2 mesure la CMI de méropénème à 0,5 puis augmente celle-ci de 3 à 4 fois. Nous interprétons le méropénème en R (si la carbapénèmase est confirmée) et nous communiquons la CMI aux cliniciens. »
 - résultat rapporté du méropénème = R en attente des résultats du labo de référence (carbapénèmase?)
 - l'E-test montre des petites colonies qui ont poussé dans la zone au-dessus de 32 µg/mL = R
 - si confirmé carbapénèmase KPE +
- 11 Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 (4 mg/l) mais pas l'interprétation. Onze autres laboratoires ont donné une remarque:
- deux laboratoires ont mentionné le diamètre obtenu avec les disques en papier (22 mm) ou Neosensitabs (23 mm) mais ont indiqué qu'ils enverraient l'échantillon pour détermination de la sensibilité au méropénème
 - Carbapénèmase?: souche envoyée au laboratoire de référence pour détermination des carbapénèmes →suspicion CMI méropénème ≥1; le méropénème n'est normalement pas répondu au généraliste: dans ce cas-ci nous l'avons repris à cause de la carbapénèmase. La ceftazidime non plus (nous avons mentionné les CMI pour les statistiques)
 - suspicion de CPE, type OXA
 - Méropénème: le système expert averti de la possibilité d'une CPE. Toutes les entérobactéries avec une CMI pour méropénème ≥1 sont envoyées au centre de référence. Ceci est mentionné dans la réponse au clinicien : « possibilité de souche CPE, envoyée au centre de référence ». Selon les dernières directives de la CLSI une CMI pour le méropénème = 4 est R, selon l'EUCAST c'est I. Les directives CLSI du Vitek sont basé sur la CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new pour carbapénèmase screen (2009): méropénème 23 (≤22), imipénème 21 (≤22), ertapénème 17 (≤22): conclusion le méropénème seul ne détecte pas une CPE éventuelle. Directives 2011 méropénème screen (≤23):→elle serait retrouvée.
 - contacter le microbiologiste pour discussion (ne peut pas être exprimé en S, I, R)
 - test de Hodge positif; témocilline R classe D? OXA-48?; cet AB n'est pas rapporté mais on contacte le médecin prescripteur
 - test de Hodge & envoi pour exclusion de CPE (sensibilité au méropénème diminuée et témocilline R). Le résultat dépend de CPE
 - CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénèmase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence." Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires. »
 - dépistage breakpoint ≥0,5; zone ≤23 mm: CPE à confirmer par PCR

- Suspicion de carbapénèmase type OXA 48. Les résultats expertisés de ceftazidime et du méropénème dépendent de la confirmation de la présence d'une carbapénèmase de type OXA-48. Si absence :→ceftazidime et méropénème sensibles. Si présence :→ceftazidime et méropénème intermédiaire sensibles. Remarque : absence de guidelines CLSI pour l'interprétation des résultats des céphalosporines (et des carbapénèmes) en cas de présence d'une carbapénèmase de type OXA 48.

¹² Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu de la meropénème.

¹³ Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ertapénème et au meropénème.

¹⁴ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.

¹⁵ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la norfloxacine au lieu de la lévofloxacine et la ciprofloxacine et un labo au lieu de la ciprofloxacine.

¹⁶ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.3.2. à 4.3.12. 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 les appareils Osiris, Adagio ou Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans les tableaux 4.3.10, 4.3.11 et 4.3.12c.

Tableau 4.3.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

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	15 (17)	10	6	6 – 7	-	-	17	-
Amoxicilline-acide clavulanique	17 (18)	20 + 10	6	5 – 8	-	-	18	-
Céfuroxime	5 (15)	30	21	6 – 23	9	3	3	-
Ceftazidime	12 (18)	30	29	6 – 30	15	1	2	-
Méropénème	16 (17)	10	22	6 – 26	3	3	6	3 ¹
Imipénème	2 (2)	10	17	15 - 18	1	1	-	-
Lévofloxacine	6 (7)	5	16	7 – 19	-	5	2	-
Ciprofloxacine	15 (17)	5	15	12 – 17	-	5	12	-
Co-trimoxazole	15 (17)	1.25 + 23.75	6	6 – 7	-	-	17	-
Nitrofurantoïne	14 (15)	300	12	8 -14	-	-	15	-
Gentamicine	13 (13)	17	20	17 – 35	13	-	-	-

¹ Trois laboratoires ont donné une remarque:

- un laboratoire a mentionné le diamètre obtenu avec les disques en papier (22 mm) mais a indiqué qu'il enverrait l'échantillon pour détermination de la sensibilité au méropénème
- dépistage breakpoint $\geq 0,5$; zone ≤ 23 mm: CPE à confirmer par PCR
- Méropénème: le système expert averti de la possibilité d'une CPE. Toutes les entérobactéries avec une CMI pour méropénème ≥ 1 sont envoyées au centre de référence. Ceci est mentionné dans la réponse au clinicien : « possibilité de souche CPE, envoyée au centre de référence ». Selon les dernières

directives de la CLSI une CMI pour le méropénème = 4 est R, selon l'EUCAST c'est I. Les directives CLSI du Vitek sont basé sur la CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new pour carbapénémase screen (2009): méropénème 23 (≤ 22), imipénème 21 (≤ 22), ertapénème 17 (≤ 22): conclusion le méropénème seul ne détecte pas une CPE éventuelle. Directives 2011 méropénème screen (≤ 23):→elle serait retrouvée.

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs ("old") et avec les nouvelles charges ("new") séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.3.3. a et b. Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres de ces disques sont repris dans les tableaux 4.3.12 a et b.

Tableau 4.3.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge Neosensitabs) pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat			
					S	S/I	I	R
Ampicilline	3 (3)	33	10	9 – 10	-	-	-	3
Amoxicilline-acide clavulanique	4 (4)	30 + 15	10	7 – 12	-	-	-	4
Céfuroxime	4 (4)	60	23	20 – 25	1	1 ¹	2	-
Ceftazidime	2 (3)	30	30	28 – 32	3	-	-	-
Méropénème	6 (6)	10	23.5	22 – 25	5	-	-	1
Imipénème	1 (1)	10	17	-	1	-	-	-
Lévofloxacine	3 (3)	5	16	14 – 17	-	-	2	1
Ofloxacine	1 (1)	5	15	-	-	-	1	-
Ciprofloxacine	3 (3)	10	15	15 – 18	-	-	1	2
Co-trimoxazole	1 (2)	1.25 + 23.75	9	-	-	-	-	2
Nitrofurantoïne	- (3) ¹	-	-	-	-	-	-	3
Gentamicine	3 (4)	40	22	22 – 25	2	-	2	-

¹ Un laboratoire a mentionné « S en cas d'administration IV et I cas d'administration PO »

² Les différents laboratoires ont mentionné l'utilisation de différentes charges.

Tableau 4. 3.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

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	10 (10)	10	9	9 – 10	-	-	10	-
Amoxicilline	- (1)	-	-	-	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique	11 (11)	20 + 10	9	9 – 10	-	-	12	-
Céfuroxime	10 (10)	30	21	18 – 32	8	1	1	-
Ceftazidime	7 (11)	30	27	26 – 32	11	-	-	-
Méropénème	11 (12)	10	21	21 – 24	5 ¹	3	3	1 ²
Lévofloxacine	4 (4)	5	15	15 - 18	1	2	1	-
Ciprofloxacine	8 (9)	5	14	13 – 20	-	1	8	-
Norfloxacine	1 (1)	5	9	-	-	-	1	-
Co-trimoxazole	12 (13)	1.25 + 23.75	9	9 – 10	-	-	13	-
Nitrofurantoïne	8 (12)	300	14	12 – 18	1	1	10	-
Gentamicine	9 (9)	10	19	16 – 24	9	-	-	-

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à sa réponse « S »: « Ne sera pas répondu: le résultat dépend du centre de référence. Conseil d'EUCAST: toutes les souches avec une CMI pour méropénème ≥1 mg/L et un zone Ø ≤23 mm. sont envoyées pour exclure une carbapénémase »

² Un laboratoire a donné une remarque « suspicion de CPE, type OXA »

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau 4.3.4.

Tableau 4.3.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	2 x R	2 x >256 mg/L
Amoxicilline-acide clavulanique	2	2 x R	2 x >256 mg/L
Céfuroxime	1	1 x S	4 mg/L
Ceftazidime	3	3 x S	2 x 0.25 mg/L; 0.38 mg/L
Méropénème	25	9 x S 4 x I ¹ 10 x R ²	0.25 mg/L; 5 x 1 mg/L; 1.5 mg/L; 2 mg/L; 4 mg/L 0.25 mg/L; 1.5 mg/L; 2 x 6 mg/L 1 mg/L; 1.5 mg/L; 3 x 4 mg/L; >16 mg/L; 32 mg/L; 3 x >32 mg/L
Imipénème	1	2 x * ³ 1 x S	0.5 mg/L; 0.75 mg/L 2 mg/L
Ertapénème	1	1 x R	>32 mg/L
Ciprofloxacine	3	1 x I 2 x R	3 mg/L 3 mg/L; 4 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	2 x 0.5 mg/L
Amikacine	2	2 x S	1.5 mg/L; 2 mg/L

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à sa réponse « I »: « La PCR pour OXA-48 était positive: nous ajoutons une remarque pour le méropénème au rapport: Cette souche produit une carbapénémase ce qui a été confirmée par techniques moléculaires. On ne peut considérer un traitement avec le méropénème

qu'après consultation de l'infectiologue ou du microbiologiste. Si le traitement avec le méropénème est nécessaire, il faut utiliser une dose élevée (6 g/jour). ».

² Un laboratoire a ajouté une remarque à sa réponse « R »: « l'E-test montre des petites colonies qui ont poussé dans la zone au-dessus de 32 µg/mL = R »

³ Deux laboratoires ont donné une remarque:

- dépistage breakpoint $\geq 0,5$; zone ≤ 23 mm: CPE à confirmer par PCR
- Suspicion de carbapénèmase type OXA 48. Les résultats expertisés de ceftazidime et du méropénème dépendent de la confirmation de la présence d'une carbapénèmase de type OXA-48. Si absence :→ceftazidime et méropénème sensibles. Si présence :→ceftazidime et méropénème intermédiaire sensibles. Remarque : absence de guidelines CLSI pour l'interprétation des résultats des céphalosporines (et des carbapénèmes) en cas de présence d'une carbapénèmase de type OXA 48.

Quatre laboratoires ont utilisé le test MICE pour déterminer la sensibilité au méropénème : trois ont obtenu le résultat « I » (valeurs CMI: 1.5 mg/L; 2 x 2 mg/L) et un a obtenu le résultat « S » (valeur CMI 0.25 mg/L).

Un laboratoire a utilisé ce test pour déterminer la sensibilité à la lévofloxacine et a obtenu le résultat « S » (valeur CMI: 0.25 mg/L).

Les résultats obtenus avec le MIC test Strip sont repris dans le tableau 4.3.5.

Tableau 4.3.5. Résultats obtenus avec le MIC test Strip pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Nombre de laboratoires</i>	<i>Résultat</i>	<i>Valeur CMI (mg/L)</i>
Méropénème	6	3 x I 1 x I/R	1.5 mg/L; 2 x 4 mg/L 2 et 4 mg/L ¹
Ertapénème	2	2 x R 2 x R	2 x 4 mg/L 2 x 4 mg/L

¹ Ce laboratoire a donné la remarque: « Les colonies dans l'ellipse ont également été répondu : 2 résultats de ce test pour le méropénème »

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.3.6.

Tableau 4.3.6. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Vitek 2						Vitek 2 compact						
	Résultat final				Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final					Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R	*			S	S/I	I	R	*		
Ampicilline	-	-	66	-	≥32	66 (66)	-	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	66	-	≥32	66 (66)	-	-	-	32	-	≥32	31 (32)
Céfuroxime	54 ¹	4	8	-	4	65 (66)	28	1 ²	-	2	1 ³	4	31 (32)
Ceftazidime	61 ⁴	3	3	-	≤1	65 (66)	29	-	-	1	2 ⁵	≤1	31 (32)
Méropénème	22 ⁶	1	16	2 ⁸	4	32 (58)	16 ₉	-	2	5 ¹⁰	3 ¹¹	2	12 (26)
Lévofloxacine	-	4	28	-	4	31 (32)	1	-	4	9	-	4	12 (14)
Ciprofloxacine	-	6	58	-	≥4	36 (64)	-	-	4	28	-	2	17 (32)
Norfloxacine	-	-	1	-	2	1 (1)	-	-	-	-	-	-	-
Co-trimoxazole	-	-	66	-	≥320	65 (66)	-	-	-	31	-	≥320	29 (31)
Nitrofurantoïne	-	-	57	-	128	42 (57)	-	-	-	23	-	128	18 (23)
Gentamicine	64	-	1	-	≤1	65 (65)	30	-	-	-	-	≤1	30 (31)

- ¹ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S » :
- Suspicion de carbapénèmase: si confirmé: céfuroxime et ceftazidime R
 - OXA 48? Pas d'interprétation proposée (EUCAST ou CLSI 2012) pour les céphalosporines. A signaler au clinicien la présence possible (à confirmer) d'une carbapénèmase et la CMI limite S du céfuroxime.
- ² Un laboratoire a mentionné « S en cas d'administration IV et I cas d'administration PO »
- ³ Un laboratoire a donné une remarque: « CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénèmase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence. » Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires ».
- ⁴ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S » :
- Suspicion de carbapénèmase: si confirmé: céfuroxime et ceftazidime R
 - OXA 48? Pas d'interprétation proposée (EUCAST ou CLSI 2012) pour les céphalosporines. A signaler au clinicien la présence possible (à confirmer) d'une carbapénèmase et la CMI limite S du céfuroxime.
- ⁵ Deux laboratoires ont donné une remarque
- Carbapénèmase?: souche envoyée au laboratoire de référence pour détermination des carbapénèmes →suspicion CMI méropénème ≥1; le méropénème n'est normalement pas répondu au généraliste: dans ce cas-ci nous l'avons repris à cause de la carbapénèmase. La ceftazidime non plus (nous avons mentionné les CMI pour les statistiques)
 - CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénèmase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence. » Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires .
- ⁶ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S » :
- Vitek AES: suspicion de carbapénèmase: →diffusion sur disque: ertapénème: ø19; Méropénème: ø22: →souche à envoyer au labo de référence
 - CPE classe D; méropénème CMI = 4 µg/mL: CLSI 2009 = S; CLSI 2012 = R; le software de notre vitek utilise encore le CLSI 2009

- 7 Deux laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « R »: « Le Vitek 2 mesure la CMI de méropénème à 0,5 puis augmente celle-ci de 3 à 4 fois. Nous interprétons le méropénème en R (si la carbapénémase est confirmée) et nous communiquons la CMI aux cliniciens. »
- 8 Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Vitek 2 (4 mg/l) mais pas l'interprétation. Un laboratoire a donné une remarque; « Méropénème: le système expert averti de la possibilité d'une CPE. Toutes les entérobactéries avec une CMI pour méropénème ≥ 1 sont envoyées au centre de référence. Ceci est mentionné dans la réponse au clinicien : « possibilité de souche CPE, envoyée au centre de référence ». Selon les dernières directives de la CLSI une CMI pour le méropénème = 4 est R, selon l'EUCAST c'est I. Les directives CLSI du Vitek sont basé sur la CLSI 2009. Rosco Neosensitabs new pour carbapénémase screen (2009): méropénème 23 (≤ 22), imipénème 21 (≤ 22), ertapénème 17 (≤ 22): conclusion le méropénème seul ne détecte pas une CPE éventuelle. Directives 2011 méropénème screen (≤ 23): \rightarrow elle serait retrouvée. »
- 9 Deux laboratoires ont ajouté une remarque à leur réponse « S »:
- CPE classe D; CLSI 2009: méropénème 4 $\mu\text{g/mL}$: \rightarrow S; CLSI 2012: méropénème 4 $\mu\text{g/mL}$: \rightarrow R
 - Ne sera pas répondu: le résultat dépend du centre de référence. Conseil d'EUCAST: toutes les souches avec une CMI pour méropénème ≥ 1 mg/L et un zone $\varnothing \leq 23$ mm. sont envoyées pour exclure une carbapénémase
- 10 Un laboratoire a ajouté une remarque à leur réponse « R »: « résultat rapporté du méropénème = R en attente des résultats du labo de référence (carbapénémase?) »
 Un autre laboratoire a mentionné pour le résultat du Vitek: « Le Vitek 2 compact indique une alerte et conseille d'effectuer un E-test pour les carbapénèmes » (Le résultat de l'E-test était « R »).
- 11 Trois laboratoires ont donné une remarque:
- suspicion de CPE, type OXA
 - Carbapénémase?: souche envoyée au laboratoire de référence pour détermination des carbapénèmes \rightarrow suspicion CMI méropénème ≥ 1 ; le méropénème n'est normalement pas répondu au généraliste: dans ce cas-ci nous l'avons repris à cause de la carbapénémase. La ceftazidime non plus (nous avons mentionné les CMI pour les statistiques)
 - CPE. Le système Vitek 2 indique une "alerte": « Suspicion de carbapénémase. A confirmer. Envoyer la souche au centre de référence. » Confirmation + avec test de Hodge modifié. Dans la réponse au clinicien nous demanderions de prendre contact avec le biologiste concernant la thérapie antibiotique étant donné que strictu sensu il est impossible de donner une réponse S, I ou R sans équivoque. Il s'agit d'ailleurs d'une infection des voies urinaires.

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

- pour la céfuroxime 1 laboratoire a mentionné une CMI > 4 mg/L pour le Vitek 2
- pour la ceftazidime 1 laboratoire a une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2
- pour le méropénème 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L pour le Vitek 2, 6 laboratoires une CMI de 1 mg/L, 17 laboratoires une CMI de 2 mg/L et un laboratoire une CMI de 8 mg/L; pour le Vitek 2 compact 11 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L et 2 laboratoires une CMI de 1 mg/L
- pour la lévofloxacine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥ 4 mg/L pour le Vitek 2 et 1 laboratoire une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2 compact
- pour la ciprofloxacine 28 laboratoires ont mentionné une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2 et 14 laboratoires une CMI ≥ 4 mg/L pour le Vitek 2 compact
- pour la co-trimoxazole 1 laboratoire a mentionné une CMI > 32 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥ 16 mg/L
- pour la nitrofurantoïne 15 laboratoires ont mentionné une CMI de 256 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 4 laboratoires ont mentionné une CMI de 256 mg/L et un laboratoire une CMI ≥ 128 mg/L

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.3.7.

Tableau 4.3.7. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Résultat			
	S	I	R	*
Ampicilline	-	-	2	-
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	2	-
Céfuroxime	1	-	-	1 ¹
Ceftazidime	1	-	-	1 ¹
Méropénème	1	-	-	1 ¹
Lévofloxacine	-	-	3	-
Ciprofloxacine	-	-	2	-
Co-trimoxazole	-	-	2	-
Nitrofurantoïne	-	1	1	-
Gentamicine	2	-	-	-

¹ Un laboratoire a donné pour ces 3 antibiotiques la remarque: « contacter le microbiologiste pour discussion (ne peut pas être exprimé en S, I, R) »

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.3.8.

Tableau 4.3.8. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Résultat				Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R	*		
Ampicilline	-	-	16	-	>8	16 (16)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	16	-	>8/2	16 (16)
Céfuroxime	13	-	2	1 ¹	8	14 (16)
Ceftazidime	14	-	2	-	≤1	16 (16)
Méropénème	7	1 ²	5 ³	-	1	11 (13)
Lévofloxacine	-	-	5	-	>2	5 (5)
Ciprofloxacine	-	-	16	-	>1	16 (16)
Co-trimoxazole	-	-	16	-	≥4/76	16 (16)
Nitrofurantoïne	-	-	16	-	>64	16 (16)
Gentamicine	15	-	-	-	≤1	15 (15)

¹ Un laboratoire a mentionné la valeur CMI obtenue avec le Phoenix (8 mg/l) mais pas l'interprétation.

² Un laboratoire a ajouté une remarque à sa réponse « I »: « La PCR pour OXA-48 était positive: nous ajoutons une remarque pour le méropénème au rapport: Cette souche produit une carbapénémase ce qui a été confirmée par techniques moléculaires. On ne peut considérer un traitement avec le méropénème qu'après consultation de l'infectiologue ou du microbiologiste. Si le traitement avec le méropénème est nécessaire, il faut utiliser une dose élevée (6 g/jour). »

³ Un laboratoire a ajouté une remarque à sa réponse « R »: « si confirmé carbapénémase KPE + »

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

- pour la céfuroxime, 2 laboratoires ont mentionné une CMI >8 mg/L
- pour le méropénème, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.5 mg/L

Les résultats obtenus avec l'appareil Microscan sont repris dans le tableau 4.3.9.

Tableau 4.3.9. Résultats obtenus avec l'appareil Microscan pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>			
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Ampicilline	-	-	3	-
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	3	-
Céfuroxime	2	-	-	1 [†]
Ceftazidime	2	-	-	1 [†]
Méropénème	1	-	-	1 [†]
Lévofoxacine	-	-	2	-
Ciprofloxacine	-	-	3	-
Co-trimoxazole	-	-	3	-
Nitrofurantoïne	-	-	3	-
Gentamicine	3	-	-	-

[†] Un laboratoire a donné pour ces 3 antibiotiques la remarque: « test de Hodge positif; témocilline R classe D? OXA-48?; cet AB n'est pas rapporté mais on contacte le médecin prescripteur »

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris, Adagio et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.3.10., 4.3.11. et 4.3.12 a, b et c.

Etant donné le nombre limité de participants (N < 6) pour la plupart de ces méthodes, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

Tableau 4.3.10. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/11720 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat			
		S	I	R	*
Ampicilline	3	-	-	3	-
Amoxicilline-acide clavulanique	4	-	-	4	-
Céfuroxime	3	1	-	-	2 ¹
Ceftazidime	3	3	-	-	-
Céfotaxime	1	-	-	-	1 ²
Méropénème	3	1	1	-	1 ³
Lévofloxacine	4	-	-	4	-
Co-trimoxazole	4	-	-	4	-
Nitrofurantoïne	4	-	-	4	-
Gentamicine	2	2	-	-	-
Amikacine	1	1	-	-	-

¹ Deux laboratoires attendraient le résultat du centre de référence.

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la céfotaxime au lieu de la ceftazidime et attendrait le résultat du centre de référence.

³ Un laboratoire a référé au résultat de la CMI qu'il a déterminée (« I »).

Tableau 4.3.11. Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat			
		S	I	R	*
Ampicilline	5	-	-	5	-
Amoxicilline-acide clavulanique	5	-	-	5	-
Céfuroxime	5	3	-	1	1 ¹
Ceftazidime	5	3	-	1	1 ¹
Méropénème	5	1	-	3	1 ¹
Lévofloxacine	3	-	1	2	-
Ciprofloxacine	3	-	1	2	-
Co-trimoxazole	5	-	-	5	-
Nitrofurantoïne	4	-	-	4	-
Gentamicine	4	4	-	-	-

¹ Un laboratoire a donné pour ces 3 antibiotiques la remarque: « test de Hodge & envoi pour exclusion de CPE (sensibilité au méropénème diminuée et témocilline R). Le résultat dépend de CPE »

Tableau 4.3.12.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques) pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	2	-	-	2
Amoxicilline- acide clavulanique	2	-	-	2
Céfuroxime	2	2	-	-
Ceftazidime	2	2 ¹	-	-
Méropénème	3	2	-	1
Ertapénème	2	-	-	2
Lévofloxacine	2	-	2	-
Ciprofloxacine	2	-	-	2
Nitrofurantoïne	2	-	-	2

¹ Deux laboratoires ont ajouté la remarque: « si la CPE est confirmée, il n'est pas conseillé d'utiliser la ceftazidime s'il y a également une présence de BLSE ou amp C »

Tableau 4.3.12.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (nouvelles charges) pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat			
		S	I	R	*
Ampicilline	5	-	-	5	-
Amoxicilline- acide clavulanique	5	-	-	5	-
Céfuroxime	5	4	1	-	-
Ceftazidime	5	5	-	-	-
Méropénème	4	2	1	-	1 ¹
Lévofloxacine	1	-	-	1	-
Ciprofloxacine	4	-	3	1	-
Co-trimoxazole	4	-	-	4	-
Nitrofurantoïne	4	-	2	2	-
Gentamicine	2	2	-	-	-
Amikacine	1	1	-	-	-

¹ Un laboratoire a mentionné le diamètre obtenu avec les disques Neosensitabs (23 mm) mais a indiqué qu'il enverrait l'échantillon pour détermination de la sensibilité au méropénème

Tableau 4.3.12.c. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	7 (8)	10	6	6 – 6	-	-	8	-
Amoxicilline-acide clavulanique	7 (8)	20+10	6	6 – 6	-	-	8	-
Céfuroxime	7 (8)	30	23	20 – 27	5	1	2	-
Ceftazidime	4 (8)	30	31	28 – 33	6 ¹	2	-	-
Méropénème	7(7)	10	22	19 – 27	2	4	-	1 ¹
Lévofloxacine	3 (3)	5	15	18 – 19	-	2	1	-
Ciprofloxacine	6 (7)	5	16.5	14 – 20	-	4	3	-
Norfloxacine	1 (1)	10	16	-	-	-	1	-
Co-trimoxazole	7 (8)	1.25 + 23.75	6	6 – 6	-	-	8	-
Nitrofurantoïne	5 (9)	300	11	11 – 13	1	-	8	-
Gentamicine	7 (8)	10	23	18 – 26	7	-	1	-

¹ Un laboratoire a répondu "S" pour la ceftazidime mais avec une remarque et pour le méropénème ce laboratoire n'a repris que cette même remarque: « Suspicion de carbapénémase type OXA 48. Les résultats expertisés de la ceftazidime et du méropénème dépendent de la confirmation de la présence d'une carbapénémase de type OXA-48. Si absence :→ceftazidime et méropénème sensibles. Si présence :→ceftazidime et méropénème intermédiaire sensibles. Remarque : absence de guidelines CLSI pour l'interprétation des résultats des céphalosporines (et des carbapénèmes) en cas de présence d'une carbapénémase de type OXA 48. »

Il reste à remarquer qu'un laboratoire n'a pas mentionné la technique qu'il a utilisée pour considérer la lévofloxacine comme résistant.

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

- La céfuroxime:
 - o S→I
 - Disques en papier: 1 labo
 - Sirscan, disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2: 4 labos
 - o S→R
 - Disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Sirscan, disques en papier: 2 labos (1 labo également sur base d'autres méthodes)
 - Adagio: 1 labo
 - Vitek 2: 7 labos (3 labos également sur base d'autres méthodes)
 - Vitek 2 compact: 2 labos
 - o I→R
 - Disques en papier: 1 labo

- La ceftazidime:
 - S→I
 - Disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Sirscan, disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labos (2 labos également sur base d'autres méthodes)
 - S→R
 - Disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Sirscan, disques en papier: 2 labos (1 labo également sur base d'autres méthodes)
 - Adagio: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labos (2 labos également sur base d'autres méthodes)
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - Phoenix: 2 labos
- Le méropénème
 - S→I
 - Disques en papier: 2 labos (également sur base d'autres méthodes)
 - Sirscan, disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Neosensitabs nouvelles charges: 1 labo
 - Sirscan nouvelles charges: 1 labo
 - E-test: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - MICE: 2 labos (également sur base d'autres méthodes)
 - MIC Test Strip: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Vitek 2: 5 labos (3 labos également sur base d'autres méthodes)
 - S→R
 - Neosensitabs nouvelles charges: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Sirscan charges classiques: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Adagio: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - E-test: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Vitek 2: 8 labos (3 labos également sur base d'autres méthodes)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Phoenix: 5 labos (2 labos également sur base d'autres méthodes)
 - I→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Adagio: 1 labo
 - E-test: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - I→S
 - Neosensitabs nouvelles charges: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - R→I
 - Sirscan, disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)

- La lévofloxacine
 - S→I
 - Disques en papier: 2 labos (également sur base d'autres méthodes)
 - Sirscan, disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - S→R
 - Neosensitabs charges classiques: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - Microscan: 2 labos
 - I→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Neosensitabs nouvelles charges: 1 labo
 - Osiris: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 2 labos
- La ciprofloxacine
 - S→R
 - Vitek 2: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
 - I→R
 - Vitek 2: 11 labos (1 labo également sur base d'autres méthodes)
 - Vitek 2 compact: 4 labos (1 labo également sur base d'autres méthodes)
- La nitrofurantoïne
 - I→R
 - Neosensitabs nouvelles charges: 1 labo (également sur base d'autres méthodes)
- La gentamicine
 - S→R
 - Sirscan, disques en papier: 1 labo
 - R→S
 - Microscan: 1 labo

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

32 laboratoires ont laissé ouverte la réponse à la question; probablement qu'un certain nombre d'entre eux ont voulu indiquer de cette façon qu'ils ne proposaient aucun autre antibiotique à tester.

21 laboratoires ont mentionné explicitement qu'ils ne proposeraient aucun autre antibiotique à tester.

Quelques laboratoires ont mentionné qu'il faut effectuer un test de Hodge.

Tableau 4.3.13. Antibiotiques supplémentaires, suggérés par les laboratoires de tester pour l'échantillon M/11721 (*Klebsiella pneumoniae*).

	Antibiotique proposé	N labos
1 AB	Fosfomycine	21
	Colistine	4
	Témocilline	4
	Méropénème ¹	3
	Tigécycline	3
	Céfépime	1
	Ertapénème	1
2 AB	Colistine – Tigécycline	17
	Fosfomycine – Témocilline	4
	Aztréoname – Témocilline	2
	Témocilline – Tigécycline	2
	Aztréoname – Fosfomycine	1
	Céphalosporines 3 ^e /4 ^e génération – Sulfamides	1
	Colistine – Fosfomycine	1
	Colistine – Thiamfénicol	1
	Fosfomycine – Tigécycline	1
	Gentamicine – Tigécycline	1
	Lévoﬂoxacine – Témocilline	1
	Polymyxines - Tigécycline	1
3 AB	Colistine – Fosfomycine – Tigécycline	11
	Aztréoname - Colistine – Tigécycline	7
	Amikacine - Colistine – Fosfomycine	1
	Aztréoname - Colistine – Témocilline	1
	Aztréoname - Fosfomycine – Témocilline	1
	Carbapénème - Céphalosporines 3 ^e génération – Fosfomycine	1
	Ceftriaxone - Fosfomycine – Tigécycline	1
	Colistine – Ertapénème – Témocilline	1
	Colistine – Gentamicine – Tigécycline	1
	Fosfomycine – Polymyxines – Témocilline	1
	Fosfomycine – Témocilline - Pipéracilline/tazobactame	1
4 AB	Aztréoname – Colistine – Fosfomycine – Tigécycline	3
	Amikacine – Aztréoname – Céfépime - Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Fosfomycine – Gentamicine	1
	Aztréoname – Colistine – Témocilline – Tigécycline	1
	Céfépime – Colistine – Ertapénème – Tigécycline	1
	Chloramfénicol – Colistine – Fosfomycine – Tigécycline	1
5 AB	Aztréoname – Céfépime – Céfoxime – Gentamicine – Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Fosfomycine – Gentamicine – Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Fosfomycine – Témocilline – Tigécycline	1
	Aztréoname – Colistine – Pipéracilline/tazobactame - Témocilline – Tigécycline	1
	Aztréoname – Fosfomycine – Méropénème (-Amikacine – Gentamicine)	1

¹ Un laboratoire qui a testé le méropénème avec les disques et le Vitek 2 (résultat "R" avec ces 2 techniques) a mentionné qu'il s'agit d'une confirmation avec l'E-test. Un autre laboratoire a également mentionné qu'il s'agit de la confirmation de son propre résultat dont il est incertain (R?).

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné avoir testé (certains de) ces antibiotiques:

- Colistine: 5 labos: 5 x S
- Tigécycline: 4 labos: 3 x S, 1 x I
- Témocilline: 4 labos: 1 x R, 1 x S, 1 x CMI = 32 µg/mL, 1 x CMI = 1024 µg/ml
- Fosfomycine: 4 labos: 1 x S, 1 x R, 1 x I, 1 x CMI ≤32 µg/mL
- Ertapénème: 2 labos: 2 x R
- Aztréoname: 2 labos: 1 x S, 1 x CMI ≤1 µg/mL
- Gentamicine: 1 labo: S

119 laboratoires enverraient en routine cette souche à un laboratoire de référence pour analyse et confirmation des mécanismes de résistance.

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles formolées ont été envoyés. 156 laboratoires ont participé à l'enquête.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 63.2%. 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/11892

Garçon de 6 ans, originaire d'Ethiopie, qui vient en Belgique pour être adopté. Peu après son arrivée, il souffre de diarrhée ; des selles sont prélevées et envoyées au laboratoire. Actuellement il est devenu asymptomatique.

P/11967

Une patiente de 42 ans atteinte d'une maladie de Hodgkin souffre depuis 6 mois de diarrhée aqueuse.

L'échantillon P/11892 contenait des œufs de *Taenia* species.

L'échantillon P/11967 contenait des oocystes d'*Isospora belli*.

Cet échantillon a déjà été envoyé dans les enquêtes 2008/2 (sous le numéro P/8315) et 2009/2 (sous le numéro P/9273).

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

5.2 Les résultats pour l'échantillon P/11892

Les 156 laboratoires ont fourni 175 réponses. Deux laboratoires ont répondu « Absence de parasites », 135 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 19 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/11892

Résultat	Nombre
<i>Taenia</i> species	140
<i>Taenia saginata</i>	13
<i>Taenia solium</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i>	17
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
Absence de parasites	2
Total	175

Plusieurs laboratoires ont mentionné qu'il est impossible sur base des œufs de différencier *T. saginata* de *T. solium* et ils ont donc répondu *Taenia* species (deux laboratoires ont mentionné que sur base de la localisation *T. saginata* est le plus probable).

Un laboratoire ayant répondu *T. saginata* a mentionné que pour cette identification, il s'est basé sur les données cliniques et sur l'aspect allongé des œufs. Le laboratoire ayant répondu *T. solium*, a mentionné que les œufs n'étaient pas acido-alcolorésistant.

Cent-vingt-et-un laboratoires n'ayant retrouvé qu'un parasite, ont répondu *Taenia* species, treize ont répondu *T. saginata* et un laboratoire *T. solium*.

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

Tableau 5.2.2. Combinaisons de 2 parasites répondues pour l'échantillon P/11892

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Taenia</i> species + <i>Blastocystis hominis</i>	17
<i>Taenia</i> species + <i>Endolimax nana</i>	1
<i>Taenia</i> species + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
Total	19

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Taenia* species sont repris dans le tableau 5.2.3.

Tableau 5.2.3. Stades d'évolution de *Taenia* species pour l'échantillon P/11892

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Œuf	136
Embryophore	2
Kyste	2
Total	140

Tous les laboratoires ayant répondu *T. saginata* ou *T. solium*, ont mentionné comme stade d'évolution « œuf ».

Sept laboratoires enverraient en routine cet échantillon à un centre de référence : 6 d'entre eux ont répondu *Taenia* species et un *T. saginata*

Commentaire

La taeniasse humaine intestinale peut être causée par *Taenia saginata* et *T. solium*. *T. saginata*, qui a le bœuf comme hôte intermédiaire et l'homme comme hôte final, est répandu mondialement mais est surtout retrouvé dans certaines parties d'Afrique, d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud, dans l'Asie occidentale en orientale et dans certains pays d'Europe. Les bœufs se contaminent par ingestion d'œufs de *Taenia* quand ils broutent. Ces œufs contiennent une larve infectieuse qui, après qu'elle se soit libérée cherche son chemin à travers la muqueuse de l'intestin et envahit via les vaisseaux sanguins les tissus musculaires striés où elle se développe en cysticerque. Ceci constitue le stade infectieux pour l'homme. Après ingestion de viande contaminée qui n'a pas été assez cuite, le jeune ver solitaire se libère, il s'accroche avec son scolex à la muqueuse de l'intestin grêle et il commence à produire des proglottis. Deux à trois mois après que l'homme a ingéré les cysticerques, l'infection devient évidente, d'habitude parce qu'on remarque le passage des proglottis ou parce qu'on les retrouve dans le linge. Des plaintes abdominales, inconfort ou diarrhée, peuvent survenir ou dans le pire des cas un grand ver peut causer une obstruction abdominale.

T. solium, le ver solitaire des porcs, a une large dispersion géographique. Le porc se contamine en mangeant des selles contaminées par des œufs. Les cysticerques s'installent dans les tissus musculaires et cérébraux des porcs, et, comme pour le *T. saginata*, l'homme, le seul hôte final, s'infecte en mangeant de la viande ou du tissu de porc, contaminés par les cysticerques, et qui n'ont pas été assez cuits.

Le diagnostic est posé d'habitude sur base de la présence des proglottis dont l'étude permet la différenciation entre les 2 espèces (voir le rapport de l'enquête 2004/2). Parfois, comme c'était le cas pour cet enfant adoptif en provenance de l'Ethiopie, les œufs sont libérés dans les selles à un moment où les proglottis ne sont pas encore sortis du corps. Les œufs de *T. solium* et *T. saginata* ne peuvent pas être différenciés à l'examen microscopique. Comme plusieurs participants l'ont correctement remarqué, il

faut donc répondre *Taenia* species si on ne retrouve que les œufs. Les œufs bruns sont ronds, parfois un peu ovale, et ils ont un diamètre d'environ 30-40 µm. Une caractéristique typique est la couche protectrice épaisse (embryophore) qui est constituée de collagène, avec une structure radiale, qui devient plus épaisse dans l'œuf mature. L'œuf contient une larve (oncosphère) avec 3 paires de crochets qui ne sont pas toujours tous visibles. Parfois on peut encore voir la membrane autour de l'œuf mais d'habitude celle-ci se déchire quand l'œuf sort des proglottis. La sédimentation de l'échantillon peut aider à concentrer les œufs.

Deux laboratoires ont fourni une identification des œufs au niveau de l'espèce sur base de l'absence de l'acido-résistance ou sur base de la forme un peu plus ovale des œufs. Il est à noter que les deux laboratoires sont arrivés à une identification différente. Même s'il est vrai que les œufs des deux espèces peuvent se colorer différemment après une coloration alcolo-acido-résistante et que la littérature mentionne la forme un peu plus ovale des œufs de *T. saginata* (1), il est probablement plus sage d'effectuer la différenciation sur base de caractéristiques plus fiables. Cette différenciation a une grande importance.

T. saginata ne représente pas de grand risque pour l'homme. Le danger lors d'une infection par *T. solium* se produit quand l'homme, comme le cochon, intervient comme hôte intermédiaire par ingestion des œufs et qu'il développe une (neuro) cysticerose. La larve sort de l'œuf, fait son chemin à travers la muqueuse intestinale et se répand par les vaisseaux sanguins aux différents organes ou les envahit directement. Après quelques mois l'homme développe des cysticerques dans le tissu sous-cutané et les muscles ou le système nerveux central. Tant qu'ils sont intacts ces cysticerques ne causent que peu d'inflammation dans le tissu avoisinant mais quand les cysticerques meurent et qu'ils libèrent des antigènes dans leur environnement, cela peut causer une forte réaction par détérioration des tissus. Les cysticerques dans le tissu cérébral causent typiquement de l'épilepsie. La cysticerose est retrouvée fréquemment dans les pays en voie de développement où les porcs sont élevés pour l'alimentation, entre autres en Amérique latine, dans la plus grande partie de l'Asie, en Afrique subsaharienne et certaines parties de l'Océanie. En Europe occidentale l'infection a virtuellement disparu et elle n'est retrouvée que chez les immigrants et comme maladie d'importation. Le diagnostic est posé par l'examen clinique, l'imagerie médicale et la sérologie (détection de l'Ag dans le sérum ou le liquide céphalorachidien).

Quoique la manifestation de l'infection chez l'homme comme hôte intermédiaire ou final soit différente, on retrouve quand-même régulièrement des proglottis (ou des œufs) de *T. solium* chez des patients avec une (neuro) cysticerose. La raison en est l'auto-infection: un porteur d'un *T. solium* peut être une source de contamination pour les porcs comme hôte intermédiaire mais également pour lui-même ou pour une autre personne. Ceci explique pourquoi il faut être très prudent au laboratoire quand on manipule les vers solitaires adultes et les proglottis.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

Références

1. Jimenez JA, Rodriguez S, Moyano LM, Castillo Y, García HH. 2010. Differentiating *Taenia* eggs found in human stools: does Ziehl-Neelsen staining help? Trop Med Int Health. 15(9):1077-81.



5.3 Les résultats pour l'échantillon P/11967

Les 156 laboratoires ont fourni 161 réponses. Un laboratoire a répondu « Absence de parasites », 150 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et cinq laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/11967

Résultat	Nombre
<i>Isospora belli</i>	155
<i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1
<i>Entamoeba species</i>	1
Absence de parasites	1
Total	161

Deux laboratoires ont mentionné que le nom d'*I. belli* a été changé récemment en *Cystoisospora belli*.

Tous les laboratoires n'ayant retrouvé qu'un parasite, ont répondu *Isospora belli*.

Tous les laboratoires ayant répondu la présence de deux parasites, ont mentionné *Isospora belli* et un des cinq parasites repris dans le tableau 5.3.1.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Isospora belli* sont repris dans le tableau 5.3.2.

Tableau 5.3.2. Stades d'évolution de *Taenia species* pour l'échantillon P/11967

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Oocyste	133
Kyste	15
Œuf	3
Sporocyste	2
Non précisé	2
Total	155

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus en 2008, 2009 et 2012 pour ce même échantillon.

Tableau 5.3.3. Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2008/2, 2009/2 et 2012/3

<i>Parasite</i>	<i>P/8315 (2008/2)</i>	<i>P/9273 (2009/2)</i>	<i>P/11967 (2012/3)</i>
<i>I. belli</i>	95.3%	93.5%	99.4%

Douze laboratoires enverraient en routine cet échantillon à un centre de référence

- 10 laboratoires n'ont répondu qu'*Isospora belli*
- un laboratoire a répondu *Isospora belli* et *E. hartmanni*
- un laboratoire a répondu *Isospora belli* et *Entamoeba* species et enverrait l'échantillon pour une identification approfondie de l'*Entamoeba*

Commentaire de l'enquête

Isospora belli appartient au groupe des coccidies intestinales, plus particulier au phylum Apicomplexa et à l'ordre des Eucoccidiorida. Cela fait sujet de discussion si *Isospora* appartient à la famille des Eimeriidae ou des Sarcocystidae, à laquelle appartient *Sarcocystis* (1). Sur base des études moléculaires, les espèces qui infectent les mammifères seraient selon certains auteurs mieux transférés au genre *Cystoisospora* qui les distingueraient d'*Isospora* spp. qui infectent les oiseaux (2-3).

L'isosporiase est une infection cosmopolite, qui est plus fréquente dans les régions (sous)tropiques. Elle est caractérisée par une diarrhée et une stéatorrhée qui sont accompagnées de douleur abdominale, de fièvre et de perte de poids et qui peuvent mener à la déshydratation et à la cachexie. On retrouve souvent une éosinophilie. Chez les personnes en bonne santé, les infections sont limitées. Des plaintes sérieuses subsistent chez les personnes à faible immunité, à savoir les patients souffrant du SIDA, mais également chez des patients avec des maladies lymphoprolifératives telles que la maladie d'Hodgkin. Le traitement est basé sur le cotrimoxazole qu'on peut donner pour alléger les symptômes ou qui peut être nécessaire pour éradiquer l'infection chez les patients à risque.

Isospora belli est un parasite obligatoirement intracellulaire. L'homme s'infecte par l'ingestion de nourriture ou d'eau qui contiennent des oocystes sporulés. Aucun réservoir animal n'est connu. Le temps d'incubation est de 3-14 jours. Le parasite se développe dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle. Il faut 9-17 jours avant que les oocystes soient excrétés dans les selles. La période d'excrétion est assez variable et dépend du statut immunitaire de l'hôte. En cas d'immunité normale cette période est de 30-50 jours, en cas d'immunité diminuée elle peut durer jusque plus que 6 mois. Les oocystes non ou partiellement sporulés sont excrétés dans les selles. La sporulation se termine hors du corps, et se fait normalement en moins de 72 heures. En fonction de la température, cela peut prendre plus de 5 jours avant que les oocystes excrétés deviennent infectieux pour un nouvel hôte. Les oocystes matures contiennent deux sporocystes qui contiennent chacun quatre sporozoïtes.

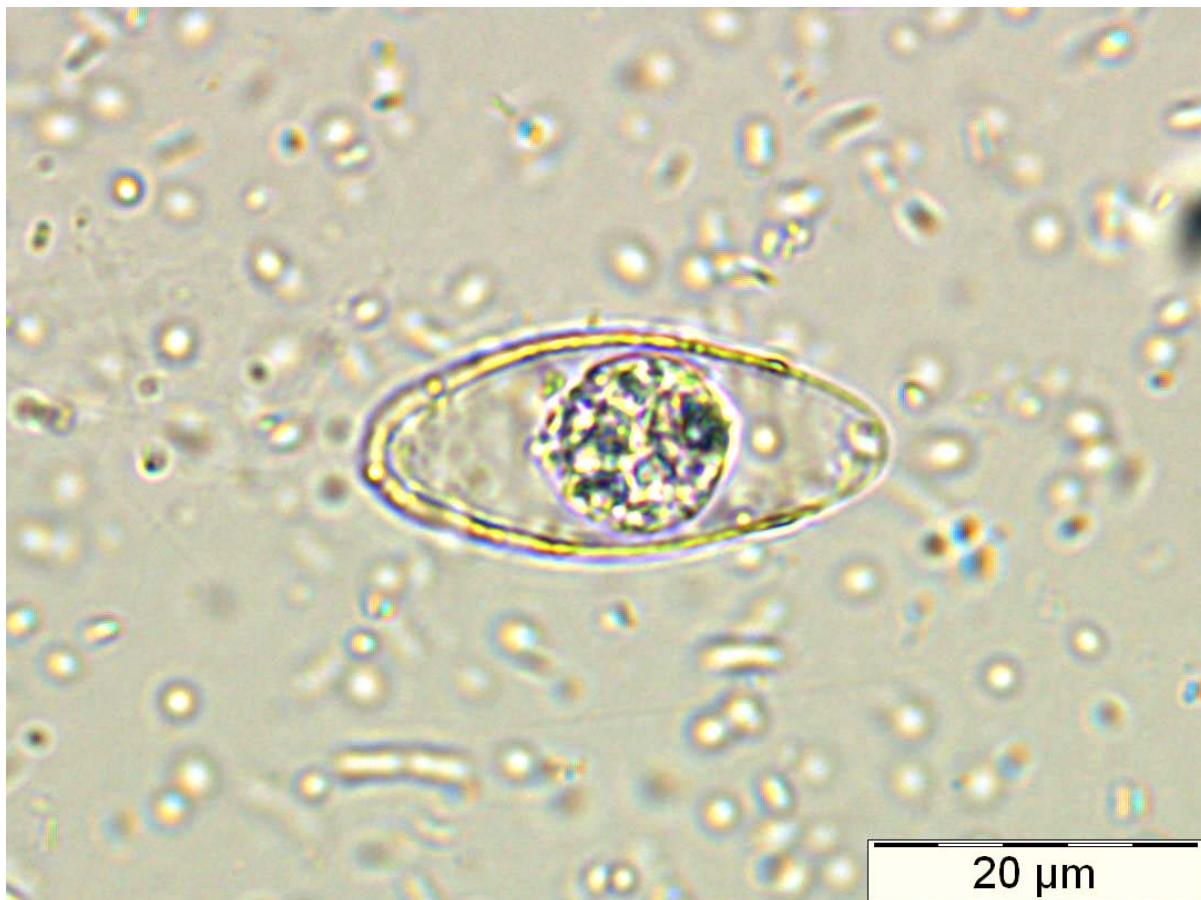
Le diagnostic est posé par la détection dans les selles d'oocystes en forme de bouteille ou fusiformes qui ont une paroi très mince, qui sont 25-33 µm de long et 12-16 µm de large et qui contiennent 1-2 sporoblastes avec un contenu granuleux. Si les oocystes sont présents en grande quantité, leur détection ne pose pas de problèmes. Pour

retrouver des oocystes en petite quantité avec une sensibilité suffisante la technique de concentration de Ridley peut être utile, même si elle n'est pas idéale. On peut utiliser une coloration acido-alcolo-résistante modifiée ou la propriété d'autofluorescence des oocystes. On ne peut pas exclure l'infection sur base d'examen d'un seul échantillon de selles.

M. Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

Références

1. Franzen C, Müller A, Bialek R, Diehl V, Salzberger B, Fätkenheuer G. Taxonomic position of the human intestinal protozoan parasite *Isospora belli* as based on ribosomal RNA sequences. *Parasitol Res.* 2000 Aug;86(8):669-76.
2. Schrenzel JR, Carreno R, Rideout BA. The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isospora* species infecting mammals. *J Parasitol.* 2005 Jun;91(3):726-7.
3. Oliveira-Silva MB, Lages-Silva E, Resende DV, Prata A, Ramirez LE, Frenkel JK. *Cystoisospora belli*: in vitro multiplication in mammalian cells. *Exp Parasitol.* 2006 Nov;114(3):189-92.
- 4.



6.1. Mycoplasma pneumoniae

6.1.1 Informations concernant les échantillons

Deux échantillons ont été envoyés : S/7731 et IS/11713.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/7731: Un jeune homme se présente chez son médecin avec de la fièvre, un mal de gorge et une toux sèche prolongée.

IS/11713: Une jeune femme se présente chez son généraliste avec des symptômes de malaise général, une légère fièvre, un mal de tête, un mal de gorge et une toux sèche prolongée.

Les résultats et interprétations attendus étaient :

S/7731:

Ac. totaux : négatifs
IgG: négatifs
IgM: négatifs
IgA: négatifs
Interprétation: Absence d'anticorps (code 1)

IS/11713:

Ac. totaux : positifs
IgG: positifs
IgM: positifs
IgA: négatifs
Interprétation: Présence d'anticorps, suggestive d'une infection active (code 2).
La réponse "prélèvement d'un échantillon de suivi pour démontrer une augmentation du titre" est également correcte pour les laboratoires qui n'ont déterminé que les Ac. totaux ou les IgG.

6.1.2. Les participants

Au total 149 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse ; 148 laboratoires belges ou luxembourgeois et 1 laboratoire de firme (trousses : Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa, Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa et Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Euroimmun)). Ce dernier n'est pas repris dans le traitement de l'enquête (résultats: S/7731: tout est négatif; IS/11713: IgA et IgM négatif; IgG positif).

Sur l'échantillon S/7731, 25 laboratoires ont effectué un test, 117 laboratoires 2 tests, 5 laboratoires 3 tests et 1 laboratoire 4 tests ; au total les labos ont donc effectué 278 tests.

Sur l'échantillon IS/11713, 22 laboratoires ont effectué un test, 119 laboratoires 2 tests, 6 laboratoires 3 tests et 1 laboratoire 4 tests ; au total les labos ont donc effectué 282 tests.

Le tableau ci-dessous reprend les paramètres effectués par laboratoire.

Tableau 6.1.1. Nombre de participants répartis par paramètre

<i>Nombre de tests</i>	<i>Types de tests</i>	<i>S/7731</i>	<i>IS/11713</i>
1 test	Ac totaux	15	12
	IgM	10	10
2 tests	IgG + IgM	89	88
	Ac totaux + IgM	25	28
	IgA + IgM	2	2
	2 x Ac totaux	1	1
3 tests	IgA + IgG + IgM	3	4
	Ac totaux + IgA + IgM	1	1
	Ac totaux + IgG + IgM	1	1
4 tests	2 x IgG + 2 x IgM	1	1
Total		148	148

Les laboratoires ont donc effectué 44 déterminations des anticorps totaux, 95 déterminations des IgG, 133 déterminations des IgM et 6 déterminations des IgA pour l'échantillon S/7731.

Ils ont effectué 44 déterminations des anticorps totaux, 95 déterminations des IgG, 136 déterminations des IgM et 7 déterminations des IgA pour l'échantillon IS/11713.

6.1.3. Réactifs utilisés

Les tableaux suivants reprennent le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs :

Tableau 6.1.2.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-*Mycoplasma pneumoniae* totaux

Fabricant	Réactif	S/7731	IS/11713
Fujirebio	Serodia-Myco II	42	42
Serion Labconsult) (distributeur)	Mycoplasma pneumoniae complement fixation	2	2
Total		44	44

Tableau 6.1.3.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgG

Fabricant	Réactif	S/7731	IS/11713
Anilab (distributeur BMD)	Mycoplasma pneumoniae IgG EIA	7	7
ApDia	Mycoplasma pneumoniae IgG	4	4
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgG	2	2
Biotest	Vir-Elisa Anti-Mycoplasma IgG Elisa	1	1
Diasorin	Liaison Mycoplasma pneumoniae IgG	19	19
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Mycoplasma pneumoniae IgG	10	10
Euroimmun (distributeur Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	7	7
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	8	8
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgG	28	28
Serion (distributeur Labconsult)	Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa	4	4
Siemens	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgG	5	5
Total		95	95

Tableau 6.1.4.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgM

Fabricant	Réactif	S/7731	IS/11713
Anilab (distributeur BMD)	Mycoplasma pneumoniae IgM EIA	7	7
ApDia	Mycoplasma pneumoniae IgM	3	3
Biorad	Platelia M. pneumoniae IgM	3	3
Biotest	Vir-Elisa Anti-Mycoplasma IgM Elisa	1	1
Diasorin	Liaison Mycoplasma pneumoniae IgM	20	20
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Mycoplasma pneumoniae IgM	12	12
Euroimmun (distributeur Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	8	9
Genbio (distributeur BMD)	Mycoplasma pneumoniae IgM EIA	3	3
	Immunoflow IgM	1	1
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	11	11
Meridian	Immunocard Mycoplasma IgM	25	27
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP IgM	28	28
Serion (distributeur Labconsult)	Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa	5	5
Siemens	Novagnost Mycoplasma pneumoniae IgM	6	6
Total		133	136

Tableau 6.1.5.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-*Mycoplasma pneumoniae* IgA

Fabricant	Réactif	S/7731	IS/11713
Euroimmun (distributeur Biognost)	Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa	1	1
Medac	Mycoplasma pneumoniae IgA Elisa	4	5
Savyon Diagnostics (Diasorin)	SeroMP recombinant IgA	1	1
Total		6	7

6.1.4. Les résultats

6.1.4.1. Echantillon S/7731

6.1.4.1.1. Anticorps totaux

42 laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux les ont trouvés négatifs ; un laboratoire a obtenu des résultats différents (positif et négatif) avec les 2 trousseaux qu'il a utilisées.

6.1.4.1.2. IgG

92 laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvés négatifs (le laboratoire ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes a obtenu des résultats négatifs avec ces 2 techniques). Deux laboratoires ont obtenu un résultat douteux.

6.1.4.1.3. IgM

127 laboratoires ayant déterminé les IgM les ont trouvés négatifs (le laboratoire ayant effectué cette détermination avec 2 techniques différentes a obtenu des résultats négatifs avec ces 2 techniques). Quatre laboratoires ont obtenu un résultat positif.

6.1.4.1.4. IgA

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgA, les ont trouvés négatifs.

6.1.4.2. Interprétations

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Absence d'anticorps » (code 1). Un certain nombre de laboratoires ont choisi une autre option ou ont proposé leur propre interprétation. Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau ci-dessous:

Tableau 6.1.6.: L'interprétation pour *Mycoplasma pneumoniae* pour l'échantillon S/7731

Interprétation	N laboratoria
Absence des anticorps (code 1)	137
Absence des anticorps IgM ¹	2
Pas suggestif pour une infection active ²	2
L'interprétation n'est pas possible sur base des IgM seuls ³	1
Indéterminé ⁴	1
Présence d'anticorps, suggestive d'une infection récente (code 2) ⁵	3
Présences des IgG (résiduels) anti-Mycoplasma. Un deuxième échantillon est souhaité après 10 jours, si CRP+ et neutrophilie ⁶	1
Pas de réponse ⁷	1
Totaal	148

¹ Ces 2 laboratoires n'ont déterminé que les IgM (négatifs).

² Un laboratoire n'a déterminé que les IgM (négatifs); l'autre les IgA et les IgM (tous les 2 négatifs).

³ Ce laboratoire n'a déterminé que les IgM (négatifs)

⁴ Interprétation fournie par le laboratoire qui a obtenu 2 résultats différents (positif et négatifs) pour les anticorps totaux.

⁵ Un laboratoire n'a déterminé que les IgM (positifs); les 2 autres les IgG (négatifs) et les IgM (positifs).

⁶ Ce laboratoire a déterminé les IgG (borderline) et les IgM (négatifs).

⁷ Ce laboratoire n'a déterminé que les IgM (négatifs).

Il reste à mentionner que 2 des laboratoires ayant obtenu des résultats « techniques » discordant pour un des tests qu'ils ont effectués, ont quand-même fourni l'interprétation « Absence d'anticorps » (un labo a obtenu un résultat borderline pour les IgG et des résultats négatifs pour les IgM et les Ac. totaux; l'autre labo a obtenu un résultat positif pour les IgM et un résultat négatifs pour les Ac. totaux)

133 des laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps », ont mentionné une remarque. Ces remarques sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.7.: Remarques mentionnées par les laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps » pour *Mycoplasma pneumoniae* pour S/7731

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	98
Confirmation par un nouveau prélèvement	27
Confirmation par tests complémentaires	3
Après consultation de médecin une sérologie de confirmation peut être effectuée (sérologie IgM et IgG par Elisa)	1
Un nouveau prélèvement serait utile si le début de la clinique est très récente (1 à 3 jours)	1
En cas de clinique suggestif et un problème diagnostique non-résolu, contrôle de la sérologie après 1-2 semaines	1
Une confirmation est à envisager en fonction du contexte clinique.	1
Pour la confirmation d'une infection aiguë à <i>M. pneumoniae</i> , il est conseillé de rechercher le <i>Mycoplasma pneumoniae</i> par une méthode de biologie moléculaire (p.ex. Real Time PCR) sur une expectoration provoquée, un lavage bronchoalvéolaire (si pas de contre-indications)	1
Totaal	148

Tests complémentaires proposés:

- PCR sur un échantillon respiratoire
- PCR *Mycoplasma* sur un écouvillon naso-pharyngé (toux sèche)
- Nouvelle sérologie après 2 semaines et évt. PCR sur un échantillon respiratoire

Un certain nombre de laboratoires ont fait une proposition concernant le moment du 2^e prélèvement:

- Après 8 jours: 1 labo
- Après 7-10 jours: 1 labo
- Après 14 jours: 1 labo
- Après 2-3 semaines: 2 labos
- Après 2-4 semaines: 1 labo
- Après 3-4 semaines: 2 labos

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné ne pas effectuer certains tests en routine :

- IgM (mais bien les Ac. totaux): 6 labos
- IgG (mais bien les IgM): 1 labo
- IgA en IgM (mais bien les Ac. totaux): 1 labo
- IgG (mais bien les IgM et Ac. totaux): 1 labo
- 1 IgM (mais bien les IgM avec une autre méthode et 2 x les IgG): 1 labo
- IgG et IgM (seuls tests effectués): 2 labos

- IgM et IgA (seuls tests effectués): 1 labo
- IgM et Ac. totaux (seuls tests effectués): 1 labo
- IgM (seul test effectué): 1 labo
- Ac. totaux (seul test effectué): 2 labos

6.1.4.2. Echantillon S/11713

6.1.4.2.1. Anticorps totaux

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

Les résultats quantitatifs pour la trousse Serodia-Myco II kit: n utilisateurs = 42; médiane = 1/320 (titre), minimum-maximum: 1/80 – 1/2560 (cut-off: 1/40) (un laboratoire a répondu un titre de 1/80 comme négatif).

6.1.4.2.2. IgG

77 les laboratoires ont obtenu un résultat positif, 9 ont obtenu un résultat douteux, 7 un résultat négatif et un laboratoire a obtenu des résultats différents (positif et négatif) avec les 2 trousse utilisées.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs (au moins 6) nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau 6.1.8.

Tableau 6.1.8 La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps IgG anti-*Mycoplasma pneumoniae* pour l'échantillon S/11713 pour certaines trousse.

Trousse	Nombre de laboratoires	Résultats	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Liaison Mycoplasma pneumoniae IgG (AU/mL)	19	18+, 1-	24.6	18.9	28.0	10.0
Chorus Mycoplasma pneumoniae IgG (AU/mL)	7 ¹	10+	87.0	56.4	95.2	12.0
Mycoplasma pneumoniae IgG Elisa (Medac) (AU/mL)	7 ²	6+, 1+/-, 1-	13.0	11.2	20.7	10.0
SeroMP IgG (AU/mL)	26 ³	20+, 6 +/-, 2-	23.0	9.5	36.0	10.0

¹ En plus 3 laboratoires ont répondu un résultat > 100 AU/mL.

² En plus 1 laboratoire a répondu un résultat < 9 AU/mL (= le labo avec l'interprétation négatif).

³ En plus 2 laboratoires ont répondu un résultat 10 AU/mL (= labos avec l'interprétation négatif).

6.1.4.2.2. IgM

97 laboratoires ont obtenu un résultat positif, 17 ont obtenu un résultat douteux, 20 un résultat négatif et un laboratoire a obtenu des résultats différents (positif et négatif) avec les 2 troussees utilisées.

Pour les troussees avec un nombre suffisant d'utilisateurs (au moins 6) nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau 6.1.

Tableau 6.1.9 La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* pour l'échantillon S/11713 pour certaines troussees.

Trousse	Nombre de laboratoires	Résultats	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Mycoplasma pneumoniae IgM EIA (Anilab) (index s/co)	7	5+, 2-	2.0	1.2	2.7	0.5
Liaison Mycoplasma pneumoniae IgM (index s/co)	12 ¹	19+, 1-	23.5	16.0	26.0	10.0
Chorus Mycoplasma pneumoniae IgM (index s/co)	12	12+	2.2	1.4	2.6	0.9
Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Euroimmun) (index s/co)	9	1+, 1+/-, 7-	0.8	0.3	1.0	0.8
Mycoplasma pneumoniae IgM Elisa (Medac) (index s/co)	11	6+, 2+/-, 3-	1.2	0.4	2.1	0.9
SeroMP IgM (AU/mL)	21 ²	21+, 6+/-, 1-	22.3	9.6	30.0	10.0

¹ En outre 8 laboratoires ont répondu un index >27.0

² En outre 7 laboratoires ont répondu un résultat >27.0 AU/mL

6.1.4.2.4. IgA

Six laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat borderline.

6.1.4.2.5. Interprétation

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps, suggestive d'une infection active » (code 2). Un certain nombre de laboratoires ont choisi une autre option ou ont proposé leur propre interprétation. Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau ci-dessous:

Tableau 6.1.10.: L'interprétation pour *Mycoplasma pneumoniae* pour l'échantillon IS/11713

Interprétation	N laboratoria
Présence d'anticorps, suggestive d'une infection active (code 2)	110
Résultats à la limite du seuil de positivité, une infection récente ne peut être exclue ¹	1
Présence d'anticorps, suggestive d'une infection non-active (code 3) ²	12
Infection ancienne avec séroconversion des IgG ³	1
Présence possible d'anticorps, suggestif pour une infection ancienne ⁴	1
Présence d'anticorps, la différentiation entre une infection ancienne et récente demande l'exécution supplémentaire d'une PCR ⁵	1
Infection ancienne ou récente ⁶	1
La présence d'anticorps IgG et d'anticorps IgA borderline peuvent être une trace sérologique d'une infection ancienne (contact ancien) ou le signe d'une infection plus récente ⁷	1
Titre faible positif, peut signifier une infection débutante ou un titre de reste d'une infection ancienne ⁸	1
Présence d'anticorps, possibilité d'infection récente ou d'anticorps résiduels d'une infection passée ⁹	1
Présence d'anticorps; échantillon de contrôle souhaité après 2 semaines pour évaluer l'évolution du titre. ¹⁰	1
Prélèvement supplémentaire : évolution du titre des IgG /IgA ¹¹	1
Résultat douteux, Un deuxième sérum dans 8 à 10 jours souhaité pour confirmation ¹²	1
L'échantillon donne un résultat borderline pour les IgM et IgG. Un 2 ^e échantillon est souhaité pour le suivi ¹³ .	1
Taux suspect si premier sérum précoce : second sérum souhaite ¹⁴	1
Interférence ou infection débutante? ¹⁵	1
Non conclusif ¹⁶	1
Borderline IgM ¹⁷	1
Résultat borderline pour les IgM avec IgG .négatifs ¹⁸	1
Taux limite en IgM peu significatif ¹⁹	1
Il existe pour le moment peu d'évidence sérologique pour une infection active par <i>Mycoplasma</i> . Est-ce le CRP +? WBC? ²⁰	1
Pas d'infection aigüe mise en évidence ²¹	1
Absence des anticorps (code 1) ²²	4
Autre interprétation, non spécifiée ²³	2
Total	148

- 1 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +, IgM-
- 2 Résultats "techniques" de ces labos:
- Ac. totaux +: 1 labo
 - IgG +, IgM -: 10 labos
 - IgG et IgM +/-, IgA -: 1 labo
- 3 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +, IgM +/-
- 4 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +/-, IgM-
- 5 Résultats "techniques" de ce labo: Ac. totaux +
- 6 Résultats "techniques" de ce labo: Ac. totaux +
- 7 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +, IgM -, IgA +/-
- 8 Résultats "techniques" de ce labo: Ac. totaux +
- 9 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +, IgM +
- 10 Résultats "techniques" de ce labo: IgG + en -, IgM +/- et -
- 11 Résultats "techniques" de ce labo: IgM-
- 12 Résultats "techniques" de ce labo: Ac. totaux +, IgM +/-, IgA -
- 13 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +/-, IgM +/-
- 14 Résultats "techniques" de ce labo: Ac. totaux +
- 15 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +/-, IgM +
- 16 Résultats "techniques" de ce labo: IgM +/-
- 17 Résultats "techniques" de ce labo: IgM +/-
- 18 Résultats "techniques" de ce labo: IgG -, IgM +/-
- 19 Résultats "techniques" de ce labo: IgA -, IgM +/-
- 20 Résultats "techniques" de ce labo: IgG +, IgM -
- 21 Résultats "techniques" de ce labo: IgA -, IgM -
- 22 Résultats "techniques" de ces labos:
- IgG -, IgM -: 3 labos
 - IgM -: 1 labo
- 23 Résultats "techniques" de ces labos:
- IgG +/-, IgM +/-: 1 labo
 - Ac. totaux +: 1 labo

108 des laboratoires ayant répondu « Présence d'anticorps, suggestive d'une infection active », ont mentionné une remarque. Ces remarques sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.11.: Remarques mentionnées par les laboratoires ayant répondu « Présence d'anticorps, suggestive d'une infection active » pour *Mycoplasma pneumoniae* pour IS/11713

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	56
Confirmation par un nouveau prélèvement	41
Confirmation par tests complémentaires	6
Confirmation par tests complémentaires et un nouveau prélèvement	3
Confirmation par un nouveau prélèvement et éventuellement, comme test d'exclusion, effectuer la sérologie de l'EBV	1
Éventuellement contrôle après 2-3 semaines (augmentation du titre des anticorps totaux)	1
Total	148

Tests complémentaires proposés:

- PCR sur un échantillon respiratoire
- PCR Mycoplasma sur une aspiration naso-pharyngée
- PCR sur un écouvillon de gorge
- PCR *M. pneumoniae*
- augmentation quadruple des IgG sur des sérums de convalescence (2-3 semaines)
- IgG et IgM ELISA (réponse d'un labo qui utilise l'Immunocard Mycoplasma IgM)
- IgG et IgM séparés (réponse d'un labo qui ne détermine que les anticorps totaux)
- IgG (réponse d'un labo qui ne détermine que les IgM)

Un certain nombre de laboratoires ont fait une proposition concernant le moment du 2^e prélèvement:

- Après 10 jours: 2 labos
- Après 2 semaines: 5 labos
- Après 2-3 semaines: 4 labos
- Après 3 semaines: 2 labos
- Après 2-4 semaines: 2 labos
- Après 3-4 semaines: 2 labos
- Après 4 semaines: 1 labo
-

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné ne pas effectuer certains tests en routine :

- IgA (mais bien les IgM et les IgG): 1 labo
- IgG (mais bien les IgM et les Ac. totaux): 1 labo
- IgG et IgM (seuls tests effectués): 1 labo
- IgM et IgA (seuls tests effectués): 1 labo
- IgM et Ac. totaux (seuls tests effectués): 1 labo
- IgM (seul test effectué): 1 labo
- Ac. totaux (seul test effectué): 2 labos

6.1.5. Commentaire concernant l'enquête

Echantillon S/7731. Il s'agit d'un échantillon avec les informations cliniques suivantes: « un jeune homme se présente chez son médecin avec de la fièvre, une mal de gorge et une toux sèche prolongée ».

Les déterminations analytiques n'ont pas posé de grands problèmes pour cet échantillon qui était négatif pour aussi bien les IgM/IgA/IgG que pour les anticorps totaux. La grande majorité des participants, 93% (137 des 148), ont choisi l'interprétation « Absence d'anticorps (code 1) ». La remarque « Une confirmation n'est pas nécessaire » a été fournie par 74% (98 des 133) des laboratoires qui ont répondu « Absence d'anticorps » sur base de leurs résultats techniques. Cependant les résultats sérologiques négatifs obtenus sur un prélèvement unique doivent être interprétés avec une certaine précaution. Les infections à *M. pneumoniae* chez les adultes souvent n'entraînent pas d'IgM (52%) et d'IgG (50%) détectables sur un échantillon aigu prélevé la première semaine. Les IgM ont un pic autour la 3^e semaine et les IgG autour de la 5^e semaine avec pour conséquence que les sérums de convalescents ont une réactivité améliorée aussi bien pour les IgM (88%) que pour les IgG (82%) et qu'ils doivent être prélevés 2-3

semaines après la détermination initiale. Cette stratégie d'échantillonnage est surtout importante chez les adultes de plus de 40 ans qui peuvent ne pas montrer de réponse IgM, probablement à cause d'une réinfection. Nous pouvons conseiller de mentionner le commentaire standard suivant: « en cas de résultats douteux ou négatifs pour les IgG et IgM, il est indiqué de prélever un échantillon de contrôle après 2-3 semaines chez les adultes >40 ans ».

Echantillon S/11713. Il s'agit d'un échantillon avec les informations cliniques suivantes: « Une jeune femme se présente chez son généraliste avec des symptômes de malaise général, une légère fièvre, un mal de tête, un mal de gorge et une toux sèche prolongée ».

Dans les résultats analytiques de cet échantillon nous remarquons des nettes différences entre les différentes classes d'anticorps: les anticorps totaux étaient positifs chez 98% (43 sur 44) des utilisateurs, les IgG chez 81% (77 sur 95), les IgM chez 71% (97 sur 136) et il n'y avait aucune positivité des IgA (0 sur 7). Il faut aussi noter la variabilité interlaboratoire aussi bien pour les résultats des IgG (Tableau 6.1.8) que pour ceux des IgM (Tableau 6.1.9) quand pour les mêmes trousse différentes interprétations analytiques (positif versus douteux versus négatif) ont été obtenues. Ces résultats ne sont qu'une illustration de la faible standardisation des tests sérologiques. Seul $\frac{3}{4}$ (74%, 110 des 148) des laboratoires participants ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps, suggestive d'une infection active (code 2) ». Etant donné les différences en performance connues pour les méthodes sérologiques et les particularités de l'évolution sérologique des infections par *M. pneumoniae*, la stratégie de préférence pour les laboratoires qui ont obtenu des résultats négatifs ou douteux est d'effectuer un nouveau prélèvement. Une PCR sur un échantillon respiratoire peut éventuellement être conseillée comme examen complémentaire mais son résultat doit être interprété avec les résultats sérologiques étant donné les données controversées concernant la sensibilité de la PCR par rapport à la sérologie. Aussi bien des résultats faussement négatifs que des résultats faussement positifs ont été rapportés dans la littérature scientifique pour la PCR. Ainsi, la performance de la PCR dépend du type d'échantillon, elle peut détecter le portage asymptomatique jusqu'à 7 mois après l'infection ou se montrer faussement négative suite à des charges bactériennes faibles après antibiothérapie. Cette combinaison de sérologie et de PCR est l'approche la plus fiable pour la recherche d'infections par *M. pneumoniae* et elle est reprise en tant que telle dans les directives internationales.

Elizaveta Padalko, UZ Gent

Références

1. Atkinson TP, Balish MF, Waites KB. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *FEMS Microbiol Rev.* 2008 Nov;32(6):956-73.
2. Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2003 Apr;9(4):263-73.
3. Thurman KA, Walter ND, Schwartz SB. et al. Comparison of laboratory diagnostic procedures for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in community outbreaks. *Clin Infect Dis.* 2009 May 1;48(9):1244-9.
4. Waites KB, Balish MF, Atkinson TP. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Future Microbiol.* 2008 Dec;3(6):635-48.
5. Woodhead M, Blasi F, Ewig S. et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Nov;17 Suppl 6:E1-59.

6.2. HIV

6.2.1. Information concernant les échantillons envoyés

2 échantillons « prêts-à-l'emploi » (S/5309 et IS/8900) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon S/5309 était réactif pour les anticorps anti-VIH.

L'échantillon IS/8900 était négatif pour les anticorps anti-VIH.

6.2.2. Les participants

166 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse : 165 laboratoires belges ou luxembourgeois et 1 laboratoire de firme (trousse : recomline HIV 1 & HIV 2 IgG (Mikrogen)). Ce dernier n'est pas repris dans le traitement de l'enquête mais il a fourni des résultats corrects.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests de dépistage effectués par laboratoire. Plusieurs laboratoires ont effectué 2 tests de dépistage différents par échantillon.

Tableau 6.2.1.: Tests de dépistage effectués pour la détermination du VIH

<i>Echantillon</i>	<i>1 test</i>	<i>2 tests</i>	<i>Total</i>
S/5309 (N labos)	145	20	165
IS/8900 (N labos)	153	12	165

Au total les laboratoires ont donc effectué 185 tests de dépistage sur l'échantillon S/5309 et 177 sur l'échantillon IS/8900.

En outre, 2 participants ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenue avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) et 2 laboratoires ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag obtenue avec la trousse Liaison XL Murex HIV Ab/Ag kit (DiaSorin) pour les deux échantillons.

Deux laboratoires ont déterminé l'Ag p24 avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux) pour l'échantillon S/5309 ; un laboratoire a utilisé la trousse Innotest HIV Antigen mAb (Innogenetics) dans ce but ; 4 laboratoires ont effectué un test de confirmation : ils ont utilisé les trousse suivantes: Inno-LIA HIV I/II Score (Innogenetics) (3 labos) et HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics) (1 labo).

Deux laboratoires ont déterminé l'Ag p24 avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux) pour l'échantillon IS/8900;

6.2.3. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.2.2.: Réactifs utilisés pour les tests de dépistage du VIH

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/5309</i>	<i>IS/8900</i>
Abbott	Architect HIV Ag/Ab Combo	49	49
	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	7	7
	PRISM HIV 0 Plus	1	2
Alere Health bioMérieux	Determine HIV-1/2	1	-
	VIDAS HIV DUO ULTRA	19	15
	VIDAS HIV DUO QUICK	13	9
	Vironostika HIV Ab/Ag	1	1
	Vironostika HIV Uni-Form II Ab/Ag	1	1
BioRad	Access HIV Combo op Unicel Dxl 800 ¹	12	12
	Access HIV 1/2 New op Unicel Dxl 800 ¹	1	1
	Liaison XL Murex HIV Ag/Ab	6	6
DiaSorin Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	14	14
	HIV Combi PT	25	25
Roche	Cobas HIV Combi 2 nd Generation	12	12
	Cobas HIV Combi	5	5
	Modular HIV Combi	3	3
Siemens	ADVIA Centaur EHIV	9	9
	ADVIA Centaur HIV Combo	3	3
	Enzygnost HIV Integral II	2	2
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
Total		185	177

¹ Les troussees Access HIV 1/2 New et Access HIV Combo sont produites par BioRad ; ces troussees sont néanmoins utilisées sur les appareils distribués par Analis.

6.2.4. Résultats

6.2.4.1. Echantillon S/5309

164 laboratoires ont obtenu un résultat réactif avec les tests de dépistage (les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats réactifs avec ces techniques). Un laboratoire n'a pas fourni de résultat à cause d'un problème technique avec leur trousse (Prism HIV 0 Plus).

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs (au moins 6) nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et utilisé la même unité). Ils sont présentés dans le tableau 6.2.3. Pour la trousse ADVIA Centaur EHIV 9 labos ont répondu l'indice >50.

Tableau 6.2.3. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les anticorps anti-VIH pour l'échantillon IS/5309 pour les trousse les plus utilisées.

<i>Trousse (unité)</i>	<i>N labos</i>	<i>Médiane</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	48	284.12	234.68	375.00	≥ 1.0
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	13	31.25	24.08	36.82	≥ 0.25
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	18	23.81	17.98	28.04	≥ 0.25
Access HIV Combo op Unicel Dxl 800 (index S/CO)	12	331.55	318.00	385.94	≥ 1.0
VITROS ECi anti HIV 1+2 (index)	14	92.85	84.40	105.00	≥ 1.0
Cobas Combi 2 nd generation (index)	12	1300	1135	3053	≥ 1.0
HIV Combi PT	25	2943	2373	3668	≥ 1.0

Les 2 laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA, ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé ».

Les 2 résultats de la trousse VIDAS HIV p24 II étaient négatifs : un laboratoire a mentionné une valeur <3 pg/mL et l'autre laboratoire la valeur <10.9 pg/mL

Les 2 résultats de la trousse Liaison XL Murex HIV Ab/Ag kit étaient également négatifs ; un laboratoire a mentionné une valeur de 0.33 s/co et l'autre laboratoire une valeur de 0.308 s/co.

Le résultat de la trousse Innotest HIV Antigen mAb était également négatif.

Les résultats des trousse Inno-LIA HIV I/II score et HIV-Blot 2.2 étaient tous positifs.

6.2.4.2. Echantillon IS/8900

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif avec les tests de dépistage (les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats négatifs avec ces techniques).

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

Tous les résultats des tests Ag p24 étaient négatifs

6.2.4.3. Interprétations

Nous avons demandé quelle est l'attitude des laboratoires vis-à-vis d'échantillons prélevés chez des enfants de moins de 6 mois.

1) Est-ce que l'enfant a été contaminé en cas de test positif?

- 26 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de se prononcer.
- 32 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de se prononcer étant donné que la possibilité existe qu'il s'agisse d'anticorps maternels.
- 12 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de se prononcer mais que des tests de confirmation sont nécessaires.
- 10 laboratoires ont répondu "pas nécessairement".
- 24 laboratoires ont répondu "pas nécessairement" étant donné que la possibilité existe qu'il s'agisse d'anticorps maternels.
- 4 laboratoires ont répondu "pas nécessairement" mais que des tests de confirmation sont nécessaires.
- 2 laboratoires ont répondu "possible".
- 5 laboratoires ont répondu "possible" étant donné que la possibilité existe qu'il s'agisse d'anticorps maternels.
- 2 laboratoires ont répondu "possible, mais des tests de confirmation sont nécessaires pour le confirmer".
- 17 laboratoires ont répondu "non".
- 15 laboratoires ont répondu "non" étant donné que la possibilité existe qu'il s'agisse d'anticorps maternels.
- 3 laboratoires ont répondu "non, mais des tests de confirmation sont nécessaires pour le confirmer".
- 5 laboratoires ont répondu "oui".
- 2 laboratoires ont répondu "oui, s'il y a une confirmation".
- 6 laboratoires n'ont pas répondu à la question.

2) Est-ce que ces échantillons (sérum) sont pertinents pour effectuer le diagnostic?

Tableau 6.2.4.: Réponses à la question 2 de l'interprétation

Réponse	Nombre de laboratoires
Non	151
Oui	12
Pas de réponse	2
Total	165

3) Quel type d'échantillon enverriez-vous à un laboratoire de référence?

Tableau 6.2.5.: Réponses à la question 3 de l'interprétation (les réponses surlignées en **bleu** comprennent des prélèvements chez l'enfant et la mère)

Type de prélèvement	Tests à effectuer	Nombre de laboratoires
Sang (total) EDTA	PCR VIH ADN (proviral)	17
	PCR VIH ARN	3
	PCR VIH ADN (proviral) et PCR VIH ARN	5
	PCR VIH charge virale	2
	PCR VIH	13
	PCR VIH ou recherche de l'Ag p24	1
	PCR VIH à la naissance, après 1 et 3 mois (et évt. après 2 et 6 mois)	2
	PCR VIH à la naissance, après 1, (2), 3 et 6 mois. + charge virale	1
	PCR VIH après 48h, 1, 2 et 3 mois + PCR VIH RNA	1
	Non spécifié ¹	20
	Sang (total) EDTA + plasma EDTA	PCR VIH ADN (proviral) et PCR VIH ARN
Sang (total) EDTA + plasma EDTA congelé	PCR VIH + charge virale	1
Plasma EDTA	Charge virale	3
	PCR VIH	1
	PCR VIH + recherche de l'Ag + blot	1
	Non spécifié	3
Plasma EDTA congelé	PCR VIH	1
Sang (total) EDTA ou plasma	PCR VIH	1
	PCR VIH	1
Prélèvement sur EDTA	PCR VIH ADN (proviral)	6
	PCR VIH ADN (proviral) + PCR VIH ARN	2
	PCR VIH ADN (proviral) + charge virale	2
	PCR VIH ²	14

	Charge virale	6
	Non spécifié	6
Prélèvement sur EDTA + sérum	PCR VIH + contrôle sérologie	1
	Charge virale + contrôle sérologie	1
	Mère + enfant: VIH Ag + PCR chez l'enfant	1
	PCR VIH DNA chez l'enfant + chez la mère + suivi sérologique (WB) jusque 18 mois	1
	Non spécifié	3
Sang (total)	PCR VIH ADN (proviral)	1
	PCR VIH	5
	PCR VIH à différents moments	1
Plasma	Charge virale	1
	PCR	1
Sérum	PCR VIH ARN	1
	Sérum de l'enfant: VIH Ag + PCR chez l'enfant + sérum de la mère	1
	Non spécifié	2
	Non spécifié, prélèvement chez l'enfant > 6 mois	1
	Non spécifié, prélèvement chez l'enfant > 18 mois	1
	Non spécifié, sérum de la mère et de l'enfant.	1
Sérum congelé	PCR génome viral VIH	1
Sérum ou plasma	Non spécifié	1
Plasma EDTA congelé et sérum congelé	Non spécifié	1
	Sang cordon + sang de la mère	1
	Non spécifié	1
Type de prélèvement non spécifié	PCR VIH ADN	2
	RT-PCR et/ou ADN proviral	1
	PCR VIH ADN et charge virale	1
	PCR VIH	6
	PCR VIH et/ou culture du virus	1
	Comparaison taux maternel-taux enfant.	1
	Recherche charge virale.	1
	Détermination du virus	1
Réponses en fonction des échantillons envoyés dans l'EEQ	L'échantillon positif (S/5309)	6
Pas de réponse		4
Total		165

1 Un laboratoire a mentionné que le tube EDTA (5 mL) doit être transporté à température ambiante. Ce tube ne peut être ouvert avant l'arrivée au labo de référence

2 Un laboratoire réfère au schéma des laboratoires de référence Sida belges

6.2.5. Commentaire

Les tests qui ont été effectués sur ces deux échantillons par les laboratoires participants posent peu de problèmes. Par contre lorsque des questions sont posées concernant le diagnostic néonatal de l'infection l'étonnement devant la diversité des réponses est grand étant donné qu'il y a deux ans les mêmes questions ont été posées aux laboratoires avec la même diversité de réponses.

Nous reprenons donc dans les grandes lignes le commentaire donné en 2010.

Chez les petits enfants de mère infectée par le VIH la présence d'anticorps maternels est systématique et peut persister jusqu'au delà de 15 mois. Le diagnostic devra donc faire appel à d'autres méthodes que sérologiques (voir le site des laboratoires de référence SIDA :

<http://www.wiv-isp.be/epidemiologie/EPIEN/AIDSEN/ARLEN/findex.html>) et il est indiqué d'envoyer pour ce faire des échantillons à un laboratoire de référence SIDA, selon le schéma indiqué sur le site. Le test le plus important est la recherche de l'ADN proviral dans les globules blancs. Ceci nécessite l'envoi de sang complet prélevé sur un anticoagulant compatible. L'EDTA est préféré (le citrate est possible, mais entraîne une certaine dilution, l'héparine n'est pas indiquée car des traces d'héparine inhibent la polymérase dans la réaction de polymérase en chaîne ou PCR). Un échantillon pris rapidement à la naissance permet souvent déjà le diagnostic, mais ne peut être prélevé à partir du cordon, car ceci peut entraîner une contamination avec le sang maternel. Ensuite on prélèvera à 1 mois et 3 mois, éventuellement également à 2 (recommandé) et 6 mois (optionnel). Il est important d'avoir des résultats positifs sur deux échantillons indépendants avant de conclure à l'infection. Si nécessaire, le suivi d'un enfant qui est devenu séronégatif, peut se faire en sérologie classique.

Réponse aux questions posées :

- 1) Est-ce que l'enfant a été contaminé en cas de test positif? La réponse est « non » ou « il n'est pas possible de le savoir », car le test sérologique utilisé n'est pas adéquat et inutile. Le test positif peut aussi bien être dû à la présence d'anticorps maternels. La seule conclusion possible est que l'enfant est à risque d'infection par le VIH (une mère séropositive).
- 2) Est-ce que ces échantillons (sérums) sont pertinents pour effectuer le diagnostic? Ces échantillons ne sont pas adéquats. Il faudra du sang prélevé sur EDTA afin de permettre d'effectuer la recherche d'ADN proviral.
- 3) Quel type d'échantillon enverriez-vous à un laboratoire de référence? On enverra un échantillon prélevé sur EDTA, tel que spécifié ci-dessus. Le laboratoire de référence effectuera la recherche du génome proviral éventuellement associé à la recherche d'ARN viral.

Finalement, précisons que dans notre pays, où le traitement des femmes enceintes permet généralement de diminuer leur charge virale sous le seuil de détection, la transmission du VIH de la mère à l'enfant est devenue extrêmement rare.

Laboratoires de Référence SIDA