

**EXPERTISE, PRESTATIONS DE SERVICE ET RELATIONS CLIENTS
QUALITE DES LABORATOIRES MEDICAUX**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
MICRO/SERO/PARA
ENQUETE 2017/1**

Microbiologie

Streptococcus anginosus
Staphylococcus lugdunensis
Pseudomonas aeruginosa
Neisseria meningitidis

Parasitologie

Négatif
Plasmodium ovale

Sérologie

Rubéole
Ag de la Legionella

ISP/Micro/Séro/Para/109

COMITE DES EXPERTS

ISP					
Carlier Danielle	Secrétariat	TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Dr. VERNELEN Kris	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.29		
		e-mail:	kris.vernelen@wiv-isp.be		
Dr. CHINA Bernard	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.53.85		
		e-mail:	bernard.china@wiv-isp.be		
Experts	Institution				
Dr. BERTH Mario	AML Antwerpen	TEL:	03/30.30.809	FAX:	03/30.30.882
		e-mail:	mario.berth@aml-lab.be		
Pharm. BOEL An	OLVZ Aalst	TEL:	053/72.47.85	FAX:	053/72.45.88
		e-mail:	an.boel@olvz-aalst.be		
Dr. BOELENS Jerina	UZ Gent	TEL:	093/32.19.69	FAX:	093/32.36.40
		e-mail:	jerina.boelens@uzgent.be		
Dr. BOERAS Anca	Clinique St Joseph Liège	TEL:	042/24.83.58	FAX:	042/24.84.73
		e-mail:	anca.boeras@chc.be		
Dr. CLAEYS Geert	UZ Gent	TEL:	09/332.36.45	FAX:	09/332.49.85
		e-mail:	geert.claeys@ugent.be		
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ Aalst	TEL:	053/72.42.72	FAX:	053/72.45.88
		e-mail:	hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be		
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC Bruxelles	TEL:	02/340.41.34	FAX:	02/340.41.79
		e-mail:	yves.degheldre@chirec.be		
Dr. DELFORGE Marie-Luce	ULB Erasme Bruxelles	TEL:	02/555.34.53	FAX:	02/555.64.59
		e-mail:	marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be		
Dr. MAGERMAN Koen	Jessa Ziekenhuis Hasselt	TEL:	011/30.97.40	FAX:	011/30.97.50
		e-mail:	koen.magerman@jessazh.be		
Dr. PADALKO Elizaveta	UZ Gent	TEL:	09/332.21.08	FAX:	09/332.49.85
		e-mail:	elizaveta.padalko@uzgent.be		
Dr. REYNDERS Marijke	AZ Sint Jan Brugge	TEL:	050/45.39.27	FAX:	050/45.26.19
		e-mail:	marijke.reynders@azsintjan.be		
Dr. SAEGEMAN Veroniek	UZ Leuven	TEL:	016/34.24.23	FAX:	016/34.70.10
		e-mail:	veroniek.saegeman@uzleuven.be		
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST Lucas Gent	TEL:	09/224.64.45	FAX:	09/224.64.46
		e-mail:	jos.vanacker@azstlucas.be		
Dr. VAN ESBROECK Marjan	Instituut Tropische Geneeskunde Antwerpen	TEL:	03/247.64.37	FAX:	03/247.64.40
		e-mail:	mvesbroeck@itg.be		
Dr. VERROKEN Alexia	Cliniques Saint-Luc Bruxelles	TEL:	02/764.67.32	FAX:	02/764.69.33
		e-mail:	alexia.verroken@uclouvain.be		
Pharm. VIJGEN Sara	Jessa Ziekenhuis Hasselt	TEL:	011/33.82.22	FAX:	011/33.82.08
		e-mail:	sara.vijgen@jessazh.be		
Dr. WOESTYN Sophie	Laboratoire J. Woestyn Mouscron	TEL:	056/85.58.85	FAX:	056/85.58.86
		e-mail:	sophie.woestyn@skynet.be		

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts le : 13/04/2017.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité d'experts le 13/04/2017.

Autorisation de diffusion de rapport: Par Kris Vernelen, le 14/08/2017.

Signature du coordinateur d'enquête

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Kris Vernelen', is written over a light grey rectangular background.

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm

Tables des matières

I. Remarques générales.....	5
II. Identifications.....	6
2.1 Culture M/6687 <i>Streptococcus anginosus</i>	6
2.2 Culture M/14218 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	7
2.3 Culture M/14592 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
2.4 Culture M/14654 <i>Neisseria meningitidis</i>	17
III. Résultats des identifications.....	20
3.1. Culture M/6687 Non pathogène (groupe <i>Streptococcus anginosus</i>) (écouvillon de gorge)20	
3.2. Culture M/14218 <i>Staphylococcus lugdunensis</i> (pus pied diabétique).....	22
3.3. Culture M/14592 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	23
3.4. Culture M/14654 <i>Neisseria meningitidis</i> (lavage broncho-alvéolaire)	24
IV. Antibiogramme	24
4.1. Culture M/14218 <i>Streptococcus lugdunensis</i>	25
4.2. Culture M/14592 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
V. Parasitologie.....	39
5.1 Les échantillons.....	39
5.2 Les résultats pour l'échantillon P/14250	40
5.3 Les résultats pour l'échantillon P/14630	41
5.4. Commentaire de l'enquête.....	43
VI. Sérologie	46
6.1 La rubéole	46
6.2 Antigène <i>Legionella</i>	54

I. Remarques générales

Pour la 1^e enquête du cycle 2017 (enquête 2017/1), le matériel suivant a été expédié le 16 janvier 2017.

1.1. 3 échantillons lyophilisés et 1 échantillon clinique pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2. Deux frottis sanguins pour la recherche de parasites.

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

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	145
2.	Pour la parasitologie:	160
3.	Pour la sérologie	
	La rubéole:	134
	L'Ag de Legionella:	104

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

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

Pour la bactériologie :

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/microbiologie.htm

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

Pour la parasitologie :

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm

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

Pour la sérologie infectieuse :

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/inf_serologie.htm

et puis cliquer sur « Liste des paramètres évalués »

II. Identifications

2.1 Culture M//6687 *Streptococcus anginosus*

Le prélèvement était un frottis de gorge réalisé dans le cadre d'une angine classique non compliquée chez un enfant de 3 ans. Pour rappel la majorité des angines de ce type sont causées par des virus. Les angines bactériennes ne représentant que 15% des angines infectieuses.

La seule réponse acceptable dans le cadre de ce contrôle de qualité était absence de germes pathogènes. La souche envoyée était un *Streptococcus anginosus* qui en aucun cas ne peut être considéré comme pathogène dans la situation clinique évoquée dans le commentaire relatif à l'envoi. En effet les streptocoques du groupe milleri sont des commensaux de l'oropharynx et il n'est pas correct d'associer leur présence à une causalité d'angine banale.

La majorité des laboratoires (91%) a répondu l'absence de germes pathogènes dans l'échantillon mais néanmoins 9% des laboratoires qui ont mentionné la présence d'un streptocoque pathogène ce qui en l'absence de lésions abcédées et ou nécrotiques n'est pas acceptable.

Y. De Gheldre, CHIREC

2.2 Culture M/14218 *Staphylococcus lugdunensis*

Le premier envoi de l'année 2017 contenait un *Staphylococcus lugdunensis* originaire d'une plaie d'un pied diabétique.

Presque tous les laboratoires ont donné une identification correcte.

Cette souche de *Staphylococcus lugdunensis* contenait le gène MecA, raison pour laquelle la souche avait acquis une la résistance à la méthicilline.

90% des laboratoires ont également donné une bonne réponse à ce sujet: 128 des 141 laboratoires ont identifié la résistance à la méthicilline malgré le fait que ce n'était pas évident pour cette souche.

Aussi bien l'EUCAST que le CLSI soulignent que la détection de la résistance à la méthicilline chez les staphylocoques est cliniquement très importante et ils donnent donc d'amples directives et commentaires pour la recherche de cette résistance.

Dans les dernières mises à jour les deux comités utilisent des règles assez similaires qui deviennent néanmoins de plus en plus complexes et qui diffèrent dans les détails (voir également le commentaire d'O. Denis concernant la souche M/14193, *S. epidermidis*, dans le rapport de l'EEQ 2016/3):

EUCAST fait une distinction entre *S. epidermidis* (avec une remarque particulière pour *S. pseudintermedius*) d'un côté et *S. aureus* + tous les staphylocoques à coagulase négative (SCN) –à l'exception de *S. epidermidis* – de l'autre côté. Ils conseillent spécifiquement d'utiliser pour ce deuxième groupe (avec donc *S. aureus* et *S. lugdunensis*) d'utiliser la céfoxitine pour le dépistage de la résistance à la méthicilline aussi bien pour la méthode de diffusion sur disque que pour la méthode de microdilution. Ils mentionnent explicitement –en tout cas pour la méthode de diffusion sur disque – de ne pas utiliser les disques d'oxacilline. Ils mentionnent que pour le *S. epidermidis* il existe plus de problèmes pour la céfoxitine dans la méthode de microdilution que dans la méthode de diffusion sur disque!

Le CLSI fait une distinction entre *S. aureus* + *S. lugdunensis* d'un côté et tous les SCN (à l'exception de *S. lugdunensis* et une remarque concernant *S. pseudintermedius*) de l'autre côté. Eux aussi mentionnent que la céfoxitine est un meilleur marqueur pour la résistance à la méthicilline et qu'il vaut mieux ne pas utiliser l'oxacilline dans la méthode de diffusion sur disque.

Il est à noter que les breakpoints sont très étroits pour les 2 comités:

Ceci signifie pour le *S. lugdunensis* qu'en microdilution une céfoxitine de ≤ 4 $\mu\text{g/mL}$ peut être transmise comme sensible, >4 $\mu\text{g/mL}$ est résistant.

Ça devient difficile en diffusion sur disque où les breakpoints pour la céfoxitine (30 μg) sont aussi bien chez l'EUCAST que chez le CLSI: $<22\text{mm} = \text{R}$, $\geq 22\text{mm} = \text{S}$.

Ceci est une règle qui est « inutilisable » dans la pratique de tous les jours. Si une lecture à 1mm prêt signifie un changement de catégorie (avec la possibilité d'une « erreur très majeure » pour conséquence ") il sera impossible de valider n'importe quel contrôle interprofessionnel.

Pour éviter ceci chaque laboratoire qui utilise la diffusion sur disque doit chercher une solution pragmatique. Une suggestion, qui est déjà utilisée dans plusieurs laboratoires, est de « créer » quand-même une « catégorie intermédiaire ». Dans cette solution l'interprétation $<22\text{mm} =$ résistant peut rester, mais on crée une catégorie « intermédiaire »: si le résultat de la lecture est entre 22 et 25mm on effectue un test de confirmation: détermination de la CMI pour l'oxacilline, détection du gène MecA /MecC, recherche de PBP2a (test d'antigène).

Une lecture de $\geq 26\text{mm}$ peut être considérée comme S. la logique vient de: EUCAST wild type distribution of staphylococci for cefoxitine

<https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=dif&NumberIndex=50&Antib=185&Specium=-1>

2.3 Culture M/14592 *Pseudomonas aeruginosa*

Quand nous comparons les résultats de 2009/3 pour la détermination de la sensibilité à cette souche de *P. aeruginosa* avec ceux de l'enquête actuel 2017/1, nous remarquons les différences suivantes (toutes méthodes confondues):

Antibiotique	Résultat attendu	%S (N S/N SIR) 2009/3	%S (N S/N SIR) 2017/1
Pipéracilline-tazobactame	S	92 (145/157)	53 (69/131)
ceftazidime	S	99 (170/171)	75 (106/141)
méropénem	S	100 (157/157)	99 (136/137)
amikacine	S	100 (170/170)	99 (126/127)
gentamicine	S	99 (155/156)	100 (126/126)
tobramycine	S	100 (116/116)	100 (71/71)
ciprofloxacine	S	100 (139/139)	100 (117/117)
lévofloxacine	S	100 (15/15)	70 (14/20)

La pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime et la lévofloxacine sont interprétées comme moins sensible à l'occasion de l'enquête actuelle 2017/1. Ceci peut être expliqué par une combinaison de facteurs:

- Le fait que les valeurs de CMI se trouvent près des breakpoints pour ces antibiotiques
- Le changement de beaucoup de laboratoires des critères de la CLSI vers ceux de l'EUCAST avec des valeurs plus « sévères » (plus vite de résistance) pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime et la lévofloxacine pour l'EUCAST. On remarque une évolution des critères de l'EUCAST au cours des années pour les diamètres de la pipéracilline-tazobactame.

Nous constatons des différences importantes pour la **pipéracilline-tazobactame**. L'EUCAST et la CLSI conseillent des charges antibiotiques différentes. Pour l'EUCAST le diamètre médiane des disques en papier pipéracilline-tazobactame est de 18-19 mm et des disques Neosensitabs il est de 18 mm. Cette valeur se trouve autour du cutoff d'interprétation (≥ 18), et on peut donc s'attendre à des fautes de catégories. La CLSI utilise une autre charge antibiotique (100+10 μ g), nous remarquons des diamètres médians plus élevés pour ces utilisateurs (22, 23 et 24 mm) qui sont nettement au-dessus des valeurs seuils (≥ 21).

Pour les automates nous constatons que c'est surtout les utilisateurs du vitek qui ont rapporté des résultats principalement intermédiaires et résistants à pipéracilline-tazobactame pour cette souche. Il est à noter que 11 laboratoires ont changé le résultat final en I ou R sur base du système expert vitek. Etant donné que les nombres des utilisateurs du vitek qui suivent les directives CLSI (N=31) ou EUCAST (N=36) sont comparables, ceci démontre une fois de plus la problématique de la pipéracilline-tazobactame.

Comme déjà rapporté par Desmet et collaborateurs les erreurs majeures pour les différents systèmes de déterminations des antibiogrammes sont surtout rapportées chez les souches non-fermentantes pour la piperacilline-tazobactame.¹

Pour la **ceftazidime** il s'agit d'une évolution mineure vers la catégorie intermédiaire de la sensibilité vis-à-vis des résultats obtenus pour cette souche en 2009/3. Nous remarquons que ça se passe surtout pour les utilisateurs du vitek.

L'évolution pour la **lévofloxacine** peut être attribuée entièrement à l'évolution de l'utilisation de la CLSI vers celle de l'EUCAST. Comme pour la ceftazidime il s'agit d'une évolution mineure vers la catégorie intermédiaire de la sensibilité vis-à-vis des résultats obtenus pour cette souche en 2009/3. La sensibilité intermédiaire a été rapportée aussi bien par les utilisateurs des disques, du vitek et du Phoenix.

Quelques participants ont constaté un satellitisme dans la zone autour du méropénem pour la diffusion sur disque (cfr photo).

Ce phénomène d'hétérorésistance est connu pour plusieurs espèces, dont *P. aeruginosa*.



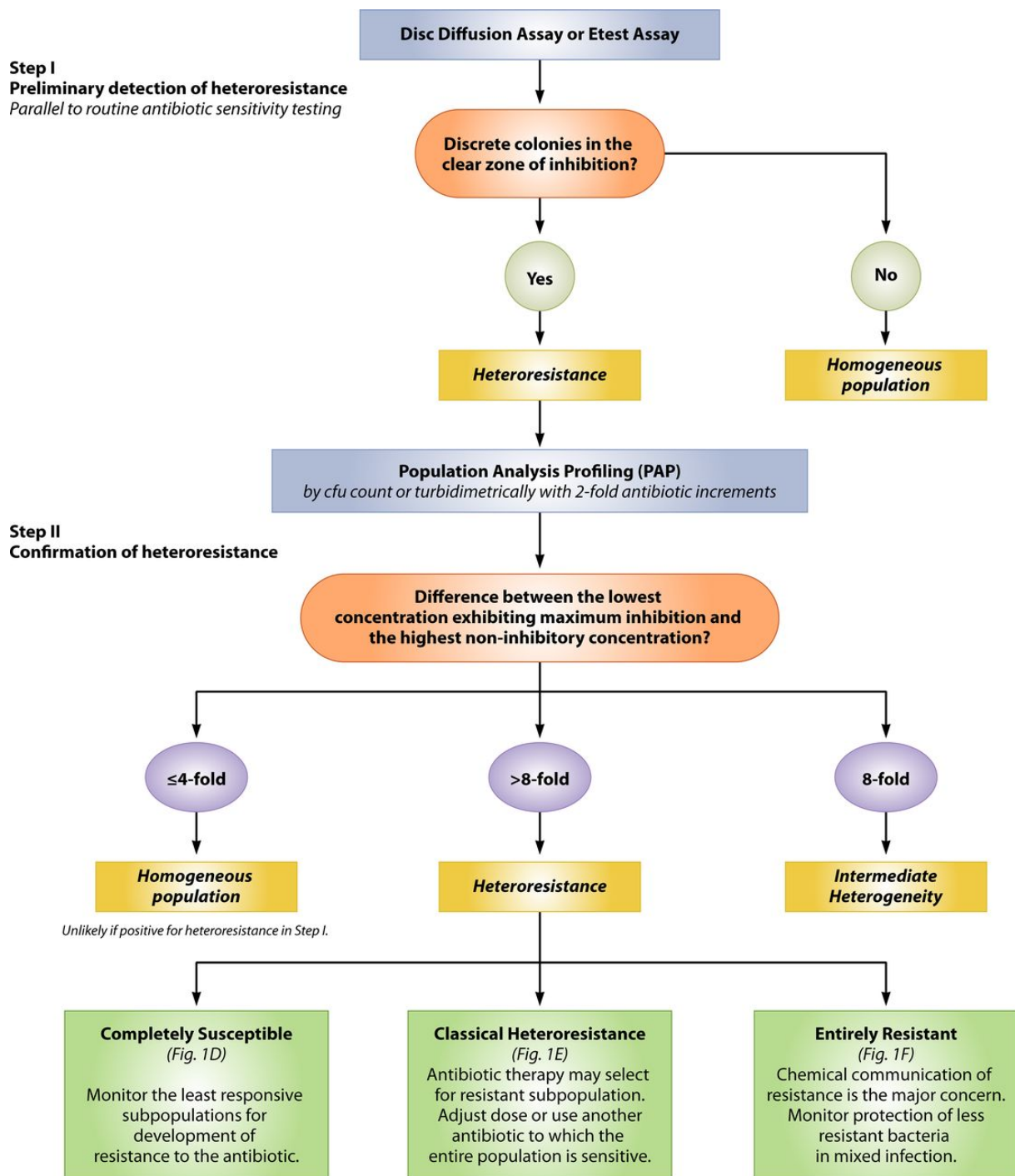
Voir photo (courtesy dr F Van Hoecke, St Andries ziekenhuis Tiel):

P. aeruginosa M/14592 avec à gauche: l'antibiogramme original 0.5 McF

Et à droite: la répétition du disque de méropénem à partir des colonies satellites à gauche

Une des explications de ce phénomène pour les carbapénèmes chez *P. aeruginosa* est qu'il existe des différences entre la population de départ et le groupe des colonies hétérorésistantes au sujet d'une part de la transcription des gènes *mexB* et *mexY* qui sont impliqués dans l'efflux « multidrug » et d'autre part d'une expression diminuée du gène *OprD* qui code pour une protéine de la membrane externe (2,3).

L'importance clinique de cette hétérorésistance reste controversée, certains auteurs mettent son importance en question, d'autres argumentent qu'elle est liée avec une issue clinique plus mauvaise. L'importance clinique a été montrée chez des infections récurrentes, des infections chroniques et des infections avec une mortalité élevée. On peut retrouver des informations complémentaires sur la définition de l' hétérorésistance et comment l'utiliser dans la revue concernant quels antibiotiques il faut utiliser et leur dosage d'El-Halfawy et Valvano (Clin Microbiol Rev 2015).



Vous pouvez retrouver des réflexions complémentaires sur le satellitisme autour de la souche de *P. aeruginosa* dans le supplément du prof G Claeys.

Références

Development of a national EUCAST challenge panel for antimicrobial susceptibility testing
Desmet S, Verhaegen J, Glupczynski et al, *Clinical Microbiology Infection* 2016;22:704-710

Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. El-Halfawy O, Valvano M.
Clin Microbiol Rev 2015;28:191-207

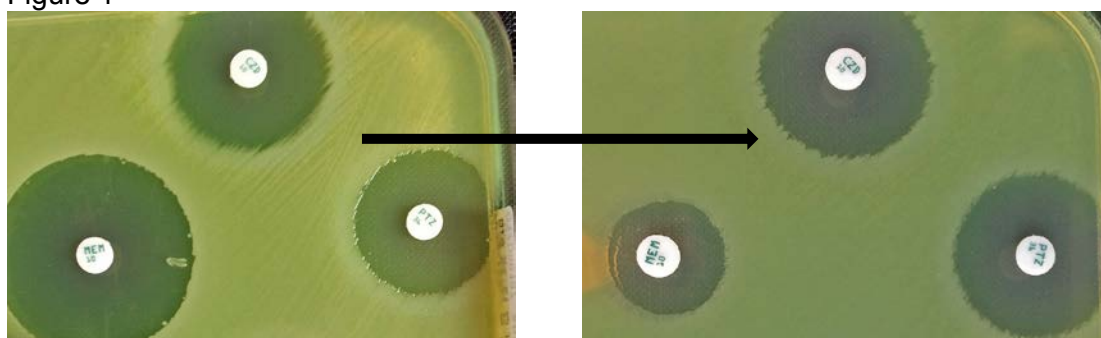
Efflux system overexpression and decreased OprD contribute to the carbapenem heterogeneity
in *Pseudomonas aeruginosa*. Ikonomidis A et al. *FEMS Microbiol Lett* (2008) 279 (1): 36-39

Commentaire pour l'isolat M/14592 (*P. aeruginosa*, enquête 1, 2017)
Geert Claeys, Jerina Boelens UZGent

- Suite à l'envoi de l'isolat 14592 (*P. aeruginosa*, enquête 1, 2017), et à des expériences précédentes, nous avons effectués les expérimentations suivantes à l'UZGent:
- Des colonies satellites comme décrites dans le rapport de l'enquête 1 de 2017 ont été repiquées des isolements de routine pour effectuer un nouvel antibiogramme: les colonies satellites autour du méropènem semblent résistantes au méropènem, les colonies satellites autour de la ceftazidime ou de la pipéracilline/tazobactame sont résistantes aux deux antibiotiques : voir figure 1.
- Un petit nombre de colonies satellites autour du méropènem, de la ceftazidime et de la pipéracilline/tazobactame sont retrouvées fréquemment pour *P. aeruginosa*. En outre on retrouve plus de colonies ou des colonies plus fréquentes quand l'inoculum est plus massif, quand l'antibiogramme est conservé à température ambiante... (déviations de procédures standardisées). Quand nous avons examiné de façon critique les 25 antibiogrammes successifs de *P. aeruginosa* –nous avons constaté un « tel phénomène » chez 50 % des souches.
- Si nous relisons les directives et le reading guide du CLSI et de l'EUCAST nous retrouvons quelques éléments sur les colonies satellites, mais ce n'est pas vraiment clair ce que nous devons réellement faire (voir figure 2).
- On peut souvent retrouver **des très petits nombres** de colonies satellites proches du bord d'inhibition, si vous mesurez la zone d'inhibition jusqu'à ce point, vous êtes souvent encore en dehors du breakpoint (et il ne faut donc pas l'interpréter comme R), parfois une colonie (isolée) se trouve plus proche du disque, et la question est s'il faut l'interpréter comme R: après une longue réflexion nous avons décidé à l'UZGent de ne pas le faire en cas d'infections « non-critiques » (urine, infection de plaie sans un grand impact sur le système), mais bien pour des infections critiques

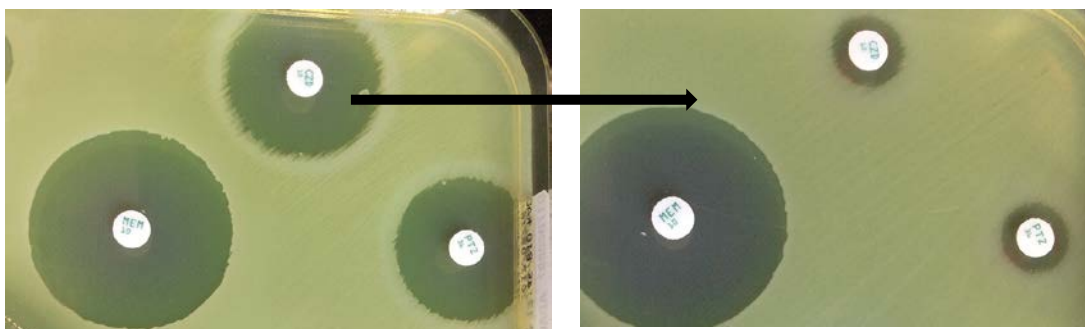
En plus on obtient toujours une résistance au méropènem ou à la pipéracilline/tazobactame + ceftazidime si on effectue un nouvel antibiogramme à partir du bord (intact) de la zone d'inhibition autour des disques des antibiotiques concernés même pour le *P. aeruginosa* ATCC 17853. Il existe donc toujours une sorte de menace de mutants R pour les bêta-lactamines

Figure 1



P. aeruginosa 001: Small colony (close to border) in inhibition zone around antibiogram (see photo on the right) (and left on room temperature -> larger colony next day)

P. aeruginosa 001, New Antibiogram =: meropenem-I (other meropenem disk. Colony taken for new isolates R), piptazo and ceftaz unaffected



P. aeruginosa 002 :small colony in ceftazidime inhibition zone. Colony taken for new antibiogram (see photo on the right) (and left meropenem on room temperature -> larger colony next day)

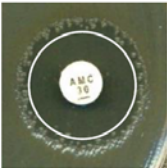

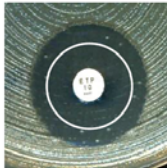
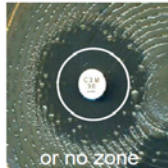
P. aeruginosa 002, New Antibiogram=: piptazo and ceftaz R(some isolates still S)

unaffected

Figure 2

Colonies within zone

- In case of distinct colonies within zones, check for purity and repeat the test if necessary.
- If cultures are pure, colonies within zones should be taken into account when measuring the diameter.

Reading of zones with colonies within the zone. 5

Comment :

< it is not mentioned in Eucast nor CLSI to retest from the extra colonies

(comment) From the EUCAST reading guide for disk diffusion testing:

Slide 5 : the result on 4th photograph can be interpreted as 2 possibilities (one is R, the other depend on the actual diameter)

En général nous concluons le suivant (à l'UZGent):

- AST should be repeated from new samples of patients with a previous susceptible isolate from *P. aeruginosa* ... : voir le texte complet ci-dessous (également valable pour quelques autres situations).
- Pour de telles souches contact avec le clinicien et/ou tenir compte avec la situation du patient; éventuellement conseiller d'autres antibiotiques (mais il n'y a pas beaucoup d'alternatives) et/ou un traitement combiné

3.11.3 Development of Resistance and Testing of Repeat Isolates

Isolates that are initially susceptible may become intermediate or resistant after initiation of therapy. Therefore, subsequent isolates of the same species from a similar body site should be tested in order to detect resistance that may have developed. This can occur within as little as three to four days and has been noted most frequently in *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia* spp. with third-generation cephalosporins; in *P. aeruginosa* with all antimicrobial agents; and in staphylococci with quinolones. For *S. aureus*, vancomycin-susceptible isolates may become vancomycin intermediate during the course of prolonged therapy.

In certain circumstances, testing of subsequent isolates to detect resistance that may have developed might be warranted earlier than within three to four days. The decision to do so requires knowledge of the specific situation and the severity of the patient's condition (eg, an isolate of *Enterobacter cloacae* from a blood culture on a premature infant). Laboratory guidelines on when to perform susceptibility testing on repeat isolates should be determined after consultation with the medical staff.

2.4 Culture M/14654 *Neisseria meningitidis*

Le Centre de référence National (NRC) des *Neisseria meningitidis* est responsable de la surveillance des infections invasives à méningocoques.

Une souche est considérée comme responsable de cette infection invasive que si elle est isolée d'un site normalement stérile (comme le sang, le liquide céphalorachidien etc). Le Centre suit la définition d'un cas émise par l'ECDC et fournie ci-dessous en bleu.

Par conséquent, une souche isolée des voies respiratoires ne rentre pas dans la définition d'un cas d'infection invasive à *Neisseria meningitidis* et ne doit pas être envoyée au centre de référence.

En effet, même si l'infection respiratoire est sévère, la souche isolée ne permettra pas d'établir la preuve qu'elle est à l'origine de cette infection. En effet 20% de la population est porteuse saine de *Neisseria meningitidis*. Ce portage est essentiellement localisé dans les voies respiratoires supérieures.

Case Definition of ECDC: To be considered as a case for our surveillance system, the following case definition must be met:

- *Neisseria meningitidis* must be isolated from a normally sterile site, such as blood, cerebrospinal fluid (CSF), pleural fluid, peritoneal fluid, pericardial fluid, surgical aspirate, bone, joint fluid, or internal body site (e.g., lymph node, brain)
- Detection of *Neisseria meningitidis* nucleic acid from a normally sterile site, including purpuric skin lesions
- Detection of *Neisseria meningitidis* antigen in CSF
- Detection of gram negative stained diplococcus in CSF;

Cependant si un laboratoire identifie une souche dans un prélèvement respiratoire ceci doit effectivement être communiqué au CNR. Comme mentionné ci-dessous, le CNR ne considérera pas cette souche comme responsable d'un cas d'infections invasives à méningocoques. Si le laboratoire transmet malgré tout la souche au CNR, il procédera néanmoins à son sérogroupage mais ne procédera pas à d'autres analyses en grande partie aussi parce que il ne reçoit pas de subvention pour l'analyse des souches ne répondant pas à la définition des cas de l'ECDC.

Comment le clinicien doit se positionner par rapport à l'isolement d'une souche dans les voies respiratoires?

Si une souche de *Neisseria meningitidis* est détectée dans les voies respiratoires basses (un compartiment pouvant être considéré comme stérile), une contamination en cours du prélèvement ne peut jamais être exclue à 100%. Néanmoins des cas rares de pneumonie aiguë sans tableau clinique typique d'infections invasives à méningocoques (tels que les pétéchies, signes méningées et chocs...) causées par *Neisseria meningitidis* ont déjà été décrits dans la littérature. Selon les lignes directrices reprises notamment dans « Clinical Microbiology Procedures Handbook (ASM press) » deux possibilités sont à envisager :

- 1) Soit la concentration des *Neisseria meningitidis* est inférieure à 10^3 CFU/ml (quantitative BAL), il faut alors considérer qu'il s'agit de la « flore microbienne »
- 2) Soit la concentration des *Neisseria meningitidis* est supérieure ou égal à 10^3 - 10^4 CFU/ml (quantitative BAL), une identification, la sensibilité aux antibiotiques et la détection des β -lactamase sont conseillées. Les typages sont alors faits sur demande. Comme mentionné ci-dessous, le laboratoire peut envoyer la souche (en mentionnant qu'il s'agit d'un prélèvement respiratoire) au CNR qui procédera alors à un sérogroupage.

Isolement et de prophylaxie :

Aucune ligne directrice à ce propos n'est à notre disposition. On assume que les règles en vigueur pour les autres agents microbiens responsables des pneumonies peuvent être appliquées.

Lorsqu'un patient fait une méningite à *Neisseria meningitidis*, est-ce parfois avec une souche dont il était porteur où est-ce toujours avec une souche exogène?

La communauté scientifique n'a actuellement pas une réponse toute faite à cette question. Ci-après vous trouverez ce qui est actuellement connu/publié dans ce domaine. Beaucoup de souches de portage (mais pas toutes) ne sont pas sérogroupables et sont/pourraient être considérées comme non invasives. Malgré tout, certaines souches de portage ont exactement toutes les caractéristiques des souches invasives et peuvent dès lors sans aucun doute provoquer une infection.

De plus, une publication récente (Loh et al., 2016 en fichier joint) a démontré l'existence d'une régulation fine de l'expression de protéine telle que fhpb (facteur de virulence) dont une régulation par la chaleur. Cette thermorégulation (par un système de RNA thermomètres) provoque une expression faible de la protéine fHbp dans les souches de portage situées dans le naso-pharynx (température entre 32-35°C). Une augmentation de la température du « futur patient » pourrait dès lors provoquer l'expression de cette protéine et favoriser l'entrée de la bactérie dans l'organisme.

Est-ce qu'un portage de *Neisseria meningitidis* augmente le risque de faire une méningite à *Neisseria meningitidis*?

Il faut noter que les porteurs asymptomatiques représentent de 5 à 25 % de la population générale. Cependant, le taux de portage varie fortement en fonction de l'âge : il est très bas (quelques pourcents) durant les premières années de la vie et augmente fortement chez les adolescents pour atteindre un taux maximum entre 20 et 24 ans (jusque 30%). Or les jeunes adolescents/ jeunes adultes sont également une des populations plus à risque dans le développement des infections invasives à méningocoques. Est-ce dû à ce portage plus conséquent ou à d'autres facteurs comme celui des contacts rapprochés ou une combinaison de ces facteurs? La communauté scientifique ne présente pas, à l'heure actuelle, une réponse claire à cette question.

La durée de portage du méningocoque varie de quelques jours jusqu'à 2 ans, (avec une moyenne de 9 mois) mais peut aussi se présenter sous forme intermittente. Après contamination la plupart des personnes deviennent porteur asymptomatique temporaire.

Cet avis a été émis par le CNR des *Neisseria meningitidis* avec la collaboration du Dr. R. Vanhoof.

Nous restons à votre entière disposition pour tout complément d'information concernant ce dossier.

Dr. Sophie Bertrand et Dr Raymond Vanhoof

Références

Loh E, Lavender H, Tan F, Tracy A, Tang CM (2016) Thermoregulation of Meningococcal fHbp, an Important Virulence Factor and Vaccine Antigen, Is Mediated by Anti-ribosomal Binding Site Sequences in the Open Reading Frame.

PLoS Pathog 12(8): e1005794. doi:10.1371/journal.ppat.1005794

III. Résultats des identifications

148 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 145 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 laboratoires étrangers et un laboratoire d'une firme. Ces 3 derniers n'ont pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

Même si le Toolkit prévoit la possibilité de répondre « sous-traité », nous vous conseillons d'utiliser cette réponse surtout si vous êtes « bloqué » dans les identifications. **Si en routine vous ne traitez pas une certaine origine d'échantillon** (p.ex. les hémocultures), **nous vous conseillons quand-même d'ensemencer de tels échantillons et de les identifier** (et d'effectuer l'antibiogramme éventuel): **en effet dans beaucoup de cas il s'agit de germes qui peuvent être retrouvés dans d'autres prélèvements.**

Nous voulons également répéter que si, pour quelque raison que ça soit, vous rencontrez des problèmes avec un échantillon donné, il vous est toujours possible de demander un second envoi au cours de l'enquête (ou après clôture pour contrôle de vos résultats).

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1. Culture M/6687 Non pathogène (groupe *Streptococcus anginosus*) (écouvillon de gorge)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Frottis de gorge d'un garçon de 3 ans; clinique: fièvre et mal de gorge chez le généraliste; coloration de Gram: quelques cellules épithéliales et polynucléaires et flore commensale orale.

Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine. »

<u>Absence de pathogènes</u>	57	39.3%
<u>Présence de commensaux</u>	19	13.1%
<i>Streptococcus constellatus</i>	32	
<i>Streptococcus constellatus ssp constellatus</i>	21	
<i>Streptococcus constellatus ssp pharyngis</i>	6	
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	
<i>Streptococcus</i> species groupe F	5	
Sous-traité	3	

Un certain nombre de laboratoires ont fourni cette réponse d'une remarque:

- Absence de pathogènes
 - o isolation de *Streptococcus constellatus* /groupe F: 16 labos
 - o absence = absence de streptocoques de groupe A, C et G: 1 labo
 - o absence = absence de *Streptococcus pyogenes*: 1 labo
 - o absence = absence van streptocoques β -hémolytiques et *Arcanobacterium*: 1 labo
 - o mais bien présence de commensaux: 2 labos
- Présence de commensaux
 - o isolation de *Streptococcus constellatus/anginosus*/groupe F: 7 labos
 - o isolation de *Streptococcus agalactiae*: 1 labo
 - o la signification n'est pas claire: 1 labo
- *Streptococcus constellatus/anginosus*/groupe F
 - o Le germe n'est pas pathogène: 10 labos
 - o Contact avec le prescripteur est nécessaire: 1 labo
 - o Le germe peut être pathogène (pharyngite, abcès des amygdales, culture pure): 14 labos

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

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	2
Sous-traité	3
N'est pas envoyé	140
Total	145

3.2. Culture M/14218 *Staphylococcus lugdunensis* (pus pied diabétique)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Une patiente diabétique de 65 ans a depuis longtemps une plaie au pied droit. Récemment la situation s'est aggravée. On prélève un échantillon en profondeur. La coloration de Gram montre de multiples cellules polynucléaires et des coques à Gram positif.

Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine et n'effectuer un antibiogramme que si vous le feriez en routine. »

<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	139	95.9%
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> + <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0.7%
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> + commensal ¹	1	0.7%
Staphylocoque à coagulase négative	1	
Présence de commensaux	1	
Sous-traité	2	

¹ Ce laboratoire a précisé que le commensal était un *Staphylococcus haemolyticus*

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	1
Dans un but épidémiologique	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	6
Sous-traité	2
N'est pas envoyé	135
Total	145

3.3. Culture M/14592 *Pseudomonas aeruginosa* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Un patient de 70 ans est admis à l'hôpital avec une forte fièvre, un état confus et une malaise générale. 3 sets d'hémoculture sont positifs.

Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine et n'effectuer un antibiogramme que si vous le feriez en routine. »

Le nombre de résultats pour cet échantillon n'est que 144 : un laboratoire n'a pas donné de réponse.

<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	141	97.9%
Sous-traité	3	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	1
Sous-traité	3
Autre raison non précisée	1
N'est pas envoyé	138
Total	144

3.4. Culture M/14654 *Neisseria meningitidis* (lavage broncho-alvéolaire)

Le centre de référence a confirmé qu'il s'agit d'un sérotype Y

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Un lavage broncho-alvéolaire est prélevé chez un patient qui est admis aux Soins Intensifs avec une pneumonie.

Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine. »

<u><i>Neisseria meningitidis</i></u>	126	86.9%
<u><i>Neisseria meningitidis</i> sérotype Y</u>	5	3.4%
<u><i>Neisseria meningitidis</i> sérotype W135</u>	2	1.4%
Absence de pathogènes	5	
Présence de commensaux	2	
Staphylocoque à coagulase négative	1	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	
Sous-traité	2	

Un certain nombre de laboratoires ont fourni cette réponse d'une remarque:

- Absence de pathogènes
 - o isolation de *Neisseria meningitidis*, ne pas considérer comme pathogène: 4 labos
 - o isolation de *Neisseria* species, ne pas considérer comme pathogène: 1 labo
- *Neisseria meningitidis*
 - o La pneumonie par *Neisseria meningitidis* est décrite: 7 labos
 - o *Neisseria meningitidis* est connu comme commensal des voies respiratoires /le portage de *Neisseria meningitidis* est connu mais il faut évaluer le résultat en fonction de la clinique: 7 labos
 - o Contact avec le prescripteur est nécessaire: 4 labos
 - o Un examen supplémentaire du LBA est nécessaire: 2 labos
 - o Les résultats du sang et du liquide céphalo-rachidien sont nécessaires: 1 labo

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + sérotypage	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	24
Dans un but épidémiologique + sérotypage	3
Dans un but épidémiologique + autre raison non précisée	1
Dans un but épidémiologique	43
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	10
Sérotypage	1
Déclaration obligatoire	1
Sous-traité	2
Autre raison non précisée	1
N'est pas envoyé	58
Total	145

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. La dernière colonne du tableau 1 indique les labos qui ont mentionné ne pas transférer le résultat de l'antibiotique concerné en

routine au clinicien: il est en effet possible qu'un laboratoire teste certains antibiotiques mais qu'il ne transfère pas (systématiquement) le résultat au clinicien mais uniquement dans certaines circonstances (p.ex. en tenant compte des résultats d'autres antibiotiques, ou l'utilisation d'un antibiotique comme marqueur pour d'autres antibiotiques,...).

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

Pour l'échantillon M/14218, 4 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme: les 2 laboratoires qui ont mentionné qu'ils sous-traitaient ce type d'échantillons, le laboratoire qui a répondu « commensaux » et le laboratoire qui a répondu « Staphylocoque à coagulase négative »

Pour l'échantillon M/14592, 4 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme: les 3 laboratoires qui ont mentionné qu'ils sous-traitaient les hémocultures et 1 laboratoire qui n'a pas mentionné pourquoi il ne détermine pas d'antibiogramme.

4.1. Culture M/14218 *Streptococcus lugdunensis*

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

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques; uniquement pour la vancomycine, il y avait des résultats différents entre ces différentes techniques : dans ces cas, nous avons choisis de présenter le résultat de la CMI dans le tableau 4.1.1.

Six laboratoires ont mentionné que la PBP2a est positive et 3 laboratoires que le gène *mecA* est positif. Plusieurs laboratoires ont mentionné explicitement que l'échantillon serait envoyé au centre de référence pour contrôler la résistance à l'oxacilline et/ou à la céfoxitine.

Tableau 4.1.1 Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas de routine
Oxacilline	R	125	4	-	121	4
Céfoxitine	R	120	9	-	111	69
Erythromycine	R	140	-	-	140	7
Gentamicine	S	133	132	-	1	21
Amikacine ¹	S	4	4	-	-	-
Kanamycine ²	S	1	1	-	-	1
Tobramycine ²	S	1	1	-	-	1
Clindamycine	R	139	-	-	139	1
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	S	137	137	-	-	8
Vancomycine	S	129	129	-	-	10
Teicoplanine ³	S	2	2	-	-	-

¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine et à l'amikacine; 3 laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine au lieu de la gentamicine.

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine, à la kanamycine et à la tobramycine.

³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la vancomycine et à la teicoplanine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.7. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats des laboratoires ayant lu le diamètre des disques en papier manuellement sont repris dans le tableau 4.1.2. Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Adagio pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans le tableau 4.1.3. Etant donné le nombre limité d'utilisateurs de cette dernière méthode pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont

pas été calculés (nombre de participants minimum nécessaire pour analyse statistique = 6 pour au moins 1 antibiotique).

Un laboratoire a utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier avec comme résultats « R » pour l'oxacilline, l'érythromycine, la gentamicine et la clindamicine et « S » pour la céfoxitine, le triméthopime- sulfaméthoxazole et la vancomycine.

Tableau 4.1.2 Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensi*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Oxacilline	5 (5)	1	6	5 – 8	-	-	5
Céfoxitine	39 (39)	30	19	12 – 24	4	-	35
Erythromycine	24 (24)	15	6	5 – 8	-	-	24
Gentamicine	21 (21)	10	30	22 – 37	21	-	-
Amikacine	1 (1)	30	25	-	1	-	-
Clindamycine	24 (24)	2	6	5 – 8	-	-	24
Triméthopime-sulfaméthoxazole	22 (24)	1.25 + 23.75	30	19 – 35	24	-	-
Vancomycine	4 (4)	30	22.5	19 – 25	4	-	-

Etant donné que les résultats « S » ont principalement été obtenus avec les disques de la firme BioRad, cette firme a fait une enquête; vous trouverez les résultats de leur examen ci-dessous.

Customer complaint case number

C01176287, C01176909, C01185170, C01223353
 Linked to IDD Bio-Rad parent case C01186687

Description of complaint

Cefoxitin disk 30 µg, PN 98228 - wrong resistance pattern (S instead of R) reported on external QC scheme with a *Staphylococcus lugdunensis* strain.

AST result with Bio-Rad Cefoxitin 30µg disk has given a sensitive categorization for a Staph Coagulase negative- *S. lugdunensis*, 2017 EQC ISP Brussels - expected as a resistant strain. This was reported by 4 customers in Belgium following a 2017 EQC by Public Health Institute in Belgium (Brussels). Lots in use in customers laboratories : 6F5213, 6K5215. The *S. lugdunensis*, 2017 EQC ISP Brussels strain was returned by one of the concerned customer to Bio-Rad on 2017/04/18.

Investigation

Preliminary report 5/05 showed QC controls of discs are conform for the concerned lots for retention cartridges and customer's returned ones. The returned 2017 EQC strain has given the same results as the customer ones (23-24 mm). We need to go further to identify if it is linked to the strain itself.

Objective:

Check again the affected lots (8F6213 and 8K6126) by comparison of a fresh lot number on a *S. aureus* strain of our routine control, the concerned *S. lugdunensis* strain and a *S. lugdunensis* strain from R & D and comparison with competitors discs.

Inoculum preparation

EUCAST QC strain *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (0,6 Mao Farland)
Staphylococcus lugdunensis 2017 EQC (returned by the customer) (0,6 Mao Farland)
Staphylococcus lugdunensis RDC 886 from Bio-Rad Steenvoorde R&D (0,6 Mao Farland)

Results:

A&T reading on 2017/08/01

		Cefoxitin 30 µg disk	Bio-Rad Fresh lot 7B6218 exp. date 2018/02/28	Bio-Rad claimed lot 8F6213 exp. date 2018/06/15	Bio-Rad claimed lot 8K6215 exp. date 2018/10/15	Competitor OXOID lot 1541070 exp. date 2017/08	Competitor SIRSCAN lot 140404A exp. date 2016/05
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	24-30	1	26	27	27	26	26
		2	26	26	26		
		3	26	26	26		
		Moy	26	26,3	26,3	26	25
<i>S. lugdunensis</i> "2017 EQC returned by the customer"	R Ø <22	1	25	25	25	24	23
		2	26	25	25		
		3	25	26	25		
		Moy	25,3	25,3	25,0	24,0	23,0
<i>S. lugdunensis</i> RDC 886 Bio-Rad R&D	R Ø <22	1	33	32	33	33	32
		2	33	32	33		
		3	33	32	33		
		Moy	33	32	33	33	32

Conclusion :

Investigations have been completed with A&T results with competitors' discs : the 2017 EQC strain shows the same diameters (23 -24 mm), just above the critical breakpoint (22 mm) and then it is still categorized as sensitive. Then we conclude results with discs diffusion are linked to the strain itself. Moreover the EUCAST QC strain *S. aureus* ATCC 29213 shows conform diameters with all discs. No significant difference is observed with competitors discs. There is no quality issue on Bio-Rad cefoxitin 30µg disks.

Tableau 4.1.3 Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Oxacilline	1	1	-	-
Céfoxitine	5	2	-	3
Erythromycine	4	-	-	4
Gentamicine	3	3	-	-
Amikacine	1	1	-	-
Clindamycine	5	-	-	5
Triméthopri- sulfaméthoxazole	5	5	-	-
Vancomycine	1	1	-	-

Dans le tableau 4.1.4 nous mentionnons pour les disques Neosensitabs (charges nouvelles, « new ») les résultats obtenus par lecture manuelle.

Trois laboratoires ont lu les résultats des disques Neosensitabs avec charges nouvelles l'appareil Sirscan: un laboratoire pour la céfoxitine (« R »), l'érythromycine (« R »), la gentamicine (« S »), la clindamycine (« R ») et le triméthopri-sulfaméthoxazole (« S »); un laboratoire pour céfoxitine (« R »), l'érythromycine (« R »), l'amikacine (« S »), clindamycine (« R ») et le triméthopri-sulfaméthoxazole (« S ») et un laboratoire pour l'oxacilline (« R »), l'érythromycine (« R »), la gentamicine (« S »), le triméthopri-sulfaméthoxazole (« S ») et la vancomycine (« S »).

Un laboratoire a utilisé l'appareil Neosensitabs avec charges (« old ») pour l'interprétation du diamètre de l'oxacilline (« R »).

Tableau 4.1.4 Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Oxacilline	3 (3)	1	10	9 – 10	-	-	3
Céfoxitine	11 (11)	30	20	14 – 21	-	-	11
Erythromycine	8 (8)	15	9	9 – 10	-	-	8
Gentamicine	5 (6)	10	31	28 – 43	6	-	-
Clindamycine	8 (8)	2	9	9 – 10	-	-	8
Triméthopri- sulfaméthoxazole	8 (8)	1.25 + 23.75	32	28 – 40	8	-	-
Vancomycine	4 (5)	30	20	18 – 20	5	-	-

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.1.5 Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Oxacilline	3	3 x R	12 mg/L; 16 mg/L; 24 mg/L
Céfoxitine	1	1 x R	8 mg/L
Erythromycine	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	0.023 mg/L; 0.064 mg/L
Clindamycine	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Triméthoprimé-sulfaméthoxazole	2	2 x S	0.064 mg/L; 1.88 mg/L
Vancomycine	14	14 x S	5 x 0.5 mg/L; 5 x 0.75 mg/L; 2 x 1 mg/L; 2 x 1.5 mg/L

Quatre laboratoires ont utilisé le MIC test Strip pour la détermination de la sensibilité à la vancomycine; tous ont obtenu un résultat « S » (valeur de CMI: 2 x 0.5 mg/L; 0.75 mg/L; 1 mg/L).

Les résultats obtenus avec le Vitek sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

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		
Oxacilline	-	-	58	≥ 4	53 (58)	-	-	31	≥ 4	28 (31)
Céfoxitine	-	-	33	‡	(33)	-	-	18	‡	(18)
Erythromycine	-	-	58	≥ 8	56 (58)	-	-	31	≥ 8	29 (31)
Gentamicine	57	-	-	≤ 0.5	57 (57)	31	-	-	≤ 0.5	30 (31)
Kanamycine	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 4	1 (1)
Tobramycine	-	-	-	-	-	1	-	-	≤ 1	1 (1)
Clindamycine	-	-	58	≥ 4	29 (58)	-	-	30	≥ 4	16 (30)
Triméthoprimé-sulfaméthoxazole	58	-	-	≤ 10	58 (58)	27	-	-	≤ 10	26 (27)
Vancomycine	55	-	-	≤ 0.5	45 (55)	28	-	-	≤ 0.5	25 (28)
Teicoplanine	1	-	-	≤ 0.5	1 (1)	1	-	-	≤ 0.5	1 (1)

‡ Le Vitek ne donne pas de résultat quantitatif pour la céfoxitine mais la réponse du dépistage à la céfoxitine est mentionné comme positif ou négatif (pour des raisons de simplicité nous avons repris « négatif » comme « S » et « positif » comme « R »).

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'oxacilline, 3 laboratoires ont mentionné une CMI ≥ 0.5 mg/L et 2 laboratoires une CMI > 2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, un laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.25 mg/L, un laboratoire une CMI ≥ 0.5 mg/L et un laboratoire une CMI > 2 mg/L
- pour l'érythromycine, 2 laboratoires ont mentionné une CMI > 4 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, un laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.25 mg/L et un laboratoire une CMI > 4 mg/L
- pour la gentamicine, un laboratoire a mentionné une CMI ≥ 16 mg/L pour le Vitek 2 compact

- pour la clindamycine, 2 laboratoires ont mentionné une CMI >2 mg/L, 26 laboratoires une CMI ≥8 mg/L et un laboratoire une CMI >16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, un laboratoire a mentionné une CMI ≤0.125 mg/L, un laboratoire une CMI ≥0.4 mg/L et 12 laboratoires une CMI ≥8 mg/L
- pour le triméthoprimé-sulfaméthoxazole, un laboratoire a mentionné une CMI ≥320 mg/L pour le Vitek 2 compact
- pour la vancomycine, un laboratoire a mentionné une CMI ≤0.05 mg/L et 9 laboratoires une CMI de 1 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, 3 laboratoires ont mentionné de 1 mg/L

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/14218 (*Staphylococcus lugdunensis*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Oxacilline	1	-	18	>2	18 (19)
Céfoxitine	2	-	15	≥8	9 (17)
Erythromycine	-	-	19	>2	18 (19)
Gentamicine	19	-	-	≤1	19 (19)
Amikacine	1	-	-	≤8	1 (1)
Clindamycine	-	-	19	>1	19 (19)
Triméthoprimé-sulfaméthoxazole	19	-	-	≤1/19	12 (19)
Vancomycine	19	-	-	≤0.5	12 (19)

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'oxacilline, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 2 mg/L (il s'agit du laboratoire qui a répondu « S »)
- pour la céfoxitine, 8 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L
- pour l'érythromycine, 1 laboratoire a mentionné une CMI >4 mg/L
- pour le triméthoprimé-sulfaméthoxazole, 6 laboratoires ont mentionné une CMI ≤1 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤0.5 mg/L
- pour la vancomycine, 6 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 2 mg/L

Un laboratoire a utilisé la méthode ATB pour la détermination de la sensibilité: il a obtenu un résultat « R » pour l'oxacilline, la céfoxitine, l'érythromycine et la clindamicine et un résultat « S » pour la gentamicine, le triméthoprimé-sulfaméthoxazole et la vancomycine.

Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité: un des deux laboratoires pour l'oxacilline, l'érythromycine et la clindamicine (toutes les 3 « R »), la gentamicine, le triméthoprimé-sulfaméthoxazole et la vancomycine (tous les 3 « S ») et l'autre pour l'oxacilline, la céfoxitine, l'érythromycine et la clindamicine (toutes les 4 « R »), la gentamicine, le triméthoprimé-sulfaméthoxazole et la vancomycine (tous les 3 « S »).

Un laboratoire a utilisé la méthode de microdilution pour la détermination de la sensibilité: il a obtenu un résultat « R » pour l'oxacilline, la céfoxitine, l'érythromycine et la clindamicine et un résultat « S » pour la gentamicine, le triméthoprimé-sulfaméthoxazole et la vancomycine.

Il reste à mentionner que 5 laboratoires ont indiqué que le résultat pour la l'oxacilline a été dérivé du résultat de la céfoxitine : 3 ont obtenu le résultat « R » et 2 le résultat « S ».

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse finale, en se basant sur des règles d'expertise ou non:

- L'oxacilline:
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - o I→R
 - Neosensitabs (nouvelles charges), lus avec le Sirscan: 1 labo
 - o R→S
 - Adagio: 1 labo (également sur base des résultats de la céfoxitine)
- La céfoxitine
 - o S→R
 - Disques en papier: 2 labos
 - Vitek 2: 2 labos
 - Phoenix: 6 labos (1 également sur base des résultats d'autres techniques)

4.2. Culture M/14592 *Pseudomonas aeruginosa*

Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'EEQ 2009/3 sous le numéro M/9720. L'échantillon a été ré-évalué afin de contrôler dans quelle mesure la croissance de l'utilisation des directives de l'EUCAST influence les interprétations des laboratoires. A l'occasion de l'enquête 2009/3, 2.5% des laboratoires ont mentionné utiliser les directives de l'EUCAST; à l'occasion de l'EEQ 2017/1 ce pourcentage était de 62%.

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

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons repris pour la pipéracilline-tazobactame, le résultat que les laboratoires ont indiqué de répondre comme résultat final ; pour la ceftazidime, nous avons choisi de présenter le résultat indiquant la plus grande résistance dans le tableau suivant.

Tableau 4.2.1 Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas de routine
Pipéracilline-tazobactame	S	131	69	23	39	8
Ceftazidime	S	141	106	31	4	3
Céfotaxime ¹		1	-	-	1	1
Céfuroxime ¹		1	-	-	1	1
Céfépime ^{1,2}		7	6	1	-	2
Méropénem	S	137	136	-	1	25
Amikacine	S	127	126	-	1	7
Gentamicine	S	126	126	-	-	24
Tobramycine	S	71	71	-	-	20
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	117	117	-	-	2
Lévofloxacine	S	20	14	5	1	1
Norfloxacine		2	2	-	-	-
Ofloxacine		1	-	1	-	-

¹ Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime, la sensibilité à la céfotaxime, la céfuroxime et la céfépime.

² Un plus du laboratoire mentionné ci-dessus, 6 autres laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime, la sensibilité à la céfépime

Vous trouverez ci-dessous la distribution des 3 « catégories de résistance » “ (S, I, R) par directive, pour les 2 antibiotiques (la pipéracilline-tazobactame et la ceftazidime) pour lesquels ces catégories ont été répondues:

La pipéracilline-tazobactame:

CLSI (N = 46): 47.8% S, 43.5% I et 8.7% R

EUCAST (N = 80): 55.0% S, 2.5% I et 42.5% R

La ceftazidime:

CLSI (N = 48): 62.5% S et 37.5% I

EUCAST (N = 88): 81.8% S, 13.6% I et 4.5% R

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.8. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats des laboratoires ayant lu le diamètre des disques en papier manuellement sont repris dans le tableau 4.2.2. Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Adagio pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans le tableau 4.2.3. Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier: un des deux pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime, le méropénem, l'amikacine, la gentamicine, la tobramycine, la ciprofloxacine et la lévofloxacine (tous « S »); l'autre laboratoire pour la pipéracilline-tazobactame, le méropénem, la gentamicine, la ciprofloxacine (tous les 4 « S »), la ceftazidime et l'amikacine (toutes les 2 « R »).

Tableau 4.2.2 Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame ¹	(7)				7	-	-
	4	30 + 6	19	18 – 19	4	-	-
	3	100 + 10	22	22 – 23	3	-	-
Ceftazidime ¹	(7)				7	-	-
	6	10	22	20 – 24	6	-	-
	1	30	22	-	1	-	-
Méropénem	6 (6)	10	30	28 – 31	6	-	-
Amikacine	6 (6)	30	22	21 – 24	6	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	18	17 – 22	5	-	-
Tobramycine	5 (5)	10	22	21 – 23	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	7 (7)	5	30	27 – 34	7	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	18	-	-	1	-
Norfloxacine	1 (1)	10	28	-	1	-	-
Ofloxacine	1 (1)	5	24	-	-	1	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

Tableau 4.2.3 Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame ¹	(7)				7	-	-
	4	30 + 6	19	18 – 19	4	-	-
	3	100 + 10	22	22 – 23	3	-	-
Ceftazidime ¹	(7)				7	-	-
	6	10	22	20 – 24	6	-	-
	1	30	22	-	1	-	-
Méropénem	6 (6)	10	30	28 – 31	6	-	-
Amikacine	6 (6)	30	22	21 – 24	6	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	18	17 – 22	5	-	-
Tobramycine	5 (5)	10	22	21 – 23	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	7 (7)	5	30	27 – 34	7	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	18	-	-	1	-
Norfloxacine	1 (1)	10	28	-	1	-	-
Ofloxacine	1 (1)	5	24	-	-	1	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

Dans le tableau 4.2.4 nous mentionnons pour les disques Neosensitabs (charges nouvelles, « new ») les résultats obtenus par lecture manuelle. Dans le tableau 4.2.5 nous mentionnons pour les disques Neosensitabs avec charges nouvelles, les résultats obtenus avec l'appareil Sirscan. Etant donné le nombre limité d'utilisateurs du Sirscan pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

Trois laboratoires ont lu les résultats des disques Neosensitabs avec charges classiques Neosensitabs (« old ») par lecture manuelle : un laboratoire pour la ceftazidime et la céfépime (les 2 résultats « S ») et 2 laboratoires pour la tobramycine (avec un résultat « S » pour ces 2 laboratoires).

Un laboratoire a utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres des Neosensitabs avec charges classiques pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime, le méropénem, l'amikacine, la gentamicine et la ciprofloxacine (tous « S »).

Tableau 4.2.4 Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame [†]	(11)				8	2	1
	2	30 + 6	18	17 – 19	1	-	1
Ceftazidime [†]	8 (10)	100 + 10	24	19 – 30	6	2	-
	2	10	19	18 – 20	2	-	-
Méropénem	8 (11)	30	22	16 – 24	7	1	-
Amikacine	11 (11)	10	33	30 – 40	11	-	-
Gentamicine	11 (11)	30	24	22 – 26	11	-	-
Tobramycine	6 (6)	10	20	17 – 35	6	-	-
Quinolone	4 (4)	10	23.5	23 – 24	4	-	-
Ciprofloxacine	8 (8)	5	26	22 – 35	8	-	-
Lévofloxacine	2 (2)	5	20.5	18 – 23	2	-	-

[†] Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

Tableau 4.2.5 R Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat (Nombre total)		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	3	3	-	-
Ceftazidime	3	3	-	-
Méropénem	3	3	-	-
Amikacine	3	3	-	-
Gentamicine	1	1	-	-
Tobramycine	1	1	-	-
Quinolone				
Ciprofloxacine	2	2	-	-
Lévofloxacine	1	-	-	1

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.6 Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Pipéracilline-tazobactame	2	2 x S	8 mg/L; 16mg/L
Ceftazidime	4	4 x S	1.5 mg/L; 3 x 2 mg/L
Méropénem	2	2 x S	0.125 mg/L; 0.19 mg/L
Amikacine	2	2 x S	3 mg/L; 4 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	1 mg/L; 1.5 mg/L
Tobramycine	2	2 x S	0.50 mg/L; 0.75 mg/L
Quinolone			
Ciprofloxacine	2	2 x S	0.125 mg/L; 0.25 mg/L
Lévofloxacine	1	1 x S	1 mg/L

Un laboratoire a utilisé le test MICE pour la détermination de la sensibilité au méropénem: résultat « S » (valeur de CMI de 0.12 mg/L).

Deux laboratoires ont utilisé le MIC test Strip pour la détermination de la sensibilité : un laboratoire pour la ceftazidime (résultat « S »; valeur de CMI de 4 mg/L) et un laboratoire pour le méropénem (résultat « R »; valeur de CMI de 32 mg/L).

Les résultats obtenus avec le Vitek sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.7 Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Pipéracilline-tazobactame	3	15	19	32	36 (37)	4	6	15	≥32	25 (25)
Ceftazidime	21	20	1	4 en 8	19 en 19 (42)	17	10	1	4	14 (28)
Céfotaxime	-	-	-	-	-	-	-	1	>32	1 (1)
Céfuroxime	-	-	-	-	-	-	-	1	>32	1 (1)
Céfépime	4	1	-	8	5 (5)	1	-	-	8	1 (1)
Méropénem	40	-	-	≤0.25	40 (40)	27	-	-	≤0.25	27 (27)
Amikacine	34	-	-	≤2	33 (34)	25	-	-	≤2	24 (25)
Gentamicine	37	-	-	≤1	37 (37)	28	-	-	≤1	27 (28)
Tobramycine	15	-	-	≤1	15 (15)	8	-	-	≤1	8 (8)
Quinolone										
Ciprofloxacine	35	-	-	≤0.25	26 (35)	19	-	-	≤0.25	15 (19)
Lévofloxacine	6	-	-	2	3 (6)	2	1	-	2	2 (3)
Norfloxacine	-	-	-	-	-	1	-	-	2	1 (1)

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pipéracilline-tazobactame, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥128 mg/L pour le Vitek 2

- pour la ceftazidime, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 2 mg/L et 3 laboratoires une CMI de 16 mg/ pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, 10 laboratoires ont mentionné une CMI de 8 mg/L, 3 laboratoires une CMI de 16 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≥ 64 mg/L
- pour le méropénem, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥ 64 mg/L
- pour la gentamicine, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥ 16 mg/L pour le Vitek 2;
- pour la ciprofloxacine, 9 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, 4 laboratoires ont mentionné une CMI de 5 mg/L
- pour la lévofloxacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.25 mg/L et 2 laboratoires une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact, un laboratoire a mentionné une CMI de 1 mg/L

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon MI/14592 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pipéracilline-tazobactame	17	-	-	16/4	16 (17)
Ceftazidime	17	-	-	8	9 (17)
Méropénem	17	-	-	0.25	17 (17)
Amikacine	17	-	-	≤ 4	17 (17)
Gentamicine	16	-	-	≤ 1	14 (16)
Tobramycine	15	-	-	≤ 1	15 (15)
Quinolone					
Ciprofloxacine	15	-	-	0.5	12 (15)
Lévofloxacine	1	2	-	2	2 (3)

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pipéracilline-tazobactame, 1 laboratoire a mentionné une CMI $< 16/4$ mg/L
- pour la ceftazidime, 8 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L
- pour la gentamicine, 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 2 mg/L
- pour la ciprofloxacine, 3 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.25 mg/L
- pour la lévofloxacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 1 mg/L

Un laboratoire a utilisé la méthode ATB pour la détermination de la sensibilité: il a obtenu un résultat « S » pour la ceftazidime, le méropénem, l'amikacine, la gentamicine, la tobramycine et la ciprofloxacine.

Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité: un des deux laboratoires pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime, le méropénem, l'amikacine, la gentamicine, la tobramycine et la lévofloxacine (tous les résultats « S ») et l'autre pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime, le méropénem, l'amikacine et la ciprofloxacine (tous les résultats « S »).

Un laboratoire a utilisé la méthode de microdilution pour la détermination de la sensibilité pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime, le méropénem, l'amikacine, la gentamicine, la tobramycine et la ciprofloxacine (tous les résultats « S »).

Il reste à mentionner que 1 laboratoire a indiqué que le résultat « S » pour la lévofloxacine a été dérivé du résultat de la ciprofloxacine.

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse finale, en se basant sur des règles d'expertise ou non:

- La pipéracilline-tazobactame:
 - o S→R
 - Disques en papier: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques) (Directives (Dir): EUCAST)
 - Vitek 2: 1 labo (Dir: CLSI)
 - o S→I
 - Vitek 2: 6 labos (1 également sur base des résultats d'autres techniques) (Dir: CLSI)
 - Vitek 2 compact: 4 labos (1 également sur base des résultats d'autres techniques) (Dir: 3 CLSI, 1 FDA)
 - o R→I
 - Vitek 2: 1 labo (Dir: EUCAST)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (Dir: EUCAST)
 - o R→S
 - Vitek 2: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques) (Dir: EUCAST)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques) (Dir: non-CLSI, non-EUCAST)
- La ceftazidime
 - o S→I
 - Vitek 2: 15 labos (Dir: 8 CLSI, 7 EUCAST)
 - Vitek 2 compact: 7 labos (1 également sur base des résultats d'autres techniques) (Dir: 4 EUCAST, 2 CLSI, 1 non-CLSI, non-EUCAST)
- La céfépime
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques) (Dir: CLSI)

5.1 Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang ont été envoyés.

160 laboratoires ont participé à l'enquête.

Si vous souhaitez répondre plusieurs stades d'évolution d'un même parasite pour un échantillon, vous pouvez introduire ce même parasite 2 (ou 3) fois par échantillon avec chaque fois un autre stade d'évolution.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/14250

Un homme de 50 ans a rendu visite à sa fille qui fait un stage dans la forêt amazonienne brésilienne. Il n'a pas pris de prophylaxie anti-malaria. Une semaine après son retour il a de la fièvre et des signes de malaise général.

P/14630

Un homme de 40 ans se présente 4 mois après son retour du Togo à la consultation pour la médecine de voyage. Depuis 8 jours il a tous les 2 jours de la fièvre et un mal de tête.

L'échantillon P/14250 était négatif : il ne contenait pas de parasites.

L'échantillon P/14630 contenait des trophozoïtes et des (rares) gamétocytes de *Plasmodium ovale*.

Les laboratoires avec des numéros d'agrément pairs et impairs ont reçu le même échantillon ; cependant les laboratoires pairs ont reçu un échantillon prélevé sur K-EDTA et les laboratoires impairs un échantillon prélevé sur héparine.

Le résultat de l'échantillon P/14630 a été confirmé par PCR.

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

5.2 Les résultats pour l'échantillon P/14250

Les 160 laboratoires ont encodé 160 réponses. 157 laboratoires ont répondu « absence de parasites » et 3 laboratoires ont mentionné la présence d'un parasite.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1 Résultats pour l'échantillon P/14250

Résultat	Nombre
Absence de parasites	157
<i>Plasmodium falciparum</i>	1
<i>Plasmodium malariae</i>	1
<i>Plasmodium ovale</i>	1
Total	160

Le laboratoire qui a répondu « *P. ovale* », a probablement inversé les 2 échantillons: en effet, pour l'échantillon P/14630 ce laboratoire a répondu « absence de parasites ».

Trois laboratoires ont mentionné qu'en routine ils effectuent également un test d'antigène et 2 laboratoires ont mentionné qu'ils demanderaient un échantillon de contrôle. Deux laboratoires conseillent d'effectuer la sérologie (surtout virale); un laboratoire conseille d'effectuer la sérologie, demande un échantillon de contrôle et envoie l'échantillon au centre de référence.

8 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence: le laboratoire qui a répondu « *P. ovale* » et 7 laboratoires qui ont répondu « absence de parasites ». Parmi ces 7 on retrouve le laboratoire mentionné dans le paragraphe précédent et un laboratoire qui a mentionné avoir aperçu quelques éléments suspects.

5.3 Les résultats pour l'échantillon P/14630

Etant donné que nous n'avons pas remarqué des différences majeures entre les résultats obtenus par les laboratoires ayant reçu les échantillons prélevés sur K-EDTA et les laboratoires ayant reçu les échantillons prélevés sur héparine, les résultats de cet échantillon sont évalués en global. 159 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 1 laboratoire a répondu « absence de parasites ».

Les réponses sont reprises dans les tableaux suivants :

Tableau 5.3.1 Résultats pour l'échantillon P/14630

Résultat	Nombre
<i>Plasmodium ovale</i>	98
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	46
<i>Plasmodium malariae</i>	4
<i>Plasmodium vivax</i>	2
<i>Plasmodium falciparum</i>	8
<i>Plasmodium species</i>	1
Absence de parasites	1
Total	160

Le laboratoire qui a répondu « absence de parasites », a probablement inversé les 2 échantillons (cfr. chapitre 5.2).

Comme déjà mentionné plus haut, les résultats obtenus par les laboratoires ayant reçu les échantillons prélevés sur K-EDTA et les laboratoires ayant reçu les échantillons prélevés sur héparine sont semblables :

- laboratoires pairs (prélèvement sur K-EDTA) (N total = 93): 56 *P. ovale*, 28 *P. non-falciparum*, 2 *P. malariae*, 6 *P. falciparum* et 1 absence de parasites.
- laboratoires impairs (prélèvement sur héparine) (N total = 67): 42 *P. ovale*, 18 *P. non-falciparum*, 2 *P. malariae*, 2 *P. vivax*, 2 *P. falciparum* et 1 *Plasmodium species*

Un laboratoire qui a répondu *P. ovale*, a mentionné qu'une infection mixte avec *P. malariae* ne peut pas être exclue; deux laboratoires ont mentionné qu'il pourrait également s'agir d'un *P. malariae* et un laboratoire qu'il pourrait s'agir d'un *P. vivax*.

21 des laboratoires ayant répondu *Plasmodium non-falciparum*, ont mentionné qu'il s'agit probablement d'un *P. ovale*, un laboratoire qu'il s'agit probablement d'un *P. malariae* et un laboratoire qu'il s'agit probablement d'un *P. vivax*.

Le laboratoire qui a répondu *Plasmodium species*, a mentionné qu'il s'agit probablement d'un *P. ovale*.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium ovale* sont repris dans le tableau 5.3.2. 58 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution, 32 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution et 8 laboratoires ont mentionné 3 stades d'évolution. Les combinaisons des stades d'évolution sont reprises dans le tableau 5.3.3.

Tableau 5.3.2 Stades d'évolution de *Plasmodium ovale* pour l'échantillon P/14630

Stades d'évolution	Nombre
---------------------------	---------------

Trophozoïte	97
Schizonte	27
Gamétocyte	21
Non précisé	1
Total	146

Tableau 5.3.3 Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium ovale* pour l'échantillon P/14630

Stades d'évolution	Stade d'évolution	Nombre
1 stade d'évolution	Trophozoïte	57
	Non précisé	1
2 stades d'évolution	Trophozoïte + schizonte	19
	Trophozoïte + gamétocyte	13
3 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte	8
Total		98

Nombre de parasites répondus pour *P. ovale*.

Un laboratoire a mentionné la présence de 100 trophozoïtes par lame.

Un laboratoire a mentionné la présence de 1 schizonte par lame et 2 la présence de 1 à 2 schizontes par lame.

Un laboratoire a mentionné la présence de >100 parasites asexués/µl (trophozoïtes et schizontes).

Pour les autres laboratoires le tableau 5.3.4. montre le nombre de parasites par stade d'évolution exprimé en ‰ de GR.

Tableau 5.3.4 Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium ovale* pour l'échantillon P/14630

‰	N labos		
	Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte
<1	17 ¹	19	21
1	8	2	1
1 à 2	20		1
2	10		
2 à 3	14		
3	3		
3 à 4	2		
4	8		
5	2		
6	2		
8	2		
5 à 10	3		
10	1		
12	1		
20	2		

¹ Un laboratoire a précisé qu'il s'agit de 0.06 ‰ trophozoïtes

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium non-falciparum* sont repris dans le tableau 5.3.5. 32 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution et 14 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution. Les combinaisons des stades d'évolution sont reprises dans le tableau 5.3.6.

Tableau 5.3.5 Stades d'évolution de *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/14630

Stades d'évolution	Nombre
Trophozoïte	46
Schizonte	8
Gamétocyte	8
Total	60

Tableau 5.3.6 Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/14630

Stades d'évolution	Stade d'évolution	Nombre
1 stade d'évolution	Trophozoïte	32
2 stades d'évolution	Trophozoïte + schizonte	8
	Trophozoïte + gamétocyte	6
Total		46

Nombre de parasites répondus pour *Plasmodium* non-falciparum.

Deux laboratoires ont mentionné la présence de >100 parasites asexués/µl (trophozoïtes; un des 2 a précisé qu'il s'agit de 5280 parasites asexués /µl).

Pour les autres laboratoires le tableau 5.3.7. montre le nombre de parasites par stade d'évolution exprimé en ‰ de GR.

Tableau 5.3.7 Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/14630

‰	N labos		
	Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte
<1	8	6	8
1	2		
1 à 2	16		
2	2		
2 à 3	4		
3	1		
3 à 4	1		
4	2		
5	3		
6	1		
5 à 10	4		

83 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification : 48 laboratoires ayant répondu *P. ovale*, 27 laboratoires ayant répondu *Plasmodium* non-falciparum, 5 laboratoires ayant répondu *P. malariae*, 2 laboratoires ayant répondu *P. malariae* et 1 laboratoire ayant répondu *Plasmodium* species.

5.4. Commentaire de l'enquête

Les résultats de l'enquête étaient bons avec seulement 10/160 (6.25%) réponses inacceptables (*erreurs majeures*) (Tableau 1). A cause des implications pour le traitement le fait de rater un *P. falciparum* ou de le répondre erronément et le fait de répondre *Plasmodium* species sans

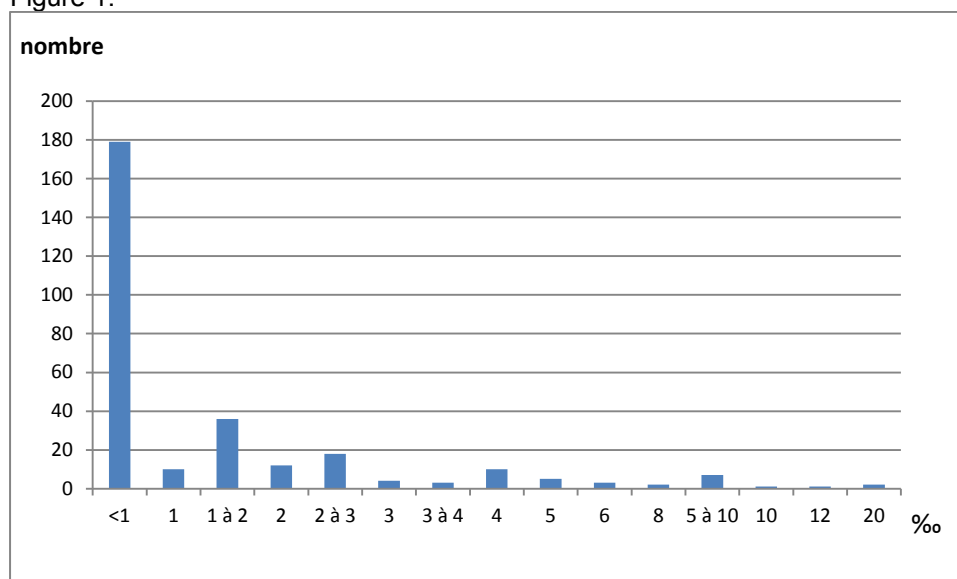
s'exprimer sur la présence ou l'absence de *P. falciparum*, ne sont pas acceptables. Répondre *P. non-falciparum*, *P. malariae* ou une autre espèce n'a pas ces mêmes implications et est acceptable (*erreur mineure*).

Tableau 1. Evaluation des résultats de l'échantillon P/14630.

Groupe	Réponse	Commentaire	Score (n, %)
Groupe I	<i>P. ovale</i> <i>P. non-falciparum</i> , probablement <i>P. ovale</i>	Correct	119 (74.4%)
Groupe II	<i>P. non-falciparum</i> <i>P. malariae</i> <i>P. vivax</i>	Erreur mineure Acceptable	31 (19.4%)
Groupe III	<i>P. falciparum</i> <i>Plasmodium</i> species probablement <i>P. ovale</i> Absence de parasites	Erreur majeure	10 (6.25%)

La distribution de la parasitémie est montrée dans la figure 1. Nous conseillons aux laboratoires qui ont répondu une parasitémie très discordante de revoir leur comptage. Nous référons au commentaire de l'EEQ 2016/1 pour les manières de le faire.

Figure 1.



La moitié des laboratoires ont reçu un frottis fait à partir du sang prélevé sur héparine et l'autre moitié à partir du sang prélevé sur K-EDTA. Il s'agissait d'une raison pratique, le sang hépariné avait été prélevé dans le cadre d'une étude et a été récupéré ensuite pour l'enquête. Le sang a été conservé pendant un certain temps sur l'héparine avant que les frottis aient été étalés. Ceci n'a cependant pas mené à une différence dans l'évaluation.

Pour le meilleur résultat (meilleure coloration, meilleure adhésion aux lames), le mieux est de prélever les échantillons pour la microscopie de la malaria sans anticoagulant. L'héparine peut

avoir un effet sur la morphologie des parasites et sur la coloration ; cela vaut dans une moindre mesure aussi pour l'EDTA. Si le sang est traité rapidement, ça ne pose pas de problèmes.

Pour des raisons pratique on utilise dans l'examen de la malaria des échantillons avec un anticoagulant et il est préférable d'utiliser l'EDTA. S'il n'y a que du sang hépariné disponible, il n'est pas nécessaire d'adapter les procédures.

A l'occasion de cette enquête on offrait pour la première fois la possibilité de répondre la parasitémie en parasites asexués (PA) (trophozoïtes et des schizontes)/ μl , la méthode conseillée par l'OMS. Quelques problèmes sont cependant survenus.

Dans la sélection du nombre de parasites asexués / μL on ne pouvait choisir des valeurs entre 0 et >100 tandis qu'un range de <50 - 500.000 PA/ μl est cliniquement plus pertinent et plus en concordance avec ce qu'on peut répondre si on exprime la parasitémie en ‰.

En plus on était obligé de répondre la parasitémie des gamétocytes et schizontes, tandis que ceux-ci ne sont pas repris dans le nombre des PA. Les solutions sont de reprendre la présence des formes sexuées dans les remarques ou d'introduire "<1" comme parasitémie et de mentionner dans les remarques que ceci veut dire: "ne sont pas comptés".

On examine si ces problèmes peuvent être résolus et comment.

Marjan Van Esbroeck, ITG Antwerpen

6.1 La rubéole**6.1.1 Les échantillons**

Deux échantillons ont été envoyés : IS/13136 et IS/13139.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/13136: Une jeune femme se présente chez son généraliste pour un examen avant grossesse. Elle dit avoir été vaccinée dans sa jeunesse mais le carnet de vaccination a été perdu. Le médecin prend un échantillon pour contrôler les anticorps:

IS/13139 Une jeune femme enceinte, qui réside dans une maison d'hébergement pour réfugiés, se présente chez le médecin avec un rash et de la fièvre. Les données concernant son statut de vaccination sont inconnues.

Les résultats attendus étaient:

IS/13136:	IgG: positives IgM: negatives Interprétation: Immunité
IS/13139:	IgG: positives IgM: negatives Interprétation: Immunité

6.1.2 Les participants

134 laboratoires cliniques ont introduit leurs résultats

En plus un laboratoire de firme a effectué ces tests. Il a utilisé la trousse recomBlot Rubella IgG (Mikrogen, distributeur Euribel) avec des résultats positifs pour les 2 échantillons.

Sur l'échantillon IS/13136, 15 laboratoires ont effectué un test, 115 laboratoires 2 tests, 2 laboratoires 3 tests et 2 laboratoires 4 tests.

Sur l'échantillon IS/13139, 14 laboratoires ont effectué un test, 116 laboratoires 2 tests, 2 laboratoires 3 tests et 2 laboratoires 4 tests.

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

Tableau 6.1.1 Nombre de participants répartis par paramètre

<i>Nbre de tests</i>	<i>Types de tests</i>	<i>IS/13136</i>	<i>IS/13139</i>
1 test	IgG	15	14
2 testes	IgG + IgM	115	116
3 testes	IgG + 2 IgM	2	2
4 testes	2 IgG + 2 IgM	2	2
Total		134	134

Les laboratoires ont donc effectué 136 déterminations des IgG et 123 déterminations des IgM pour l'échantillon IS/13136 (soit un total de 259 tests).

Ils ont effectué 136 déterminations des IgG et 124 déterminations des IgM pour l'échantillon IS/13139 (soit un total de 260 tests).

6.1.3 Réactifs utilisés

Pour les IgG

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

<i>Fabricant</i>	<i>Trousse</i>	<i>IS/13136</i>	<i>IS/13139</i>
Abbott	Architect Rubella IgG	32	32
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DXi Rubella IgG	7	7
	Access Rubella IgG	2	2
bioMérieux	VIDAS Rub IgG II	12	12
DiaSorin	Liaison Rubella IgG	22	22
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnostic products	3	3
	Rubella IgG		
Roche	Cobas Rubella IgG	35	35
	Modular Rubella IgG	7	7
	Elecsys Rubella IgG	5	5
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgG	6	6
	Immulite Rubella IgG	4	4
	Enzygnost anti Rubella virus IgG	1	1
Total		136	136

Pour les IgM

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

<i>Fabricant</i>	<i>Trousse</i>	<i>IS/13136</i>	<i>IS/13139</i>
Abbott	Architect Rubella IgM	29	29
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DXi Rubella IgM	5	5
	Access Rubella IgM	3	3
bioMérieux	VIDAS Rub IgM	16	16
DiaSorin	Liaison Rubella IgM	21	22
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros immunodiagnostic products	1	2
	Rubella IgM		
Roche	Cobas Rubella IgM	29	28
	Modular Rubella IgM	5	5
	Elecsys Rubella IgM	4	4
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgM	6	6
	Immulite Rubella IgM	3	3
	Enzygnost anti Rubella virus IgM	1	1
Total		123	124

6.1.4 Résultats

Echantillon IS/13136

IgG

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

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs ($N \geq 6$) nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.4 La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon IS/13136

<i>Trousse (unité)</i>	<i>N labos</i>	<i>Médiane</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Architect Rubella IgG (IU/mL)	32	29.9	25.0	36.0	10.0
Unicel DXi Rubella IgG (IU/mL)	7	36.5	32.6	54.4	15.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	12	52.0	33.0	57.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	22	34.0	20.7	47.0	10.0
Cobas Rubella IgG (IU/mL)	35	111.2	100.3	140.0	10.0
Modular Rubella IgG (IU/mL)	7	114.5	104.2	121.0	10.0
ADVIA Centaur Rubella IgG (IU/mL)	6	290.0	252.3	410.0	10.0

IgM

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

Interprétation

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Immunité ».

Deux des laboratoires n'ayant déterminé que les IgG, ont mentionné que la sérologie est ininterprétable sans le résultat des IgM ; les autres labos qui ont uniquement déterminé les IgG, ont choisi l'interprétation « Immunité ».

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.5 Interprétations pour l'échantillon IS/13136

<i>Interprétation</i>	<i>Nbre labos</i>
Immunité	132
La sérologie ne peut être interprétée que si les IgM sont déterminées (pas effectué dans le labo). ¹	2
Total	134

¹ Réponses fournies par des laboratoires qui ne déterminent que les IgG (résultat = positif)

122 des laboratoires ayant répondu « Immunité », ont mentionné une remarque. Ces remarques sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.6 Remarques fournies par les laboratoires ayant répondu « Immunité » pour l'échantillon IS/13136.

<i>Remarque</i>	<i>Nbre labos</i>
Une confirmation n'est pas nécessaire	120
Une confirmation est nécessaire par un nouveau prélèvement ¹	2
Total	122

¹ Un de ces 2 laboratoires a mentionné de demander un deuxième prélèvement pour confirmer l'immunité afin d'exclure tout problème pré-analytique (erreur de patient)

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

- IgG et IgM (mais bien les IgG et IgM avec une 2^e méthode): 2 labos
- IgM (mais bien les IgM avec une 2^e méthode et les IgG): 2 labos
- IgM (mais bien les IgG): 27 labos

Echantillon IS/13139

IgG

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

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs (N ≥6) nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.7 La médiane, le minimum et le maximum obtenus par les laboratoires pairs pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon IS/13139

<i>Trousse (unité)</i>	<i>N labos</i>	<i>Médiane</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Architect Rubella IgG (IU/mL)	32	25.9	21.9	33.2	10.0
Unicel DXi Rubella IgG (IU/mL)	7	33.0	30.0	45.8	15.0
VIDAS Rub IgG II (IU/mL)	12	40.5	27.0	49.0	15.0
Liaison Rubella IgG (IU/mL)	22	39.9	25.5	58.0	10.0
Cobas Rubella IgG (IU/mL)	35	28.7	25.0	41.9	10.0
Modular Rubella IgG (IU/mL)	7	30.3	24.0	32.6	10.0
ADVIA Centaur Rubella IgG (IU/mL)	6	222.1	198.7	247.0	10.0

IgM

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

Interprétation

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Immunité ».

Sept des laboratoires n'ayant déterminé que les IgG ont choisi « Possibilité d'une infection récente » ; un laboratoire qui a déterminé les IgG (positives) et IgM (négatives) a choisi la même interprétation.

Un des laboratoires n'ayant déterminé que les IgG, a indiqué qu'il lui était impossible de faire le choix entre « Immunité » et « Possibilité d'une infection récente » sans connaître le résultat des IgM; trois de ces laboratoires ont mentionné que la sérologie ne peut être interprétée que si les IgM sont déterminées. Les trois autres laboratoires n'ayant déterminé que les IgG ont choisi l'interprétation « Immunité ».

Un laboratoire a répondu « Rash non rubéolique »; et un laboratoire (qui a obtenu un résultat positif pour les IgG) a répondu « Pas d'immunité » (coché la mauvaise case dans le toolkit?)

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.8 Interprétations pour l'échantillon IS/13139

<i>Interprétation</i>	<i>Nbre labos</i>
Immunité	120
Possibilité d'une infection récente ¹	8
Il faut faire effectuer les IgM anti-Rubella afin de faire la distinction entre infection récente et immunité. ²	1
La sérologie ne peut être interprétée que si les IgM sont déterminées (pas effectué dans le labo). ²	3
Rash non rubéolique ³	1
Pas d'immunité ³	1
Total	134

¹ Sept de ces laboratoires n'ont déterminé que les IgG (positives); le dernier a déterminé les IgG (positives) et les IgM (négatives).

² Réponses fournies par des laboratoires qui ne déterminent que les IgG (résultat = positif).

³ Réponses fournies par des laboratoires qui n'ont déterminé les IgG (positives) et les IgM (négatives)

110 des laboratoires ayant répondu « Immunité », ont mentionné une remarque. Ces remarques sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.9 Remarques fournies par les laboratoires ayant répondu « Immunité » pour l'échantillon IS/13139.

<i>Remarque</i>	<i>Nbre labos</i>
Une confirmation n'est pas nécessaire	102
Une confirmation est nécessaire par un nouveau prélèvement ¹	8
Totaal	110

¹ Deux laboratoires ont mentionné qu'il faut contrôler le suivi du titre afin d'exclure séroconversion. Deux laboratoires ont mentionné qu'il faut effectuer d'autres tests sérologiques (e.a. Parvovirus B19 selon 1 des 2) et/ou bactériologiques. Un laboratoire a mentionné de demander un deuxième prélèvement pour confirmer l'immunité afin d'exclure tout problème pré-analytique (erreur de patient).

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

- I IgG et IgM (mais bien les IgG et IgM avec une 2^e méthode): 2 labos
- IgM (mais bien les IgM avec une 2^e méthode et les IgG): 2 labos
- IgM (mais bien les IgG): 1 labo
- IgG (mais bien les IgM): 1 labo

Commentaire sur les résultats de l'enquête

En général, les résultats obtenus pour ce QE de la rubéole sont très bons. Notons quand-même une interprétation bizarre pour l'échantillon IS/12139 (avec comme information clinique: réfugiée enceinte, rash, fièvre), pour lequel 7 laboratoires qui n'ont effectué qu'une détermination des IgG (sans les IgM) ont choisi l'interprétation « Possibilité d'une infection récente ». Cette interprétation peut prêter à confusion chez le clinicien et conduire potentiellement à des diagnostics erronés. Si on n'effectue pas de détermination des IgM au laboratoire, il est impossible de s'exprimer sur la présence ou non d'une infection récente sur base d'un prélèvement de sang! Dans ce cadre nous voulons cependant souligner que la plupart des résultats IgM anti-Rubella positifs qui sont observés dans les laboratoires belges, sont, d'un point de vu clinique, des résultats faux positifs. Un laboratoire qui obtient des IgM rubéole positives peut envoyer l'échantillon à l'un des 2 Centres Nationaux de Référence (CNR) pour confirmation. Le CNR réalisera des tests complémentaires tels que d'autres techniques d'IgM, un western blot IgG anti-E2 et/ou un test d'avidité des IgG.

En dépit de la standardisation internationale de la détermination des IgG anti-Rubella (« IU/ml »), il s'avère qu'il existe de très grandes différences quantitatives entre les différentes méthodes utilisées. Les résultats de l'échantillon IS/12136 (voire le tableau 6.1.4) le montrent clairement: il existe une différence d'environ 10 fois entre les valeurs médianes des IgG obtenues avec la méthode avec les résultats les plus élevés (Advia) et les résultats les plus bas (Architect). Pour l'échantillon IS/12139 on remarque également des différences importantes.

Ces deux échantillons de l'EEQ montrent également une autre donnée remarquable: les différences entre les méthodes des IgG anti-Rubella ne sont pas pour chaque échantillon (ou chaque patient) les mêmes. Comparons par exemple la médiane des 2 échantillons pour les 2 méthodes les plus utilisées en Belgique: pour l'échantillon IS/12136 elle est de 29.9 IU/ml pour l'Architect et de 111.2 IU/ml pour le Cobas, tandis que pour l'échantillon IS/12139 elle est de 25.9 IU/ml pour l'Architect et de 28.7 IU/ml pour le Cobas.

Cette problématique des différences entre les méthodes des IgG anti-Rubella a récemment été discutée dans une revue scientifique exhaustive, dans laquelle cette « standardisation internationale » est à juste titre critiquée et commentée. (1) Cette problématique de standardisation pourrait dans la pratique avoir des conséquences pour le patient individuel si les résultats des IgG obtenus par des laboratoires qui utilisent différentes méthodes étaient comparés.

- 1) Si on obtient un résultat positif pour les IgM et par conséquent on veut démontrer des « changements de titre » en IgG entre les prélèvements d'un même patient, il faut l'effectuer avec la même méthode et de préférence dans le même laboratoire. Dans le cas contraire, on pourrait voir d'imaginaires augmentations ou diminutions des IgG anti-Rubella.
- 2) Même si dans ce QE nous n'avons pas remarqué de différences qualitatives entre les laboratoires et les méthodes (qui est d'ailleurs un excellent résultat!), en pratique on pourrait avoir le cas d'un patient déclaré séropositif ou séronégatif selon que son sang soit analysé dans différents laboratoires. Ceci peut ensuite être interprété par un clinicien comme une séroconversion et conduire à un diagnostic erroné. Cela peut également mener à une politique de vaccination différente pour le patient.

En plus des possibles conséquences pour le patient individuel, il est également plausible que les différences dans la séroprévalence des IgG anti-Rubella entre populations ou au sein d'une même population au cours du temps puissent en partie être attribuées à l'utilisation de différentes méthodes. (2) On peut se poser également la question si l'utilisation de différentes méthodes par les laboratoires ne mène pas à des séroprévalences soi-disant différentes entre ces laboratoires.

M. Berth, AML et M.-L. Delforge (pour le centre de référence)

Références

Dimech W, Grangeot-Keros L, Vauloup-Fellous C. Standardization of assays that detect anti-rubella virus IgG antibodies. *Clin Microbiol Rev* 2016;29:163-74.

Dimech W, Mulders MN. A review of testing used in seroprevalence studies on measles and rubella. *Vaccine* 2016;34:4119-22.

6.2 Antigène Legionella

Les échantillons

Il y avait 2 échantillons d'urine pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/14680 et Ag/14681. L'échantillon Ag/14680 était positif et l'échantillon Ag/14681 négatif.

L'échantillon Ag/ 14680 a déjà été envoyé lors des enquêtes 2010/2 (sous le numéro Ag/10093) et 2011/2 (sous le numéro Ag/11069).

L'échantillon Ag/14681 a déjà été envoyé lors de l'enquête 2015/1 sous le numéro Ag/12900.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

Ag/14680: Un patient de 75 ans qui réside régulièrement à la Costa del Sol espagnole est admis à l'hôpital avec un malaise, de la fièvre et de la dyspnée trois mois après avoir été traité pour une infection avérée à Legionella. Les hémocultures et la culture respiratoire classique sont négatives.

Ag/14681: Un homme de 25 ans, sans signe clinique préalable, se présente début janvier chez son généraliste avec une fièvre et un syndrome grippal. Le patient mentionne qu'il séjourne régulièrement dans des hôtels à l'étranger..

Les participants

104 laboratoires cliniques ont introduit leurs résultats

De plus, un laboratoire de firme a effectué ces tests. Il a utilisé la trousse Legionella V-test (Coris Bioconcept) avec des résultats corrects pour les 2 échantillons.

Tous les laboratoires ont effectué un seul test.

Réactifs utilisés

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

Tableau 6.2.1 Réactifs utilisés pour les tests pour la détection de l'antigène Legionella

Fabricant	Réactif	Ag/14680	Ag/14681
Alere Health	Binax Now Legionella Urinary Ag test	95	95
Coris Bioconcept (verdelers International Medical)	Legionella K-Set	3	3
	Legionella V-test	1	1
IVD Research Inc. (verdelers Herman Diagnostics)	Legionella Urinary Antigen Lateral Flow	1	1
Meridian	Tru Legionella	3	3
Veda.Lab	Legio-Check-1	1	1
Total		104	104

Resultats

Echantillon Ag/14680

103 laboratoires ont obtenu un résultat positif. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif et a fourni l'explication suivante : « BinaxNOW Legionella positif sur échantillon frais. Après chauffage de l'urine 5 minutes à 100°C, BinaxNOW Legionella négatif -> Faux positif (l'antigène bactérien étant thermostable). »

Les réponses concernant l'interprétation clinique sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.2 Interprétations cliniques pour l'échantillon Ag/14680 (Ag Legionella)

<i>Interprétation</i>	<i>Nbre labos</i>
Positif	84
Positif pour l'Ag urinaire de Legionella pneumophila séro groupe 1 ¹	2
Des tests supplémentaires sont nécessaires	14
La positivité du test est plus que probablement due à son infection datant de 3 mois. ²	2
Persistance antigénémie ou réinfection ?	1
Négatif	1
Total	104

¹ Un laboratoire a conseillé d'effectuer une confirmation de la sérologie Legionella après 1 mois.

² Un de ces deux laboratoires a mentionné : « Seul un résultat négatif nous apprend qu'il ne s'agit pas d'une infection aiguë » et qu'il faut donc chercher une autre cause pour les symptômes.

Les tests supplémentaires mentionnés par les laboratoires sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.3 Tests supplémentaires pour l'échantillon Ag/14680 (Legionella antigen)

<i>Tests supplémentaires</i>	<i>Nbre labos</i>
PCR sur un échantillon respiratoire ¹	6
PCR + culture sur un échantillon respiratoire ²	5
Culture sur un échantillon respiratoire ³	2
Contrôle de l'urine + PCR sur un échantillon respiratoire	1
Total	14

¹ Cinq laboratoires ont mentionné qu'ils demandent des tests supplémentaires parce qu'une excrétion dans les urines peut durer longtemps après l'infection (jusque 1 an).

² Trois laboratoires ont mentionné qu'ils demandent des tests supplémentaires parce qu'une excrétion dans les urines peut durer longtemps après l'infection (jusque 1 an).

³ Deux laboratoires ont mentionné qu'ils demandent des tests supplémentaires parce qu'une excrétion dans les urines peut durer longtemps après l'infection (jusque 1 an).

Plusieurs laboratoires qui ont donné l'interprétation « positif », ont donné une remarque dans le champ de « texte libre » :

- 4 laboratoires ont mentionné que le test ne détecte que le séro groupe 1 de Legionella pneumophila
- 9 laboratoires ont mentionné que l'excrétion dans les urines peut durer longtemps après l'infection (jusque 1 an)
- 1 laboratoire a mentionné qu'en routine l'analyse serait refusée parce que le patient est connu
- 3 laboratoires ont mentionné demander des tests supplémentaires (2 laboratoires: PCR sur un échantillon respiratoire; 1 laboratoire : PCR + culture sur un échantillon respiratoire)

Trois laboratoires ont mentionné: « La demande pour cette analyse est complètement conforme à la règle diagnostique 104 et elle est donc effectuée. »

Echantillon Ag/14681

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif

Les réponses concernant l'interprétation clinique sont reprises dans le tableau suivant

Tableau 6.2.4 Interprétations cliniques pour l'échantillon Ag/14681 (Legionella antigen)

<i>Interprétation</i>	<i>Nbre labos</i>
Négatif	93
Des tests supplémentaires sont nécessaires	8
Négatif pour l'Ag urinaire de Legionella pneumophila séro groupe 1 ¹	2
A contrôler dans les prochaines jours si épidémiologie positive car le test peut être négatif les tous premiers jours. Exclusion d'autres pathogènes, enquête épidémiologique, suivi antigénique et sérologique et le cas échéant contrôle par PCR car le test antigénique ne marque pas toutes les légionelles.	1
Total	104

¹ Un laboratoire a mentionné que l'examen supplémentaire des sécrétions respiratoires est conseillé s'il existe une suspicion clinique d'une infection à Legionella

Les tests supplémentaires mentionnés par les laboratoires sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.5 Tests supplémentaires pour l'échantillon Ag/14681 (Legionella antigen)

<i>Tests supplémentaires</i>	<i>Nbre labos</i>
PCR sur un échantillon respiratoire	2
PCR + culture sur un échantillon respiratoire	2
Culture sur un échantillon respiratoire	2
Immunofluorescence pour la détection de sérotype 1-6: le test de Legionella antigène ne détecte que le sérotype 1	1
Examen sur un échantillon respiratoire	1
Total	8

Plusieurs laboratoires qui ont donné l'interprétation « négatif », ont donné une remarque dans le champ de « texte libre »:

- 6 laboratoires ont mentionné que le test ne détecte que le séro groupe 1 de Legionella pneumophila et que par conséquent des tests supplémentaires sont nécessaires (2 laboratoires: culture + PCR sur un échantillon respiratoire; 2 laboratoires: culture sur un échantillon respiratoire; 1 laboratoire : PCR sur un échantillon respiratoire; 1 laboratoire : examen sur un échantillon respiratoire)
- 3 laboratoires ont mentionné que le test ne détecte que le séro groupe 1 de Legionella pneumophila
- 2 laboratoires ont mentionné demander des tests supplémentaires (1 laboratoire: PCR sur un échantillon respiratoire; 1 laboratoire PCR + culture sur un échantillon respiratoire)
- 1 laboratoire a mentionné que l'influenza doit être exclue
- 1 laboratoire a mentionné que l'analyse aurait été refusée pour absence de signes cliniques.

Trois laboratoires ont mentionné: « La demande pour cette analyse n'est pas conforme à la règle diagnostique 104 et en principe elle n'est donc pas effectuée. Sur demande formelle du généraliste, nous l'effectuons à condition de facturer une somme forfaitaire (hors numéro de nomenclature) au patient. ». Un laboratoire a mentionné que l'antigène de Legionella n'est pas remboursé pour un patient ambulatoire

Commentaire

Les laboratoires ont obtenu des résultats analytiques excellents pour la détection antigénique de Legionella. Pour l'échantillon Ag/14680 un laboratoire a obtenu un résultat (faussement) négatif après avoir chauffé l'urine 5 minutes à 100°C. Cette procédure n'est pas reprise dans l'insert de la trousse utilisée par le laboratoire (Binax Now). Le laboratoire renvoie cependant à la référence ci-dessous (1).

Les tests antigéniques de Legionella ont une grande spécificité de 95 – 100% et une sensibilité plus basse de 70 – 90% pour les infections invasives par Legionella pneumophila séro groupe 1 (2). Des procédures complémentaires comme le chauffage et la concentration de l'urine ont été décrites dans la littérature pour augmenter respectivement la spécificité et la sensibilité mais malheureusement ces procédures causent à l'inverse une sensibilité de respectivement la sensibilité et la spécificité.

Plusieurs laboratoires ont mentionné correctement qu'une excrétion prolongée (jusque 1 an) est possible après une infection. Dans la plupart des cas l'antigène de la Legionella n'est cependant plus détectable 2 mois après le traitement.

Etant donné la faible sensibilité et la réactivité croisée limitée avec Legionella pneumophila de sérogroupes non 1 et d'autres espèces de Legionella, ce n'est jamais une bonne idée de se fier uniquement au résultat du test antigène dans les urines en cas de suspicion d'une infection par Legionella pour obtenir un diagnostic correct. Même s'ils ne sont pas remboursés, les tests moléculaires sur un échantillon respiratoire (profond) sont considérés de plus en plus dans cette problématique comme le « gold standard ». La culture de Legionella demande une expertise supplémentaire et est peu sensible. A cause de la réponse immunologique tardive, la sérologie de Legionella est surtout utile à des fins épidémiologiques.

Quatre laboratoires ont mentionné que l'indication clinique pour l'analyse de l'échantillon Ag/14681 n'est pas conforme à la nomenclature belge actuelle. La recherche de l'antigène de Legionella dans les urines n'est en effet remboursée uniquement que si le patient est hospitalisé, s'il a plus de 18 ans, sur prescription de médecin-spécialiste et au maximum 1x par admission hospitalière (règle diagnostique 104). Ceci peut être motivé étant donné la faible sensibilité de l'antigène dans les urines dans les infections non-invasives par Legionella comme la fièvre de Pontiac et le caractère exceptionnel des infections invasives par Legionella chez les enfants immunocompétents sauf s'ils sont nés après un accouchement dans l'eau (3).

(1) Pontoizeau C, et al. Ruling out False-Positive Urinary Legionella pneumophila Serogroup 1 and Streptococcus pneumoniae Antigen Test Results by Heating Urine. J Clin Microbiol. 2014 Dec; 52(12): 4347–4349.

(2) Mercante J, Winchell J. Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations. Clin Microbiol Rev. 2015 Jan; 28:80 –118.

(3) Collins SL, et al. Heated birthing pools as a source of Legionnaires' disease. Epidemiol Infect. 2016 Mar; 144(4):796-802

FIN

© Institut Scientifique de Santé Publique, Bruxelles 2017.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de l'ISP. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par l'ISP ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités d'experts ou du groupe de travail EEQ.