

MICROBIOLOGIE

Trois enquêtes ont été organisées en 2001 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 255, 254 et 250 laboratoires ont respectivement été inscrits pour ces 3 enquêtes. La participation des laboratoires s'élève pour chaque enquête respectivement à 252, 246 et 245. Sept laboratoires (2,7%) ont participé à 1 enquête, 7 (2,7%) ont participé à 2 enquêtes et 241 (94,6%) ont participé aux 3 enquêtes. Cinq laboratoires ont cessé leurs activités et trois ne se sont pas inscrits à temps. Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 136 laboratoires hospitaliers, 74 laboratoires privés, 9 laboratoires de polycliniques et 36 laboratoires non définis.

I. Rapport de l'identification des cultures

Les participants ont reçu 10 cultures lyophilisées. Il s'agissait de 9 cultures pures et 1 mélange.

Les identifications exactes et acceptables ont été mentionnées dans chaque rapport global avec une courte description des caractéristiques des germes.

Trois cultures (*Pseudoallescheria boydii*, *Propionibacterium acnes* et *Staphylococcus epidermidis*) ont été envoyées dans un intérêt éducatif et **n'ont pas** été prises en compte pour l'évaluation; en ce qui concerne la culture de *S. epidermidis*, seuls les résultats de l'identification ont été évalués, les tests de sensibilité étant demandés à titre éducatif.

I.a. Répartition des résultats par échantillon. L'origine de chaque germe est mentionnée entre parenthèses.

	% d'identifications acceptables
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100,0
<i>Staphylococcus aureus</i> (pus d'oreille)	99,6
<i>Haemophilus influenzae</i> (aspiration pulmonaire)	97,1
<i>Listeria monocytogenes</i> (échantillons d'un enfant mort-né)	97,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (hémoculture)	96,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ostéomyélite chronique)	95,9
<i>Yersinia enterocolitica</i> (selles)	94,3
<i>Shigella sonnei</i> (selles)	94,1
Échantillons éducatifs :	
<i>Propionibacterium acnes</i> (hémoculture)	77,6
<i>Pseudoallescheria boydii</i> (plaie)	51,6

I.b. Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.

Chaque laboratoire devait réaliser 8 identifications. Le tableau ci-dessous reproduit la répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.

Nombre d'identifications inacceptables	Nombre de laboratoires N=255 (%)
0	216 (84,7)
1	31 (12,2)
2	8 (3,1)

223 (87,5%) laboratoires ont répondu toutes les identifications correctes ou acceptables. 32 (12,5%) laboratoires ont mentionné des identifications inacceptables; de ces laboratoires 24 (9,4%) ont répondu une identification fautive et 8 (3,1%) 2 identifications fautives.

Dix-neuf laboratoires n'ont pas identifié tous les échantillons envoyés, 12 d'entre eux n'ont pas identifié un des échantillons éducatifs et 2 aucun des échantillons éducatifs. Neuf laboratoires n'ont pas identifié 1 échantillon, 2 d'entre eux n'ont pas identifié 2 échantillons, 2 n'ont pas identifié 3 échantillons, 3 n'ont pas identifié 4 échantillons, 2 n'ont pas identifié 5 échantillons et 1 (connexiste) n'a pas identifié 8 échantillons.

Si nous considérons les « non-réponse » comme inacceptables, nous obtenons les résultats suivants :

Nombre d'identifications inacceptables	Nombre de laboratoires N=255 (%)
0	204 (80,0)
1	34 (13,3)
2	10 (3,9)
3	1 (0,4)
4	3 (1,2)
5	1 (0,4)
6	2 (0,8)

I.c. Evaluation des colorations de Gram

Pour la première fois des lames avec des suspensions bactériennes fixées ont été envoyées dans le but d'évaluer les colorations de Gram.

Le tableau suivant donne le résumé des résultats obtenus.

	Enterobacter aerogenes	Rhodococcus equi	Neisseria meningitidis
Gram -	200	34	278
coque/diplocoque	1	12	240
bacille	152	22	3
coccobacille	47		35
Gram +	34	367	27
coque/diplocoque	4	207	25
bacille	27	129	
coccobacille	3	31	2
Gram labile	32	17	
coque/diplocoque			
bacille	32	17	
coccobacille			

Pour les colorations de Gram, suite aux remarques des participants à l'EEQ, nous enverrons des lames avec des germes mais aussi des cellules afin de fournir des échantillons plus proches de la routine.

Les résultats ci-dessous ont été publiés et discutés dans le rapport global 2001/2.

Tableau 1 : M/2260, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Méthode NCCLS : % (nombre) de réponses au diamètre trop petit ou trop grand

NCCLS	charge	< diamètre	> diamètre
ofloxacine	5 µg	43 % (12/28)	0 % (0/28)
clindamycine	2 µg	40 % (20/50)	2 % (1/50)
lévofloxacine	5 µg	33 % (3/9)	0 % (0/9)
cotrimoxazole	1.25+23.75 µg	18 % (10/55)	4 % (2/55)
oxacilline	1 µg	11 % (5/46)	11 % (5/46)
pénicilline	10 IU	10 % (5/51)	10 % (5/51)
ciprofloxacine	5 µg	19 % (7/37)	0 % (0/37)
érythromycine	15 µg	14 % (7/50)	2 % (1/50)
norfloxacine	10 µg	0 % (0/32)	9 % (3/32)

Tableau 2 : M/2260, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

ROSCO: % (nombre) de réponses au diamètre trop petit ou trop grand

ROSCO	charge diffusable	< diamètre	> diamètre
ofloxacine	10 µg	2 % (1/62)	23 % (14/62)
clindamycine	25 µg	21 % (20/95)	2 % (2/95)
ciprofloxacine	10 µg	1 % (1/73)	22 % (16/73)
érythromycine	78 µg	6 % (6/108)	16 % (17/108)
cotrimoxazole	5.2+240 µg	10 % (11/104)	6 % (6/104)
pénicilline	5 µg	6 % (6/104)	9 % (9/104)
norfloxacine	10 µg	2 % (1/51)	12 % (6/51)

Tableau 3 : 2259, *Escherichia coli* (ATCC 25922)

Méthode NCCLS : % (nombre) de réponses au diamètre trop petit ou trop grand

NCCLS	charge	< diamètre	> diamètre
lévofloxacine*	5 µg	63 % (5/8)	0 % (0/8)
ofloxacine	5 µg	46 % (11/24)	4 % (1/24)
céfazoline	30 µg	33 % (11/33)	0 % (0/33)
ampicilline	10 µg	19 % (10/51)	6 % (3/51)
norfloxacine	10 µg	18 % (7/40)	5 % (2/40)
ciprofloxacine	5 µg	18 % (7/38)	0 % (0/38)
amoxiclav	20 + 10 µg	10 % (5/52)	2 % (1/52)
cotrimoxazole	1.25 + 23.75 µg	9 % (5/55)	2 % (1/55)
gentamicine	10 µg	10 % (4/40)	0 % (0/40)
céfuroxime	30 µg	4 % (2/49)	2 % (1/49)
céfalothine	30 µg	0 % (0/21)	5 % (1/21)

* La médiane se trouve en dehors des limites

Tableau 4 : 2259, *Escherichia coli* (ATCC 25922)
 ROSCO: % (nombre) de réponses au diamètre trop petit ou trop grand

ROSCO	charge diffusable	< diamètre	> diamètre
norfloxacin	10 µg	30 % (26/86)	6 % (5/86)
céfazoline	60 µg	15 % (10/69)	3 % (2/69)
ciprofloxacine	10 µg	13 % (9/69)	3 % (2/69)
ampicilline	33 µg	9 % (9/102)	9 % (9/102)
céfalthine	66 µg	9 % (4/45)	5 % (2/45)
ofloxacine	10 µg	11 % (6/55)	2 % (1/55)
céfuroxime	60 µg	9 % (8/93)	2 % (2/93)
gentamicine	40 µg	7 % (5/72)	4 % (3/72)
amoxiclav	30+ 15 µg	4 % (4/106)	3 % (3/106)
cotrimoxazole	5.2+240 µg	4 % (4/100)	3 % (3/100)

Pour le *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec la méthode NCCLS (tableau 1), il y a manifestement plus de participants qui ont répondu un diamètre trop petit, pour la méthode ROSCO (tableau 2) c'est l'inverse. Il n'était pas possible d'évaluer les résultats de l'oxacilline par la méthode ROSCO parce que deux types de tablettes avec différentes charges (1 et 5 µg) ont été utilisés.

Les différences entre les deux techniques sont significatives si on compare les diamètres corrects, trop petits et trop grands ($p \leq 0.001$), et, non-significatives, si on compare correct et incorrect ($p = 0.098$). Ces différences pourraient être expliquées entre autres par le fait que les charges diffusables des tablettes ROSCO sont nettement plus élevées que celles des disques NCCLS.

Pour l'*Escherichia coli* ATCC 25922 il y a aussi bien avec la méthode NCCLS (tableau 3) qu'avec la méthode ROSCO (tableau 4) plus de participants qui ont répondu un diamètre trop petit que ceux qui ont répondu un diamètre trop grand. Les réponses d'un diamètre trop grand sont plus souvent retrouvées avec la méthode ROSCO qu'avec la méthode NCCLS.

Les différences entre les deux techniques sont significatives si on compare les diamètres corrects, trop petits et trop grands ($p = 0.03$), et, non-significatives, si on compare correct et incorrect ($p = 0.15$).

Si on applique le critère NCCLS pour le contrôle de qualité hebdomadaire, c'est-à-dire au maximum un résultat aberrant sur 10, on constate qu'il n'y a que très peu de molécules qui satisfont à ce critère.

Les mauvais résultats des quinolones pour les deux souches ATCC sont étonnants.

PARASITOLOGIE

Trois enquêtes dans le domaine de la parasitologie ont été organisées.
Pour chaque enquête, 264, 233 et 234 participants étaient respectivement inscrits.

1. Enquête 1

229 laboratoires ont participé à cette enquête.
Deux suspensions de selles formolées, P/ 2732 et P/2776, ont été envoyées.

P/2732 contenait des kystes et des trophozoïtes de *Giardia lamblia*. *Giardia lamblia* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été reconnu par 227 (99,1%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 219 participants et les trophozoïtes par 100 participants.

L'échantillon P/2776 était négatif et ne contenait aucun parasite. Néanmoins 21 (9,2%) laboratoires ont répondu « présence » de parasites.

2. Enquête 2

224 laboratoires ont participé à cette enquête.
Deux frottis de sang ont été envoyés, P/2919 et P/2920.

Le frottis P/2919 contenait des trypanostigotes de *Trypanosoma brucei*. Ce parasite n'a pas été retrouvé par 7 (3,1%) participants.

Le frottis P/2920 contenait *P. falciparum* : trophozoïtes, schizontes rares et gamétocytes. Vu la difficulté, ce parasite n'a été reconnu que par 148 (66,1%) participants.

3. Enquête 3

230 laboratoires ont participé à cette enquête.
Une suspension de selles formolées a été envoyée.

La suspension P/3126 contenait des oocystes de *Cryptosporidium spp.* Ce parasite a été retrouvé par 186 (80,9%) participants. Le même échantillon contenait également des microsporidies, qui ont été retrouvées par 7 laboratoires, mais n'ont pas été prises en compte dans le cadre de l'évaluation. Le stade de développement correct a été répondu par 175 laboratoires.

SEROLOGIE INFECTIEUSE

En 2001, les paramètres sérologiques pour le CMV, l'EBV, la toxoplasmose, le VIH et la syphilis ont été évalués. Le nombre de participants a varié selon le paramètre évalué.

1. CMV et EBV

Deux plasmas lyophilisés ont été examinés, S/2340 et S/2396.

L'échantillon S/2340 contenait des anticorps IgG et IgM contre le CMV et des anticorps IgG contre l'EBV.

L'échantillon S/2396 contenait des anticorps IgG et IgM contre le CMV et des anticorps IgG contre l'EBV.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante : « Patiente âgée de 25 ans. Elle a des ganglions et se plaint de fatigue. Les échantillons ont été pris avec un intervalle de 3 semaines. »

Un total de 242 laboratoires a participé à cette enquête.

1.1 CMV

Les trousse Axsym (Abbott) et Vidas (bioMérieux) ont surtout été utilisées pour la détection des anticorps IgG et IgM : 37,7% Axsym CMV IgG, 31,4% Axsym CMV IgM, 37,2% Vidas CMV IgG et 42,1% Vidas CMV IgM.

Tableau 1 : Répartition des résultats par échantillon

	S/2340	Résultat attendu	S/2396	Résultat attendu
Igtot	N= 8		N=7	
positif	8	X	7	X
négatif	0		0	
borderline	0		0	
sans résultat	0		0	
IgG	N=231		N=231	
positif	221	X	215	X
négatif	0		0	
borderline	0		0	
sans résultat	10		16	
IgM	N=235		N=233	
positif	228	X	189	X
négatif	1		10	
borderline	3		30	
sans résultat	3		4	

La plupart des laboratoires (232 ou 96,3%) ont déterminé tant les IgG que les IgM et 62 (25,7%) laboratoires ont déterminé l'avidité IgG

En ce qui concerne l'interprétation clinique : 190 (78,8%) participants ont considéré les résultats suggestifs pour une infection primaire ; 36 (14,9%) laboratoires n'ont pas donné d'interprétation clinique.

1.2 EBV

Une grande diversité de réactifs a été utilisée tant pour le dosage des IgG que pour celui des IgM. L'Enzygnost anti-EBV IgG et IgM de Dade Behring étaient les réactifs le plus utilisés avec respectivement 26,7% et 29,6% d'utilisateurs.

Tableau 2 : Répartition des résultats par échantillon

	S/2340	Résultat attendu	S/2396	Résultat attendu
Anticorps hétérophiles	N= 11		N=11	
positif	0		0	
négatif	11	X	11	X
borderline	0		0	
sans résultat	0		0	
IgG	N=224		N=224	
positif	218	X	218	X
négatif	6		5	
borderline	0		1	
sans résultat	0		0	
IgM	N=203		N=203	
positif	10		11	
négatif	188	X	188	X
borderline	5		4	
sans résultat	0		0	

Les résultats faux négatifs IgG ont été obtenus avec la détection des anticorps anti-EA IgG. Des résultats positifs ou borderline IgM ont été obtenus par 15 (7,4%) des laboratoires et ceci dans les deux échantillons. Ces résultats indiquent des réactions croisées avec d'autres herpes viridae.

Les résultats étaient pour 180 (74,7%) laboratoires suggestifs pour une ancienne infection à l'EBV. 48 (19,9%) participants n'ont pas donné d'interprétation clinique.

2. Toxoplasmose

Deux échantillons de plasma lyophilisés ont été envoyés. Les échantillons S/2343 et S/2724 étaient tous les deux positifs pour IgG et IgM. Les deux échantillons provenaient d'un même patient, le deuxième échantillon étant pris après un intervalle de 3 mois, celui-ci montrait une augmentation en IgG et une diminution en IgM.

L'information clinique suivante a été donnée : « Les deux échantillons proviennent du même patient et ont été prélevés dans un intervalle de 3 mois. La patiente est une jeune femme de 27 ans ; elle se plaint de fatigue et présente une adénopathie. »

Un total de 227 laboratoires a participé à cette enquête.

Principalement les réactifs d'Abbott et de bioMérieux ont été utilisés tant pour la détection des IgG que pour celle des IgM.

Tableau 1 : Répartition des résultats par échantillon

	S/2343	Résultat attendu	S/2724	Résultat attendu
IgG	N= 238		N=238	
positif	213	X	218	X
négatif	2		0	
borderline	5		0	
sans résultat	18		20	
IgM	N=241		N=245	
positif	229	X	201	X
négatif	1		8	
borderline	0		25	
sans résultat	11		11	
IgA	N=18		N=18	
positif	18	X	18	X
négatif	0		0	
borderline	0		0	

L'avidité IgG a été déterminée pour les échantillons S/2343 et S/2724 par respectivement 73 (32,2%) et 72 (31,7%) laboratoires.

L'interprétation clinique des résultats a été effectuée par 222 (97,8%) laboratoires. Le résultat correct 'infection récente' a été répondu par 173 (76,2%) laboratoires.

3. VIH et syphilis

Trois plasmas liquides, inactivés et défibrinés ont été envoyés, S/3180, S/3181 et S/3182.

L'échantillon S/3180 contenait des anticorps anti-VIH et des anticorps anti-syphilis.

S/3181 ne contenait ni des anticorps anti-VIH, ni des anticorps anti-syphilis.

S/3182 contenait des anticorps anti-VIH mais pas des anticorps anti-syphilis.

3.1. VIH

235 laboratoires ont participé à cette enquête.

Pour les trois échantillons, respectivement 274, 266 et 276 tests ont été effectués.

Les laboratoires effectuent généralement plusieurs tests sur les échantillons positifs: 198 (84.2%) laboratoires ont effectué un test, 35 (14,8%) deux tests et 2 (1%) laboratoires trois tests.

Tableau 1 : Répartition des résultats par échantillon

	S/3180	Résultat attendu	S/3181	Résultat attendu	S/3182	Résultat attendu
Anticorps	N=274		N=266		N=276	
positif	267	X	8		272	X
négatif	5		256	X	3	
borderline	0		1		1	
sans résultat	2		1		0	

Deux laboratoires ont recherché l'antigène AgP24, ce qui n'était pas requis dans cette évaluation. Ils font partie des participants qui ont donné une réponse négative pour les échantillons positifs.

Un laboratoire a probablement fait une erreur de transcription ou une intervention des échantillons.

Nous avons demandé aux laboratoires, s'ils enverraient ces échantillons à un laboratoire de référence. Les réponses à cette question sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Résumé du nombre des laboratoires qui enverraient les échantillons à un laboratoire de référence sida (LRS)

	Enverraient l'échantillon à un LRS	N'enverraient pas l'échantillon à un LRS
S/3180	213	21
S/3181	10	223
S/3182	217	18

Deux des 8 laboratoires qui ont donné un faux résultat positif pour l'échantillon S/3181 n'enverraient pas l'échantillon à un LRS.
L'ISP a rappelé dans le rapport global la nécessité d'envoyer tous les échantillons VIH-positifs à un LRS dans le but de confirmer le résultat.

3.2 Syphilis

Au total 211 laboratoires ont participé à cette enquête.

Plusieurs tests ont fréquemment été effectués sur chaque échantillon. Pour l'échantillon positif S/3180, 159 (75,4%) laboratoires ont effectué deux tests différents, principalement avec les méthodes RPR/VDRL et TPHA/TPPA.

Tableau 1 : Répartition des résultats par échantillon

	S/3180	Résultat attendu	S/3181	Résultat attendu	S/3182	Résultat attendu
Résultat	N=432		N=426		N=426	
fort positif	288	X				
positif	129		8		4	
borderline	3		8		1	
négatif	12		410	X	421	X

Le tableau ci-dessous donne un résumé des résultats fautifs (les résultats «borderline» sont considérés comme fautifs) par méthode par rapport au nombre total des utilisateurs de cette méthode.

Tableau 2 : Répartition des résultats fautifs par échantillon en fonction de la méthode utilisée

	TPHA/TPPA	RPR/VDRL	FTA	EIA	autres
S/3180	3/192	10/193	1/46	1/14	0/2
S/3181	3/191	7/190	5/35	0/13	1/2
S/3182	3/190	2/191	0/35	0/13	0/2

Les résultats faux négatifs pour l'échantillon S/3180 avec les méthodes RPR/VDRL pourraient être dus au phénomène de prozone aussi bien pour la méthode RPR que pour la méthode VDRL et ceci quel que soit le fabricant.