

**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 ANNUEL DEFINITIF

MICRO/SERO/PARA

2014

ISP-2014/Micro/Séro/Para/101

Expertise, prestations de service et relations clients
Qualité des laboratoires médicaux
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS

ISP (secrétariat)	TEL: 02/642.55.22	FAX: 02/642.56.45
Coordinateur d'enquête: Dr. VERNELEN K.	TEL: 02/642.55.29 e-mail: kris.vernelen@wiv-isp.be	
Remplaçant coordinateur d'enq.: Dr. CHINA B.	TEL: 02/642.53.85 e-mail: bernard.china@wiv-isp.be	

Experts:

Pharm. BOEL An	TEL: 053/72.47.85	FAX: 053/72.45.88
	e-mail: an.boel@olvz-aalst.be	
Dr. CLAEYS Geert	TEL: 09/332.36.45	FAX: 09/332.49.85
	e-mail: geert.claeys@ugent.be	
Dr. DE BEENHOUWER Hans	TEL: 053/72.42.72	FAX: 053/72.45.88
	e-mail: hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be	
Dr. DE GHELDRE Yves	TEL: 02/340.41.34	FAX: 02/340.41.79
	e-mail: yves.degheldre@chirec.be	
Dr. DEDISTE Anne	TEL: 02/535.45.42	FAX: /
	e-mail: anne_dediste@stpierre-bru.be	
Dr. DELFORGE Marie-Luce	TEL: 02/555.34.53	FAX: 02/555.64.59
	e-mail: marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be	
Dr. LAGROU Katrien	TEL: 016/34.70.98	FAX: 016/34.79.31
	e-mail: katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be	
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40	FAX: 011/30.97.50
	e-mail: koen.magerman@jessazh.be	
Dr. NAESSENS Anne	TEL: 02/477.50.02	FAX: 02/477.50.15
	e-mail: anne.naessens@uzbrussel.be	
Dr. PADALKO Elizaveta	TEL: 09/332.21.08	FAX: 09/332.49.85
	e-mail: elizaveta.padalko@uzgent.be	
Dr. REYNDERS Marijke	TEL: 050/45.39.27	FAX: 050/45.26.19
	e-mail: marijke.reynders@azsintjan.be	
Dr. VAN ESBROECK Marjan	TEL: 03/247.64.37	FAX: 03/247.64.40
	e-mail: mvesbroeck@itg.be	
Dr. VERROKEN Alexia	TEL: 02/764.67.32	FAX: 02/764.69.33
	e-mail: alexia.verroken@uclouvain.be	
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85	FAX: 056/85.58.86
	e-mail: sophie.woestyn@skynet.be	

Réunion du comité d'experts :

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/ fr/rapports_annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm)**Autorisation de diffusion de rapport:** par Kris Vernelen (Coordinateur d'enquête) le 21/10/2015


Tables des matières

Tables des matières	3
I. Microbiologie	4
1.1 Rapport de l'identification des cultures.....	4
Répartition des résultats par échantillon	4
Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications acceptables	5
1.2 Evaluation des tests de sensibilité	6
<i>Staphylococcus aureus</i> M/4395	6
<i>Streptococcus agalactiae</i> M/11521	8
<i>Streptococcus pneumoniae</i> M/10253.....	10
<i>Citrobacter koseri</i> M/12665.....	12
<i>Enterococcus faecalis</i> M/4424	13
<i>Escherichia coli</i> M/12884	14
II. Parasitologie	16
2.1 Enquête 1	16
2.2 Enquête 2	17
2.3 Enquête 3	18
2.4 Utilisation du Toolkit.....	18
III. Sérologie	19
3.1 La syphilis.....	19
3.2 L'Ag de l'Influenza	21
3.3 L'HAV	23
3.4 La rubéole.....	26
3.5 La toxoplasmose	28
3.6 VIH	30

I. Microbiologie

Trois enquêtes ont été organisées en 2014 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 160 laboratoires ont participé à au moins une enquête. 4 laboratoires (2.5%) ont participé à 2 enquêtes et 156 (97.5%) ont participé aux 3 enquêtes. Deux ont cessé leur activité. Le nombre de laboratoires participants s'élevait à 158, 160 et 158 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 107 laboratoires hospitaliers, 39 laboratoires privés, 4 laboratoires de polycliniques et 10 autres laboratoires.

1.1 Rapport de l'identification des cultures

Répartition des résultats par échantillon

Les participants ont reçu 12 échantillons (onze échantillons lyophilisés et un écouvillon vaginal).

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

Actinobaculum schaalii (urines, EEQ 2014/1), *Corynebacterium striatum* (aspiration bronchique, EEQ 2014/2) et *Nocardia farcinica* (hémocultures, EEQ 20174/2) ont a été envoyés à des fins didactiques.

A l'occasion de ce cycle existait pour la 1^e fois la possibilité de répondre via le Toolkit. Respectivement 78.5% 74.4% et 76.6% des laboratoires ont répondu de cette façon pour chacune des enquêtes.

Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le Toolkit offre l'avantage d'éviter certaines erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

Tableau 1.1.1. Répartition des résultats par échantillon. L'origine de chaque germe est mentionnée entre parenthèses

Germe	% d'identifications acceptables
<i>Staphylococcus aureus</i> (hémoculture)	97,5
<i>Streptococcus agalactiae</i> (hémoculture)	97,5
<i>Listeria monocytogenes</i> (pustules cutanées)	93,7
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (hémoculture)	97,5
<i>Citrobacter koseri</i> (urine)	96,4
<i>Enterococcus faecalis</i> (urine)	96,2
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (écouvillon d'une effusion)	94,3
<i>Escherichia coli</i> (hémoculture)	97,5
Absence de pathogènes (écouvillon vaginal)	67,7

Le fait que les pourcentages pour les *S. pneumoniae* et *E. coli* originaires des hémocultures ne sont « que » de 97.5%, s'explique par la donnée que 4 laboratoires ont mentionné qu'ils n'examinent pas eux-mêmes les hémocultures mais qu'elles sont sous-traitées.

Le pourcentage relativement faible pour l'écouvillon vaginal qui ne contenait que des commensaux (*E. coli* + lactobacilles), peut s'expliquer par le fait que +/- 30% des laboratoires ont néanmoins répondu la présence de l'*E. coli* dans cet échantillon (même si bon nombre d'entre eux n'ont pas répondu l'antibiogramme).

Le *S. aureus* de la 1^e enquête a été répondu par 97.5% des laboratoires. Nous aimerions répéter qu'un **S. aureus dans une hémoculture doit toujours être rapporté**, même si un seul flacon sur 4 est positif, comme mentionné dans les informations cliniques de l'échantillon.

A l'occasion de la 2^e enquête un frottis d'une hémoculture a également été envoyé; il contenait des bacilles à Gram positif (originaire du même échantillon qui contenait le *N. farcinica*). Le pourcentage de réponses correctes était de 86.9%.

Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications acceptables

Chaque laboratoire a dû réaliser 9 identifications. 98 (61.25%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 72 (38.75%) laboratoires ont mentionné des identifications inacceptables. Le tableau ci-dessous reproduit la répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.

Tableau 1.1.2. Nombre d'identifications inacceptables (sans les « non-réponses »).

Nombre d'identifications inacceptables	Nombre de laboratoires (N = 160)
0	98 (61.25%)
1	53 (33.12%)
2	7 (4.38%)
3	2 (1.25%)

Si nous ajoutons aux résultats considérés comme inacceptables les « non-réponses » sans explication (inscription tardive, arrêt des activités, sous-traitance de certains types d'échantillon au laboratoire), nous obtenons les résultats suivants.

Tableau 1.1.3. Nombre d'identifications inacceptables (avec les « non-réponses »).

Nombre d'identifications inacceptables	Nombre de laboratoires (N = 160)
0	98 (61.25%)
1	51 (31.88%)
2	7 (4.38%)
3	2 (1.25%)
4	2 (1.25%)

1.2 Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 6 germes, *Staphylococcus aureus* M/4395, *Streptococcus agalactiae* M/11521, *Streptococcus pneumoniae* M/10253, *Citrobacter koseri* M/12665, *Enterococcus faecalis* M/4424 et *Escherichia coli* M/12844 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

Staphylococcus aureus M/4395

Ce germe qui était complètement sensible a posé peu de problèmes aux laboratoires. La particularité de la souche se trouvait dans le fait que seul un flacon d'hémoculture sur 4 était positif.

Le commentaire a mentionné les directives de l'EUCAST pour tester la sensibilité à la pénicilline et à l'oxacilline.

L'EUCAST recommande de **tester la sensibilité à la pénicilline avec un disque de pénicilline (1 µg) mais il déconseille de déterminer la CMI ou de tester la présence d'une pénicillinase avec un test chromogénique**. Les souches présentant un diamètre d'inhibition inférieur à 26 mm doivent être répondues résistantes de même que les souches présentant un diamètre supérieur ou égal à 26 mm ET un bord d'inhibition net. Les souches présentant un diamètre supérieur à 26 mm et un bord d'inhibition flou peuvent être répondues sensibles. En cas de doute, il est recommandé de répondre la souche résistante.

Depuis plusieurs années, l'EUCAST recommande de **tester la sensibilité à l'oxacilline à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 µg** (sensible si \geq à 22 mm d'inhibition, résistante si $<$ à 22 mm d'inhibition) **sur une gélose Mueller-Hinton (MH) non supplémentée en NaCl, incubée à 35°C (\pm 2°C) pendant 18 \pm 2 heures**. L'utilisation d'un disque de céfoxitine est plus sensible que le disque d'oxacilline pour détecter les souches de *S. aureus* hétéro-résistantes. Les automates testent la céfoxitine pour déterminer la sensibilité à l'oxacilline. Les souches peuvent également être confirmées par détection de la PBP2a avec un test d'agglutination ou d'immunochromatographie. Les souches *mecC* peuvent donner de faux résultats négatifs si elles n'ont pas été préalablement induites. Les PCR pour tester la résistance à l'oxacilline doivent détecter les différents variants *mecA* et *mecC*.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2014/1.

Tableau 1.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline		138	120	-	18	-
Oxacilline	S	133	132	-	-	1 ¹
Céfoxitine	S	121	120	-	-	1 ²
Gentamicine	S	144	144	-	-	-
Amikacine ³	S	2	2	-	-	-
Vancomycine	S	145	143	-	1	1 ⁴
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	66	63	-	-	3 ⁵
Lévofloxacine	S	66	66	-	-	-
Moxifloxacine	S	38	38	-	-	-
Ofloxacine	S	4	4	-	-	-
Quinolone ⁶	S	1	1	-	-	-

¹ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (19 mm, Neosensitabs charge nouvelle) mais a mentionné « pas de zone EUCAST: n'est pas utilisé en routine » (pour la céfoxitine ce laboratoire a répondu « S »).

² Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (29 mm, disques en papier lus avec le Sirscan) et les résultats brut et expert (tous les deux « S ») mais a laissé ouvert le résultat final (pour l'oxacilline ce laboratoire a répondu « S »).

³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine au lieu de la gentamicine.

⁴ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (15 mm, disques en papier) mais a donné la remarque: « comme le diamètre est ≥ 7 , il faut faire la CMI (non effectué dans notre labo) ».

⁵ Trois laboratoires ont laissé ouvert le résultat final: un a mentionné le diamètre (29 mm, disques en papier lus avec le Sirscan) et les résultats brut et expert (tous les deux « S »); le deuxième a mentionné le diamètre (23, disques en papier) et le résultat brut (« S ») et le troisième n'a mentionné que le diamètre (28 mm, disques en papier).

⁶ Un laboratoire n'a pas mentionné le nom de la quinolone utilisée

Streptococcus agalactiae M/11521

Cette souche avait comme particularité d'être sensible à l'érythromycine mais résistante à la clindamycine.

61.9% des laboratoires ont mentionné que l'érythromycine était sensible; cependant 3.4% ont considéré cet antibiotique comme intermédiaire/sensible et 34.7% comme résistant.

La plupart des laboratoires ayant répondu « R », l'ont fait sur base du système expert de leur appareil (Vitek 2 (compact)). La compagnie bioMérieux a examiné la souche. Ci-dessous vous trouverez le résultat de leur examen :

« Nous avons répété les résultats des clients avec résultat ERY CMI ≤ 0.125 mg/L sur la carte AST-ST01 et nous confirmons que cette CMI est conforme (compris dans 1 double dilution de la CMI référence)

⇒ la CMI de l'érythromycine a été confirmée comme "sensible".

Le système expert AES est utilisé pour interpréter les valeurs de CMI du VITEK 2 MIC par antibiotique et de rendre possible la détection des mécanismes de résistance naturelle ou acquise.

Sur Vitek 2 chaque phénotype avec ERY S (CMI ≤ 0.125) et CLINDA R (CMI ≥ 1) a été décrite.

⇒ Avec les résultats : CMI clindamycine Résistante (CMI ≥ 1 mg/L) et test de Clindamycine inductible négatif, l'AES fait une correction thérapeutique et biologique sur l'érythromycine vers le phénotype le plus probable (MLSB constitutive) correspondant à la 'politique du plus petit risque.

Dans la littérature le profil Ery S et Clin R est rare et plutôt en faveur du phénotype LSa.

Par contre, ni le mécanisme, ni le gène ne sont connus pour l'espèce *Streptococcus agalactiae*.

La CMI obtenue sur Vitek 2 confirme le résultat attendu ery S, mais le Vitek 2 a donné 2 résultats : ERY S (CMI) et ERY R (expert). »

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné l'importance du dépistage universel réalisé chez toutes les femmes enceintes entre 35 et 37 semaines de gestation.

Le commentaire a également discuté de plus près les sensibilités aux différents antibiotiques:

- Pénicilline et antibiotiques β -lactames: *S. agalactiae* reste sensible aux β -lactames. L'EUCAST 2014 ainsi que le CLSI 2014 recommandent de répéter le test de sensibilité d'une souche qui apparaîtrait non sensible à la pénicilline et de toujours faire confirmer ce résultat par un laboratoire de référence. En effet depuis quelques années de rares souches de sensibilité réduite à la pénicilline, à l'ampicilline et aux céphalosporines (PR-GBS) ont été décrites.
- Macrolides et lincosamides: Comme chez de nombreuses espèces de streptocoques, une augmentation importante de la résistance à la clindamycine a aussi été observée parmi les GBS. Il existe différents mécanismes : une résistance isolée à l'érythromycine (8%), une résistance constitutive MLS (64.93%), une résistance MLS inductible (27.02%). En 2012, un nouveau phénotype déjà rencontré en Asie et en Nouvelle Zélande a été retrouvé au sein des souches belges. Il s'agit du phénotype L caractérisé par une résistance aux lincosamides qui ne s'accompagne pas d'une résistance aux macrolides.

Pour la détermination de la résistance inductible à la clindamycine, aussi bien l'EUCAST que le CLSI recommandent pour les souches résistantes à l'érythromycine la réalisation systématique d'un D-test en diffusion de disques. Les laboratoires utilisant une méthode en milieu liquide, y compris les systèmes automatisés, devraient aussi inclure un D-test en diffusion.

- Fluoroquinolones: le niveau de résistance reste limité en Europe
- La vancomycine: toutes les souches restent sensibles à la vancomycine.
- Tétracycline : plus de 85% des souches de GBS sont résistantes aux tétracyclines. . Ces souches résistantes auraient été sélectionnées par l'usage intensif des tétracyclines dès 1948.
- Aminoglycosides: Les GBS sont intrinsèquement résistants aux aminoglycosides et une monothérapie avec un aminoglycoside est inefficace, mais une synergie est possible avec les pénicillines ou glycopeptides si les souches n'ont pas acquis un haut niveau de résistance.

L'inévitable émergence de souches résistantes aux antibiotiques et le risque de dissémination de souches multi-résistantes représentent une menace à la fois pour l'antibioprophylaxie et pour les traitements, et mettent en évidence la nécessité de faire des surveillances épidémiologiques ainsi que l'importance des bonnes pratiques de laboratoire pour la réalisation des antibiogrammes.

L'émergence possible de souches de sensibilité réduite aux β -lactames ainsi que les taux de résistance observés à l'érythromycine et à la clindamycine justifient la nécessité de réaliser un antibiogramme lorsque ces molécules sont susceptibles d'être utilisées pour une antibioprophyllaxie ou un traitement.

En Belgique, afin de réduire le nombre de cas de femmes colonisées par GBS et allergiques à la pénicilline pour lesquels la sensibilité à la clindamycine n'a pas été déterminée, les nouvelles recommandations du Conseil Supérieur de la Santé (publication attendue au premier semestre 2015) proposeront de déterminer systématiquement les sensibilités à la pénicilline, l'érythromycine et à la clindamycine pour toutes les souches de GBS mises en évidence sur des prélèvements anténataux.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2014/1.

Tableau 1.2.2. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	125	124	-	1	-
Pénicilline ¹	S	23	23	-	-	-
Erythromycine	S	147	91	5	51	-
Clarithromycine ²	S	2	2	-	-	-
Clindamycine	R	152	1	-	151	-
Vancomycine	S	133	131	-	2	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	11	7	1	3	-
Lévofloxacine	S	79	77	-	2	-
Moxifloxacine	S	36	35	1	1	1 ³
Norfloxacine	S	3	2	-	1	-
Ofloxacine	S	4	3	1	-	-
Quinolone ⁴	S	1	1	-	-	-

¹ Vingt-trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline au lieu de l'ampicilline.

² Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.

³ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (25 mm, disques en papier lus avec le Sirscan) et les résultats brut et expert (tous les deux « S ») mais a laissé ouvert le résultat final.

⁴ Un laboratoire n'a pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Streptococcus pneumoniae M/10253

La particularité de cette souche était qu'elle était sensible à la pénicilline, mais résistante à l'érythromycine, à la clindamycine et à la tétracycline.

Ni la détection de la sensibilité à la pénicilline, ni la détection de la résistance à l'érythromycine et la tétracycline n'ont posé de problème. Cependant environ 10% des laboratoires ont donné l'interprétation fautive « S » pour la clindamycine.

Le commentaire a clarifié comment le texte d'EUCAST concernant la clindamycine et les pneumocoques doit être interprété et a fait une comparaison entre le CLSI et l'EUCAST pour cet antibiotique.

1. Le texte d'EUCAST peut en effet probablement causer une confusion :

“2. Inducible clindamycin resistance can be detected by antagonism of clindamycin activity by a macrolide agent. If not detected, then report as susceptible. If detected, then report as susceptible and add this comment to the report: "Patients with serious infections caused by isolates with inducible clindamycin resistance should not be treated with clindamycin alone as full resistance may develop during therapy".

En fait ce texte doit être lu comme suit: 2 if susceptible with disk test, the susceptibility should be further analysed for inducible resistance; inducible (avec le reste du texte)

2. CLSI vs EUCAST :

a. Les breakpoints des CMI sont un peu différents

EUCAST : R si > 0.5 , S si ≤ 0.5 (donc pas de résultats intermédiaires)

CLSI : R si ≥ 1 (le même qu'EUCAST, S si ≤ 0.25 (et donc $0.5 =$ intermédiaire)

Par conséquent les breakpoints des tests de diffusion sur disque diffèrent également

b. Le CLSI décrit également une technique de microdilution pour la détection de résistance inductible, EUCAST ne le fait pas.

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2014/2.

Tableau 1.2.3. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M M/10253 (*Streptococcus pneumoniae*)

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat attendu</i>	<i>Total</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Pénicilline	S	155	155	-	-
Erythromycine	R	153	2	2	149
Clindamycine	R	114	11	3	100
Tétracycline	R	131	-	1	130
Doxycycline ¹		1	-	-	1
Minocycline ²		1	-	-	1
Lévofoxacine	S	111	111	-	-
Moxifloxacine	S	100	100	-	-
Norfloxacine ³		1	1	-	-
Ofloxacine ⁴		2	1	1	-

¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la doxycycline au lieu de la tétracycline.

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la minocycline au lieu de la tétracycline.

³ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la norfloxacine au lieu de la lévofoxacine et de la moxifloxacine.

⁴ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofoxacine et de la moxifloxacine; un deuxième laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine, à la lévofoxacine et à la moxifloxacine.

Citrobacter koseri M/12665

Cette souche était caractérisée par la résistance à l'ampicilline, mais elle était sensible à tous les autres antibiotiques qui devaient être testés.

Elle n'a posé aucun problème pour les laboratoires

Le commentaire concernant l'enquête a décrit la taxonomie et a résistance de *Citrobacter*, dans lequel entre autres les différences dans la résistance naturelle de *C. koseri* et *C. freundii* ont été décrites:

C. koseri -> R ampicilline, R ticarcilline, S amoxicilline-acide clavulanique

C. freundii -> R ampicilline, S ticarcilline, R amoxicilline-acide clavulanique

La souche M/12665 présentait le profil de sensibilité d'une souche sauvage de *C. koseri*. Quelques laboratoires ont extrapolé la souche résistante au céfuroxime et à l'association amoxicilline-acide clavulanique sur base de l'identification. Cette extrapolation s'applique à *C. freundii* mais pas à *C. koseri* selon les critères du CLSI 2014. A noter que l'édition 2012 du CLSI mentionne une résistance naturelle de *C. koseri* pour l'ampicilline, l'association amoxicilline- acide clavulanique, ampicilline-sulbactam, la pipéracilline et la ticarcilline alors que l'édition 2014 mentionne une résistance naturelle pour l'ampicilline, la pipéracilline et la ticarcilline. La résistance naturelle de *C. koseri* selon la SFM et l'Eucast concerne l'ampicilline, la pipéracilline et la ticarcilline.

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2014/2.

Tableau 1.2.4. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12665 (*Citrobacter koseri*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R
Ampicilline	R	134	-	-	134
Amoxicilline ¹	R	1	-	-	1
Amoxicilline-acide clavulanique	S	157	154	2	1
Céfuroxime	S	141	134	5	2
Céfazoline ²		1	1	-	-
Céfotaxime ³		2	2	-	-
Ceftazidime ³		3	3	-	-
Céfépime ³		2	2	-	-
Amikacine	S	130	129	1	-
Gentamicine	S	139	138	-	1
Quinolone					
Ciprofloxacine	S	125	125	-	-
Lévofloxacine	S	31	31	-	-
Moxifloxacine	S	1	1	-	-
Norfloxacine	S	25	25	-	-
Ofloxacine	S	1	1	-	-
Quinolone ⁴	S	4	4	-	-

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

² Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la céfazoline au lieu de la céfuroxime.

³ Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la céfuroxime également celle à la ceftazidime. Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la céfuroxime également celle à la ceftazidime, la céfotaxime et la céfépime. Un laboratoire a déterminé au lieu de la sensibilité à la céfuroxime celle à la ceftazidime, la céfotaxime et la céfépime.

⁴ Quatre laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Enterococcus faecalis M/4424

Ce germe était sensible à tous les antibiotiques testés (pour la gentamicine la mention « sensible (« S ») » doit être interprétée comme présence de synergie de la gentamicine à haut niveau avec les β -lactamines. Pour des raisons de lisibilité nous l'avons repris dans les tableaux comme « S ».). En général, les laboratoires n'ont pas eu de grands problèmes.

Le commentaire de l'enquête a mentionné que les entérocoques sont naturellement résistants à l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim et les fluoroquinolones classiques ne sont pas les meilleurs antibiotiques contre *E. faecalis*. La résistance à l'ampicilline est rare chez *Enterococcus faecalis*. L'étude EARSS de 2001 a montré une résistance moyenne de 3% au sein des souches invasives. Seule la résistance de haut niveau aux aminoglycosides doit être recherchée. En règle générale elle est présente dans environ 30% des souches d'*E. faecalis* invasifs

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2014/3.

Tableau 1.2.5. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4424 (*Enterococcus faecalis*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat attendu</i>	<i>Total</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
Ampicilline	S	152	147	1	4
Amoxicilline ¹	S	1	1	-	-
Gentamicine	S	113	101	-	12
Vancomycine	S	146	142	1	3
Teicoplanine	S	114	114	-	-

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

Escherichia coli M/12884

Cette souche était porteuse d'une BLSE (CTX-M). Les résultats ont bien illustré la problématique comment les laboratoires doivent traiter ce genre de souches.

74 laboratoires ont mentionné explicitement la présence d'une BLSE; 5 d'entre eux ont mentionné qu'il s'agit probablement d'une CTX-M, 5 ont mentionné avoir modifié le résultat de l'amoxicilline-acide clavulanique et/ou des céphalosporines, 5 ont mentionné qu'un échec du traitement avec l'amoxicilline- acide clavulanique est possible et 1 laboratoire a mentionné ne pas avoir modifié les résultats des céphalosporines (CMI \leq 1 mg/L – directives EUCAST).

Le commentaire concernant l'enquête a amplement discuté la problématique des BLSE. Vous pouvez retrouver le commentaire complet (y inclus des tableaux comparatifs entre CLSI et EUCAST) dans le rapport 2014/3. Ci-dessous vous trouverez les conclusions de ce commentaire:

1.

L'EUCAST a des breakpoints plus sévères et donc plus sûrs, avec également une remarque critique pour les résultats S d'amoxicilline/acide clavulanique et de pipéracilline/tazobactame. Il faut probablement retenir que pour un producteur de BLSE on ne rapporte l'amoxicilline/acide clavulanique pas comme S sauf s'il s'agit d'une infection urinaire ou d'une bactériémie d'origine urinaire (il faut donc connaître cette information clinique). En ce qui concerne la pipéracilline/tazobactame je crois que beaucoup l'utilisent en cas de résultat S, quoique ceci ne soit absolument pas sûr, même avec les breakpoints plus sévères d'EUCAST (et même, comme dans certaines hôpitaux, en cas d'utilisation systématique de doses plus élevées).

La CLSI est moins sévère pour ces antibiotiques et il est difficile de dire qui des deux a raison.

Les profils de résistance des souches d'*E. coli* producteurs de BLSE sont actuellement très variés: soit les souches peuvent être résistantes à la plupart des bêta-lactamines, à l'exception de la témocilline et des carbapénèmes, et simultanément aux aminosides, aux quinolones et au cotrimoxazole soit à l'autre bout du spectre nous trouvons des souches, comme M/12844, qui sont résistantes à la ceftriaxone et sensibles à tous les autres antibiotiques.

Pour être complet, on conseille toujours de rechercher et de rapporter les BLSE pour des raisons épidémiologiques et le contrôle de l'infection. Ceci est probablement utile pour les souches de *Klebsiella* et certaines autres entérobactéries, et moins pour les souches d'*E. coli* qui sont déjà fréquemment productrices de BLSE dans la communauté et donc également chez les patients hospitalisés.

2.

Il est problématique de tester et de rapporter l'amoxicilline-acide clavulanique en Belgique à cause des caractéristiques intrinsèques de l'antibiotique et des limitations des automates et de l'absence de guidelines belges.

3.

Le comité d'experts a rassemblé dans ce rapport l'état des lieux, indiqué quelques points critiques et soulevé des questions, de façon à ce que tout le monde sache où nous en sommes. Le comité n'a pas dans ses prérogatives de trancher les choix à faire en matière d'expertise de l'antibiogramme lorsque plusieurs options sont possibles.

Le tableau suivant reprenant les résultats de l'enquête a été publiés dans le rapport global 2014/3.

Tableau 1.2.6. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12884 (*Escherichia coli*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R
Amoxicilline-acide clavulanique		149	51	25	73
Céfuroxime	R	147	-	1	146
Céfotaxime	R	124	-	13	111
Ceftazidime	S	145	50	46	49
Céfoxitine ¹		1	1	-	-
Ceftriaxone ²		7	-	-	7
Céfépime	R	136	18	60	58
Gentamicine	S	138	138	-	-
Amikacine ³	S	6	6	-	-
Quinolone					
Ciprofloxacine	S	123	123	-	-
Lévofloxacine	S	41	41	-	-
Norfloxacine	S	6	6	-	-
Ofloxacine	S	2	2	-	-
Acide nalidixique	S	1	1	-	-

¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la céfoxitine (mais pas à la céfépime).

² Six laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftriaxone au lieu de la céfotaxime; un a déterminé la sensibilité à la ceftriaxone en plus des autres céphalosporines.

³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine au lieu de la gentamicine; quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine et à la gentamicine.

II. Parasitologie

En 2014, trois enquêtes ont été organisées pour l'évaluation dans le domaine de la parasitologie.

2.1 Enquête 1

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang (P/9033 et P/12526) ont été envoyés.

169 laboratoires ont participé à l'enquête.

L'échantillon P/9033 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.
Ce résultat a été confirmé par PCR.

Etant donné qu'un certain nombre de laboratoires ont rencontré des problèmes lors de la coloration, l'échantillon P/9033 ne sera pas pris en compte pour l'évaluation. Une coloration de Giemsa (tampon pH 7.2) lors d'une évaluation préalable à l'ISP a permis de visualiser clairement les globules rouges et les parasites.

Dix laboratoires ont laissé la réponse pour cet échantillon ouverte vu les difficultés qu'ils ont éprouvées pour visualiser les globules rouges et les parasites.

131 (82.4%) des 159 autres laboratoires ont mentionné la présence de *Plasmodium falciparum*. 130 d'entre eux ont mentionné trophozoïte comme stade d'évolution.

L'échantillon P/12526 contenait des trophozoïtes, des gamétocytes et des schizontes de *Plasmodium ovale*.

Ce résultat a été confirmé par PCR.

Plasmodium ovale (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 85 (50.3%) laboratoires. 53 (31.4%) laboratoires ont mentionné la présence de *Plasmodium non-falciparum* et 1 laboratoire *Plasmodium species*

Pour *P. ovale* 77 (90.6%) laboratoires ont mentionné le stade d'évolution trophozoïte, 51 (60%) schizonte et 42 (49.4%) gamétocyte.

Pour *P. non-falciparum* laboratoires 48 (90.6%) ont mentionné le stade d'évolution trophozoïte, 32 (60.4%) schizonte et 24 (45.3%) gamétocyte.

Le commentaire concernant cet échantillon a souligné une fois de plus que les « erreurs majeures » sont i) de ne pas trouver un *P. falciparum* ou de le répondre erronément et ii) de répondre *Plasmodium species* sans s'être exprimé sur la présence ou l'absence d'un *P. falciparum*. La raison pour laquelle cette dernière réponse est considérée comme une erreur grave est que le traitement d'une infection par *P. falciparum* est différent de celui d'une infection à *P. non-falciparum*.

2.2 Enquête 2

Deux suspensions de selles formolées, P/12729 et P/12752, ont été envoyés.

151 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/12729 contenait des œufs de *Schistosoma mansoni*.

Schistosoma mansoni (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 147 (97.4%) laboratoires. Les œufs ont été retrouvés par 141 (95.9%) d'entre eux.

L'échantillon P/12752 contenait des oocystes de *Cystoisospora belli* (le nouveau nom d'*Isospora belli*).

Cystoisospora belli (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 143 (94.7%) laboratoires. Les oocystes ont été retrouvés par 128 (89.5%) d'entre eux.

Cet échantillon a déjà été envoyé dans les enquêtes 2008/2 (sous le numéro P/8315), 2009/2 (sous le numéro P/9273) et 2012/3 (sous le numéro P/11967)

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus en 2008, 2009, 2012 et 2013 pour ce même échantillon.

Tableau 2.1 Comparaison des résultats pour le même échantillon envoyé dans les enquêtes 2008/2, 2009/2, 2012/3 et 2014/2

Parasite	P/8315 (2008/2)	P/9273 (2009/2)	P/11967 (2012/3)	P/12752 (2014/2)
<i>C. belli</i>	95.3%	93.5%	99.4%	94.7%

2.3 Enquête 3

Deux suspensions de selles formolées, P/10183 et P/12876, ont été envoyés.

152 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/10183 contenait des œufs d'*Hymenolepis nana*.

Hymenolepis nana (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 146 (96.1%) laboratoires. Les œufs ont été retrouvés par 136 (93.2%) d'entre eux.

L'échantillon P/12876 était négatif et ne contenait pas de parasites. Il contenait par contre des spores d'un *Morchella* (un champignon comestible). Cet échantillon a été envoyé à des fins didactiques.

112 (74.1%) laboratoires ont répondu "Absence de parasites".

2.4 Utilisation du Toolkit

Le nombre de réponses envoyé par voie informatique (Toolkit) est respectivement 86.4%, 85.4% et 84.2% pour chacune des enquêtes.

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

.

III. Sérologie infectieuse

En 2014, les paramètres sérologiques pour la syphilis, l'hépatite A, la Rubéole, la toxoplasmose et le VIH ont été évalués. Il y avait également trois échantillons pour la détection de l'antigène de l'influenza. Le nombre de participants dépendait du paramètre

3.1 La syphilis

2 échantillons lyophilisés, S/9592 et IS/9607 ont été envoyés pour effectuer la détermination des anticorps anti-tréponémiques.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

« Il s'agit de 2 échantillons prélevés lors d'une réunion de jeunesse où les participants avaient la possibilité de se faire tester pour la présence d'IST. »

Les interprétations attendues étaient:

S/9592: Interprétation: Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active

IS/9607: Interprétation: Absence d'anticorps.

85% des laboratoires ont répondu par Toolkit.

147 laboratoires ont participé à cette enquête.

Sur l'échantillon S/9592 les 147 laboratoires ont effectué 341 tests, à savoir 209 tests tréponémiques (TT) et 132 tests non-tréponémiques (TNT).

11 laboratoires ont effectué 1 test, 90 laboratoires ont effectué 2 tests, 35 laboratoires ont effectué 3 tests, 10 laboratoires ont effectué 4 tests et 1 laboratoire a effectué 5 tests.

Sur l'échantillon IS/9607 ils ont effectué 312 tests, à savoir 188 tests tréponémiques et 124 tests non-tréponémiques.

19 laboratoires ont effectué 1 test, 95 laboratoires ont effectué 2 tests, 29 laboratoires ont effectué 3 tests et 4 laboratoires ont effectué 4 tests.

Respectivement 81.7% (S/9592) et 89.5% (IS/9607) des laboratoires effectuant 1 test, ont utilisé un test tréponémique. Respectivement 95.6% (S/9592) et 95.3% (IS/9607) des laboratoires effectuant plus d'un test ont utilisé la combinaison de tests tréponémiques et non-tréponémiques.

Les trousse les plus utilisées sont Serodia TPPA (Fujirebio) (40.8% en 36.7%), Architect Syphilis TP (Abbott) (25.2% pour les 2 échantillons), Liaison Treponema Screen (DiaSorin) (25.2% pour les 2 échantillons), RPR -nosticon II (bioMérieux) (20.4% pour les 2 échantillons), RPR-Reditest (Biokit) (19.7% et 17.0%) et RPR Carbon (Spinreact) (19.0% pour les 2 échantillons). (% exprimé en fonction du nombre de laboratoires participants).

Pour les tests non-tréponémiques pour l'échantillon S/9592, tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Pour les tests tréponémiques pour les anticorps « totaux » 99.3% des laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif; pour les IgG, tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif. Pour les IgM 4 laboratoires ont obtenu un résultat positif et 2 un résultat borderline.

La plupart des laboratoires (92.5%) ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ». Deux laboratoires ont préféré « Présence d'anticorps

suggestifs d'une infection non-active ». 6.1% des laboratoires ont mentionné que des tests supplémentaires et/ou un échantillon de suivi sont nécessaires pour faire la distinction entre infection active et non-active.

Pour l'échantillon IS/9607, tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif aussi bien pour les tests non-tréponémiques que pour les tests tréponémiques

Tous les laboratoires ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps ».

Le commentaire concernant l'enquête a souligné qu'il est important que les **tests non-tréponémiques** n'aient pas trop de variation au sein d'un même laboratoire étant donné que le test est utilisé pour **évaluer l'effet du traitement**.

Le commentaire a également discuté de plus près les interprétations que certains labos ont données. Un labo qui **n'a effectué qu'un test tréponémique**, a mentionné demander un échantillon de suivi pour l'évaluation de l'évolution sérologique. Même s'il n'est pas exclu que ceci puisse être utile, il est conseillé **d'effectuer d'abord un test non-tréponémique sur l'échantillon**.

Un labo qui a obtenu un résultat très fortement positif pour les RPR et un résultat (faussement) négatif pour le test tréponémique qui recherche les anticorps totaux, a donné comme remarque qu'il peut s'agir d'une infection très récente ou d'un résultat faux positif pour les RPR. Même **si la combinaison d'un RPR élevé ($\geq 1/16$) et un test tréponémique négatif est possible** (2), elle est cependant **très rare** et **doit nous alerter**. Les réactions faussement positives sont en général moins intenses (dans notre expérience le titre est rarement plus élevé que 1/8) et les méthodes qui détectent les anticorps totaux (et donc les anticorps IgM) deviennent d'habitude plus vite positives que les tests non-tréponémiques

Une deuxième partie du commentaire a mentionné les algorithmes utilisés en Belgique et les directives existantes, qui ont été décrites amplement dans le rapport global de l'enquête.

3.2 L'Ag de l'Influenza

Trois échantillons étaient proposés pour la recherche de l'antigène de l'influenza, Ag/12691, Ag/12692 et Ag/12693. Les 3 échantillons étaient positifs (Ag/12691: influenza A (H3N2), Ag/12692: influenza A (H1N1), Ag/12693: influenza B).

100 laboratoires ont participé à cette enquête. Un laboratoire n'a utilisé qu'un test PCR et 2 laboratoires un test d'Ag et une PCR. Les résultats des PCR étaient corrects, mais étant donné que l'enquête ne ciblait que les tests d'Ag, les résultats des PCR ne sont pas repris dans la suite du traitement.

98 des 99 laboratoires ayant utilisés des tests d'Ag ont utilisé un test et un laboratoire deux tests. Au total les 99 laboratoires ont donc fourni 100 résultats pour chaque échantillon.

82.8% des laboratoires ont renvoyé leurs résultats via la base de données électronique (Toolkit).

Les réactifs les plus utilisés sont BinaxNOW Influenza A & B (Alere Health) (36.4%), Inlu-A&B Respi-strip (Coris Bioconcept) (17.2%) et Directigen Flu A&B test kit (Becton Dickinson) (10.1%),

Pour l'échantillon Ag/12691, 96 (97%) laboratoires ont obtenu un résultat positif, 2 ont mentionné que le résultat était ininterprétable avec leur technique et un laboratoire a obtenu un résultat négatif avec les 2 trousse qu'il a utilisé. 87 des laboratoires ayant obtenu un résultat positif ont mentionné que l'échantillon était positif pour l'influenza A.

Pour l'échantillon Ag/12691, 94 (95%) laboratoires ont obtenu un résultat positif, 2 ont mentionné que le résultat était ininterprétable avec leur technique et 3 laboratoires ont obtenu un résultat borderline. 86 des laboratoires ayant obtenu un résultat positif ont mentionné que l'échantillon était positif pour l'influenza A.

Pour l'échantillon Ag/12693, 95 (96%) laboratoires ont obtenu un résultat positif, 2 ont mentionné que le résultat était ininterprétable avec leur technique et un laboratoire a obtenu un résultat borderline. Un laboratoire qui a utilisé une trousse qui ne détecte que l'Influenza A, a évidemment obtenu un résultat négatif. 88 des laboratoires ayant obtenu un résultat positif ont mentionné que l'échantillon était positif pour l'influenza B. Il est à noter que 44.4% des utilisateurs de la trousse BinaxNOW Influenza A & B kit ont mentionné également la présence d'influenza A.

Ci-dessous vous trouverez les résultats de l'examen que la firme Alere a réalisé sur les 3 échantillons:

"Thank you for bringing to our attention your observation of false positive results on EQA samples with the BinaxNOW Flu A&B part number 416000

The EQA was composed of 3 samples:

Ag/12691: influenza A (H3N2)

Ag/12692: influenza A (H1N1)

Ag/12693: influenza B)

A false positive result was observed on the third sample, the sample that contained only influenza B.

The manufacturer has now completed their evaluation of the product in question with the information you provided and the findings are detailed below.

The returned samples were tested with 2 different lots of the BinaxNOW card test:

Sample 12691: all had valid, Flu A positive, Flu B negative results.

Sample 12692: all had valid, Flu A positive, Flu B negative results.

Sample 12693: all had valid, Flu A and B positive results. The Flu B line intensities were very strong and the Flu A results were less intense (light). This replicated the customer's observations.

Additional internal FIO PCR testing was performed and no definitive cause was able to be determined. A root cause was not able to be determined; however it appears to be due to the sample. It appears that the titer of the sample is very high. The high titer may be affecting the conjugates and may be causing a "spilling over" or cross-linking into larger particles that are getting physically caught up on the Flu A sample line causing the appearance of the Flu A line.

No further sample or information has been supplied by the customer at this time, however if anything additional is able to be obtained, additional testing may be performed.

We trust that our investigation has helped to maintain your confidence in our products and we apologise for any inconvenience that this incident may have caused you. “

Le commentaire concernant l'enquête a décrit les différentes méthodes pour la détection de l'antigène d'influenza. Il a mentionné que les essais **DFA** (Direct Fluorescence Antigen) ont besoin d'un **beau tapis cellulaire** pour interpréter la fluorescence – et donc de l'antigène viral présent- de façon fiable. Etant donné qu'il s'agissait d'un **surageant très dilué d'une culture virale** dans les 3 cas, les échantillons de l'EEQ **n'étaient pas aptes pour être analysés avec les trousse de DFA** (étant donné la présence insuffisante de matériel cellulaire). C'est probablement également la raison pour laquelle on a décidé de répondre « négatif » pour l'échantillon Ag/12691 avec ces 2 mêmes trousse de 2 DFA: s'il n'y a pas ou pas assez de cellules présentes, il n'y a logiquement également pas d'inclusions virales à visualiser dans les cellules, Il est d'une grande importance de donner une réponse claire au clinicien, et une réponse négative a probablement d'autres conséquences que si on répond « non-interprétable ».

Le commentaire a également mentionné les **facteurs qui influencent l'exactitude des RIDT** (Rapid Influenza Detection Tests) dans un format POCT: **les signes et symptômes cohérents avec l'influenza, la prévalence de l'activité d'influenza dans la population examinée, Le délai entre le début de la maladie et le prélèvement des échantillons respiratoires pour tester, le type d'échantillon respiratoire, l'âge du patient , le virus d'influenza qui circule (type, subtype,...), l'exactitude du test en comparaison avec un test de référence test (le « gold standard » = RT-PCR ou culture virale).** Chacun de ces éléments a été discuté amplement dans le commentaire.

3.3 L'HAV

Deux échantillons ont été envoyés : IS/6623 et IS/12676.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/6623: Un homme de 45 ans se présente à la consultation de la médecine du voyage avant de partir pour les tropiques. Le médecin demande la détermination des IgG anti-HAV.

IS/12676: Patient avec des tests hépatiques anormaux et souffrant de jaunisse depuis 2 semaines.

Les résultats et interprétations attendues étaient :

IS/6623:

IgG: positifs
IgM: négatifs
Interprétation: Immunité

IS/12676:

IgG: négatifs
IgM: négatifs
Interprétation: Pas d'immunité

Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'EEQ 2010/2 sous le numéro S/6529.

Au total 152 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse; 151 ont envoyé une réponse pour l'échantillon IS/6623, un laboratoire a mentionné n'effectuer en routine que la détermination des IgM anti-HAV et pas d'IgG ou d'anticorps totaux (et que par conséquent, il ne pouvait répondre à la question) ; l'échantillon IS/12676 a été analysé par 152 laboratoires.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 89.5%.

Sur l'échantillon IS/6623, les 151 laboratoires ont effectué 288 tests; sur l'échantillon IS/12676, les 152 laboratoires ont effectué 291 tests.

Sur l'échantillon IS/6623, 17 laboratoires ont effectué un test, 132 laboratoires 2 tests, 1 laboratoire 3 tests et 1 laboratoire 4 tests.

Sur l'échantillon IS/12676, 16 laboratoires ont effectué un test, 134 laboratoires 2 tests, 1 laboratoire 3 tests et 1 laboratoire 4 tests.

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

Tableau 3.3.1. Nombre de participants répartis par paramètre

<i>Nombre de tests</i>	<i>Types de tests</i>	<i>IS/6623</i>	<i>IS/12676</i>
1 test	Ac totaux	4	1
	IgM	13	15
2 tests	Ac totaux + IgM	95	97
	IgG + IgM	37	37
3 tests	Ac totaux + 2 IgM	1	1
4 tests	Ac totaux + IgG + 2 IgM	1	1
Total		151	152

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect HAV IgG (Abbott) (100% les 2 échantillons) (il n'existe qu'une trousse pour détermination des IgG anti-HAV sur le marché belge)
- Ac. totaux: Cobas anti-HAV (Roche) (23.8% et 24.0%), Liaison anti-HAV (Diasorin) (14.9% et 16.0%), ADVIA Centaur HAV Total (Siemens) (12.9% et 13.0%) et VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (11.9% et 12.0%)
- IgM: Architect HAV IgM (Abbott) (26.2% et 26.1%), Cobas anti-HAV IgM (Roche) (18.8% et 19.0%) et VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (12.8% et 12.4%)

Pour l'échantillon S/5627, tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux ou les IgG, les ont trouvés positifs.

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatives.

90.8% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ». Un laboratoire a répondu « Pas d'immunité » ; étant donné que ce laboratoire a obtenu un résultat positif pour les IgG, il a probablement coché la mauvaise case dans le toolkit.

Quatre des laboratoires n'ayant déterminés que les IgM, ont mentionné qu'il n'y a pas d'infection récente/aiguë par le virus de l'hépatite A; les neuf autres ont préféré ne pas s'exprimer.

Pour l'échantillon S/6625, seize laboratoires ont obtenu un résultat négatif, seize un résultat positif et six un résultat borderline avec la trousse Architect.

La firme a examiné théoriquement le problème; ci-dessous vous trouverez leur réponse:

“The ARCHITECT HAVAb-IgG assay shows a shift in results to higher S/CO values over time, especially for plasma samples, potentially leading to reduced specificity and increased

false reactive results. Therefore the expiration date of all ARCHITECT HAVAb IgG reagent lots which had already been released was reduced retrospectively to 6 months per FA20SEP2012 and until further notice all future lots will have a reduced dating of 6 months.

The investigation has been completed and determined the ARCHITECT HAVAb IgG microparticle component as probable cause of the issue. In addition, as a contributing factor the anti-HAV undercoating antibody, used to bind HAV antigen onto the microparticles, has been identified.

The deficiency of the ARCHITECT HAVAb IgG microparticle component could not be committed to a specific failure mode such as raw material, precursor material, process or equipment. Consequently, the ARCHITECT HAVAb IgG microparticle will be reformulated to better protect the product requirements and provide a reliable ARCHITECT HAVAb IgG product performance.”

Les anticorps totaux ont été considérées comme négatifs par 99 (99.0%) laboratoires. Un laboratoire a obtenu un résultat positif.

150 (99.3) laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatives. Un laboratoire a obtenu un résultat positif.

72.4% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Pas d'immunité».

11 des laboratoires n'ayant déterminé que les IgM, ont mentionné qu'il n'y a pas d'infection récente/aiguë par le virus de l'hépatite A; les quatre autres laboratoires ont mentionné qu'il était impossible de donner une interprétation sur seule base des IgM, mais que les Ac. totaux/IgG sont nécessaires à cette fin. Deux laboratoires qui ont déterminé les Ac. totaux et les IgM et un laboratoire qui a déterminé les IgG et IgM (tous ces résultats étant négatifs), ont également répondu « pas d'infection récente ».

Quatre des six laboratoires qui ont obtenu un résultat borderline pour les IgG, ont mentionné dans l'interprétation qu'il y avait un résultat borderline pour les IgG (accompagné ou non de la remarque qu'il n'y a pas d'infection récente) ; les 2 autres de ces laboratoires ont fourni l'interprétation « Pas d'immunité ».

Treize des 16 laboratoires qui ont obtenu un résultat positif pour les IgG, ont donné l'interprétation « Immunité », un a mentionné qu'il y avait une faible présence des IgG et qu'il faut tester d'autres sérologies un a mentionné la possibilité d'une infection récente (même s'il a considéré les IgM comme négatives) et un a mentionné l'interprétation « autre » sans le préciser.

Le laboratoire qui a obtenu un résultat positif pour les IgM (mais un résultat négatif pour les Ac. totaux), a donné l'interprétation « Pas d'immunité ».

Deux laboratoires ont mentionné dans leur interprétation qu'un échantillon de suivi serait souhaitable.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné pour l'échantillon S/6623 que vu la demande explicite du clinicien et la situation clinique qui nécessite **une évaluation sérologique de l'immunité, la détermination des seules IgM ne répond pas à cette demande clinique**. En cas de détermination uniquement des anticorps totaux, la recherche des IgM peut se révéler utile pour donner une preuve sérologique de l'immunité.

Pour l'échantillon S/12676 le commentaire a mentionné que si en cas d'un tableau clinique suspect, comme dans la situation actuelle, il n'y a eu **qu'une détermination des anticorps totaux avec résultat positif, sans que les résultats d'une détermination des IgM soient disponibles, l'interprétation « immunité » ne peut pas être considérée comme correcte**. Etant donné que les IgM atteignent un pic au moment de la période symptomatique d'infection par l'hépatite A et que dans le cas présent il s'agit d'un patient symptomatique (jaunisse), la sérologie de suivi par un nouveau prélèvement n'est pas indiquée.

3.4 La rubéole

Deux échantillons ont été envoyés : IS/9599 et IS/10531.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/9599: Une jeune femme se présente chez son généraliste pour un examen avant grossesse. Elle ne se rappelle plus si elle a été vaccinée contre la rubéole. Le médecin prend un échantillon pour contrôler les anticorps.

IS/10531: Une jeune femme d'origine étrangère, qui n'a pas été vaccinée dans sa jeunesse, se présente chez son médecin avec un rash et de la fièvre.

Les résultats attendus étaient :

IS/9599: IgG : positives
IgM: négatives
Interprétation : Immunité

IS/10531: IgG : positives
IgM: négatives
Interprétation : Immunité

143 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 89.5%.

Sur l'échantillon IS/9599, 15 laboratoires ont effectué un test, 126 laboratoires 2 tests, 1 laboratoire 3 tests et 1 laboratoire 4 tests.

Sur l'échantillon IS/10531, 12 laboratoires ont effectué un test, 129 laboratoires 2 tests, 1 laboratoire 3 tests et 1 laboratoire 4 tests.

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

Tableau 3.4.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Types de tests	IS/9599	IS/10531
1 test	IgG	15	12
2 tests	IgG + IgM	126	129
3 tests	IgG + 2 IgM	1	1
4 tests	2 IgG + 2 IgM	1	1
Total		143	143

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect Rubella IgG (Abbott) (25%, les 2 échantillons), Liaison Rubella IgG (DiaSorin) (16.7%, les 2 échantillons), Cobas Rubella IgG (Abbott) (15.3%, les 2 échantillons) et VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (10.4%, les 2 échantillons)
- IgM: Architect Rubella IgM (Abbott) (25.4% et 25.6%), Liaison Rubella IgM (DiaSorin) (17.7% et 18.0%), Cobas Rubella IgG (Abbott) (13.1% et 12.8%) et VIDAS Rub IgM (bioMérieux) (12.3% et 12.8%)

Pour l'échantillon IS/9599 tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG et un résultat négatif pour les IgM.

140 (97.7%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ». Trois laboratoires qui ont uniquement déterminé les IgG, ont préféré ne pas s'exprimer.

Pour l'échantillon IS/10531 tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG. 130 laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM ; un laboratoire a répondu « positif » (probablement une erreur de transcription).

126 (88.1%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ». Quelques laboratoires ont préféré une autre option.

Dix (7.0%) laboratoires ont donné l'interprétation « Possibilité d'une infection récente » (5 labos avec les résultats IgG+ et IgM-; 5 laboratoires qui ont uniquement déterminé les IgG). Six laboratoires qui ont uniquement déterminé les IgG, ont préféré ne pas s'exprimer. Un laboratoire a répondu « Pas d'immunité » (en dépit des IgG positives).

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné que s'il est formellement impossible d'exclure une infection récente sans réaliser les IgM, il est à noter que dans le cadre d'une recherche d'immunité et en dehors de toute symptomatologie suggestive, il est inutile de réaliser les IgM en routine. Dans ce contexte, l'interprétation « immunité » fournie par les laboratoires qui n'ont réalisé que les IgG est tout à fait correcte (comme c'était le cas pour l'échantillon IS/9599).

En ce qui concerne l'échantillon IS/10531, qui avait un tout autre contexte clinique ; le commentaire a souligné que la réalisation des IgM est nécessaire pour poser le diagnostic ou l'exclure. Cinq labos ayant réalisé les IgM et les ayant trouvées négatives, en présence d'IgG, ont choisi l'interprétation « possibilité d'une infection récente ». Le choix de cette interprétation est discutable car **l'absence d'IgM exclut raisonnablement le diagnostic**. Il est préférable dans ce cas **d'orienter le diagnostic vers d'autres viroses** tel que parvovirus B19 ou rougeole.

3.5 La toxoplasmose

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Toxoplasme, IS/10545 et IS/12002.

IS/10545: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »

IS/12002: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »

Les résultats attendus étaient :

IS/10545: IgG négatif
IgM négatif
Interprétation: Absence d'anticorps spécifiques

IS/12002: IgG positif
IgM négatif
Interprétation: Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs)

148 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 92.6%.

Pour l'échantillon IS/10545 les laboratoires ont effectué 309 tests : 142 laboratoires ont effectué 2 tests, 3 laboratoires ont effectué 3 tests, un laboratoire a effectué 4 tests, un laboratoire 5 tests et un laboratoire 7 tests.

Pour l'échantillon IS/12002 les laboratoires ont effectué 327 tests: 128 laboratoires ont effectué 2 tests, 15 laboratoires ont effectué 3 tests, 2 laboratoires ont effectué 4 tests, 2 laboratoires ont 5 tests et un laboratoire 8 tests.

Le tableau ci-dessous présente le nombre des tests effectués par échantillon en fonction du nombre de laboratoires.

Tableau 3.5.1. Nombre de participants répartis par paramètre pour le Toxoplasme (enquête 2014/3)

<i>Nombre de tests</i>	<i>Types de tests</i>	<i>IS/10545</i>	<i>IS/12002</i>
2 tests	IgG + IgM	142	128
3 tests	2 IgG + IgM	1	1
	IgG + 2 IgM	2	-
	IgG + IgM + avidité	-	14
4 tests	2 IgG + 2 IgM	1	2
5 tests	2 IgG + 2 IgM + avidité	1	2
7 tests	2 IgG + 3 IgM + IgA + fixation de complément	1	-
8 tests	2 IgG + 3 IgM + IgA + fixation de complément + avidité	-	1
Total		148	148

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect Toxo IgG (Abbott) (20.4%, les 2 échantillons), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (20.4%, les 2 échantillons) et Cobas Toxo IgG (Roche) (19.7% les 2 échantillons)
- IgM: Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (20.1%, les 2 échantillons), Architect Toxo IgM (Abbott) (19.5%, les 2 échantillons), Cobas Toxo IgM (Roche) (19.5%, les 2 échantillons) et VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (9.1%, les 2 échantillons)
- IgG avidité (échantillon S/12002): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (68.4%)

Pour l'échantillon IS/10545, 99.3% % des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG. Un laboratoire a obtenu un résultat positif (inversion des échantillons).

Le laboratoire ayant effectué la fixation du complément a obtenu un résultat négatif.

Le laboratoire ayant dosé les IgA, les a trouvées négatives.

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM.

Le laboratoire ayant déterminé avidité, l'a trouvé « faible ».

147 (99.3%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Absence d'anticorps spécifiques » pour l'échantillon IS/10545. Le laboratoire qui a inversé les échantillons a donné l'interprétation « Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs) ».

99.3% des laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG pour l'échantillon IS/12002. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif (inversion des échantillons).

Le laboratoire ayant effectué la fixation du complément a obtenu un résultat borderline.

Le laboratoire ayant dosé les IgA, les a trouvées négatives.

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM.

Tous les laboratoires ont obtenu une avidité élevée.

145 (98%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs) » pour l'échantillon IS/12002; deux laboratoires ont mentionné de demander un échantillon de suivi. Le laboratoire qui a inversé les échantillons a donné l'interprétation correcte « Absence d'anticorps spécifiques ».

Le commentaire concernant l'EEQ a mentionné, **que l'exécution de l'avidité des IgG est inutile si les IgG sont négatives**. L'exécution d'une avidité des IgG sur un échantillon négatif produira de toute façon des résultats inexacts: en effet, le laboratoire qui a effectué l'avidité sur cet échantillon négatif a obtenu une « faible avidité » des IgG. Un clinicien qui n'est pas attentif pourrait interpréter ce résultat comme suggestif d'une infection récente. Il faut donc considérer l'exécution de l'avidité des IgG sur des échantillons négatifs en IgG comme fautive.

Il est à noter pour l'échantillon IS/12002 qu'il existe une grande variation entre les titres des IgG des différents producteurs et même entre les utilisateurs de la même trousse. Cette constatation nous force à mentionner **que nous ne pouvons comparer les titres d'échantillons consécutifs d'un même patient que s'ils sont testés dans un même « run »**.

Il reste à mentionner pour l'interprétation de cet échantillon que, même si la demande d'un échantillon de suivi ne doit pas être considérée comme fautive, elle est quand-même inutile.

3.6 VIH

2 échantillons « prêts-à-emploi » (IS/10542 et IS/10544) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon IS/10542 était réactif pour VIH.

L'échantillon IS/10544 était négatif pour VIH.

159 laboratoires belges et luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Au total les laboratoires ont donc effectué 178 tests de dépistage sur l'échantillon IS/10542 et 176 sur l'échantillon IS/10544.

Le tableau 3.6.1. montre la distribution par génération de trousse.

Tableau 3.6.1. Nombre de participants répartis par paramètre pour le Toxoplasme (enquête 2014/3)

Nombre de tests	Génération	IS/10542 (N labo's)	IS/10544 (N labo's)
1 test	3 ^e gén.	12	11
	4 ^e gén.	129	132
2 tests	3 ^e + 4 ^e gén.	2	3
	4 ^e + 4 ^e gén.	15	12
3 tests	3 ^e + 4 ^e + 4 ^e gén.	1	1
Total		159	159

Pour l'échantillon IS/10542 les laboratoires ont donc utilisé 163 trousse de 4^e génération et 15 trousse de 3^e génération et pour l'échantillon IS/10544 161 trousse de 4^e génération et 15 trousse de 3^e génération.

Les réactifs les plus utilisés sont Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (27.7% les 2 échantillons), HIV Combi PT (Roche) (28.3% en 27.7%), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (9.4% les 2 échantillons) et LIAISON XL Murex HIV Ag/Ab (DiaSorin) (9.4%, les 2 échantillons).

157 (98.7%) laboratoires ont obtenu un résultat réactif avec les tests de dépistage pour l'échantillon IS/10542. Un laboratoire a obtenu un résultat réactif pour une technique et un résultat négatif pour une autre. Un laboratoire a répondu un résultat négatif mais le laboratoire a contactés pour mentionner qu'il a interverti les 2 résultats au moment de l'encodage dans le Toolkit.

156 (98.1%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif avec les tests de dépistage pour l'échantillon IS/10544. Un laboratoire a obtenu un résultat réactif avec un test et un résultat négatif avec l'autre. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline. Un laboratoire a répondu un résultat réactif mais il a interverti les 2 résultats au moment de l'encodage.

Le commentaire sur l'enquête a souligné qu'il est impératif de tester un second échantillon indépendant lors de la confirmation de positivité sur un premier échantillon. Cette mesure de sécurité est essentielle et montre malheureusement de temps en temps son utilité en détectant des erreurs d'échantillonnage.

Le commentaire sur l'enquête a souligné qu'il faut absolument promouvoir l'utilisation des trousse de 4^{ième} génération, c'est-à-dire qui détectent simultanément les anticorps et les

antigènes, par tous les laboratoires, car leur sensibilité en phase de séroconversion est nettement supérieure. La détection précoce des infections est devenue une priorité, à une époque où les infections sont de mieux en mieux contrôlées.

FIN

© Institut Scientifique de Santé Publique, Bruxelles 2015.
Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de l'ISP.