

**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**

**2015**

**ISP/Micro/Séro/Para/105**

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

[www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be)

<b>COMITE DES EXPERTS</b>
---------------------------

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: <a href="mailto:kris.vernelen@wiv-isp.be">kris.vernelen@wiv-isp.be</a>	
Remplaçant coordinateur d'enq.: Dr. CHINA B.	TEL: 02/642.53.85 e-mail: <a href="mailto:bernard.china@wiv-isp.be">bernard.china@wiv-isp.be</a>	
<u>Experts:</u>		
Dr. BERTH Mario	TEL: 03/30.30.809 e-mail: <a href="mailto:mario.berth@aml-lab.be">mario.berth@aml-lab.be</a>	FAX: 03/30.30.882
Pharm. BOEL An	TEL: 053/72.47.85 e-mail: <a href="mailto:an.boel@olvz-aalst.be">an.boel@olvz-aalst.be</a>	FAX: 053/72.45.88
Dr. BOELENIS Jerina	TEL: 093/32.19.69 e-mail: <a href="mailto:jerina.boelens@uzgent.be">jerina.boelens@uzgent.be</a>	FAX: 093/32.36.40
Dr. BOERAS Anca	TEL: 042/24.83.58 e-mail: <a href="mailto:anca.boeras@chc.be">anca.boeras@chc.be</a>	FAX: 042/24.84.73
Dr. CLAEYS Geert	TEL: 09/332.36.45 e-mail: <a href="mailto:geert.claeys@ugent.be">geert.claeys@ugent.be</a>	FAX: 09/332.49.85
Dr. DE BEENHOUWER Hans	TEL: 053/72.42.72 e-mail: <a href="mailto:hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be">hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be</a>	FAX: 053/72.45.88
Dr. DE GHELDRE Yves	TEL: 02/340.41.34 e-mail: <a href="mailto:yves.degheldre@chirec.be">yves.degheldre@chirec.be</a>	FAX: 02/340.41.79
Dr. DELFORGE Marie-Luce	TEL: 02/555.34.53 e-mail: <a href="mailto:marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be">marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be</a>	FAX: 02/555.64.59
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40 e-mail: <a href="mailto:koen.magerman@jessazh.be">koen.magerman@jessazh.be</a>	FAX: 011/30.97.50
Dr. PADALKO Elizaveta	TEL: 09/332.21.08 e-mail: <a href="mailto:elizaveta.padalko@uzgent.be">elizaveta.padalko@uzgent.be</a>	FAX: 09/332.49.85
Dr. REYNDERS Marijke	TEL: 050/45.39.27 e-mail: <a href="mailto:marijke.reynders@azsintjan.be">marijke.reynders@azsintjan.be</a>	FAX: 050/45.26.19
Dr. SAEGEMAN Veroniek	TEL: 016/34.24.23 e-mail: <a href="mailto:veroniek.saegeman@uzleuven.be">veroniek.saegeman@uzleuven.be</a>	FAX: 016/34.70.10
Dr. VAN ACKER Jos	TEL: 09/224.64.45 e-mail: <a href="mailto:jos.vanacker@azstlucas.be">jos.vanacker@azstlucas.be</a>	FAX: 09/224.64.46
Dr. VAN ESBROECK Marjan	TEL: 03/247.64.37 e-mail: <a href="mailto:mvesbroeck@itg.be">mvesbroeck@itg.be</a>	FAX: 03/247.64.40
Dr. VERROKEN Alexia	TEL: 02/764.67.32 e-mail: <a href="mailto:alexia.verroken@uclouvain.be">alexia.verroken@uclouvain.be</a>	FAX: 02/764.69.33
Pharm. VIJGEN Sara	TEL: 011/33.82.22 e-mail: <a href="mailto:sara.vijgen@jessazh.be">sara.vijgen@jessazh.be</a>	FAX: 011/33.82.08
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85 e-mail: <a href="mailto:sophie.woestyn@skynet.be">sophie.woestyn@skynet.be</a>	FAX: 056/85.58.86

Réunion du comité d'experts : Non (validation par e-mail)

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 16/082016



---

## Tables des matières

---

Tables des matières .....	4
I. Microbiologie .....	5
Rapport de l'identification des cultures.....	5
Evaluation des tests de sensibilité des antibiotiques .....	7
II. Parasitologie .....	22
Enquête 1 .....	22
Enquête 2 .....	22
Enquête 3 .....	23
Utilisation du Toolkit.....	23
III. Sérologie infectieuse .....	24
L'hépatite B.....	24
L'hépatite C .....	27
L'Ag de la Legionella .....	29
Le CMV .....	31
La borréliose.....	36
EBV .....	40
Le VIH .....	44

---

Trois enquêtes ont été organisées en 2015 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 154 laboratoires ont participé à au moins une enquête. 2 laboratoires (1.3%) ont participé à 1 enquête et 152 (98.7%) ont participé aux 3 enquêtes. Un laboratoire a cessé son activité. Le nombre de laboratoires participants s'élevait à 153, 152 et 153 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 104 laboratoires hospitaliers, 37 laboratoires privés, 4 laboratoires de polycliniques et 9 autres laboratoires.

### **Rapport de l'identification des cultures**

#### **Répartition des résultats par échantillon**

Les participants ont reçu 12 échantillons (onze échantillons lyophilisés et un échantillon de selles simulées).

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

A l'occasion de la 1<sup>e</sup> enquête les laboratoires avec in numéro d'agrément pair ou impair ont reçu un échantillon différent sous le même numéro d'échantillon (M/13079); le 1<sup>e</sup> groupe a reçu un *E. faecium*, le 2<sup>e</sup> groupe un *E. faecalis*.

Pour la *Shigella sonnei* (selles; enquête 2015/1) une identification jusqu'au niveau du genre était suffisante.

L'échantillon M/13554 (liquide d'ascite; enquête 2015/3) contenait une mélange de 2 *Candida* différentes.

Les pourcentages des participants ayant répondu par Toolkit étaient respectivement 82.4%, 86.2% et 84.3% pour chacune des 3 enquêtes.

**Tableau 1.1.** Répartition des résultats par échantillon. L'origine de chaque germe est mentionnée entre parenthèses.

<b>Germes</b>	<b>% d'identifications acceptables</b>
<i>Shigella sonnei</i> (selles)	81.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (frottis rectal)	96.0
<i>Enterobacter cloacae</i> (urine)	99.3
<i>Enterococcus faecium</i> (hémoculture –laboratoires pairs)	97.7
<i>Enterococcus faecalis</i> (hémoculture – laboratoires impairs)	95.4
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i> (expectoration)	96.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (urine)	99.4
<i>Cryptococcus neoformans</i> (lésion de peau)	96.1
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (pus)	92.1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (hémoculture)	88.9
<i>Leclercia adecarboxylata</i> (écouvillon de plaie)	96.7
<i>Staphylococcus aureus</i> (hémoculture)	98.0
<i>Candida glabrata</i> + <i>Candida tropicalis</i> (liquide d'ascite)	61.4

Le “score” relativement plus bas pour la *Shigella sonnei* s’explique par la donnée que le Maldi-Tof ne sait pas distinguer *E. coli* de *Shigella* species avec comme conséquence que les laboratoires qui n’ont utilisé que le Maldi-Tof ont obtenu un résultat fautif. En plus cet échantillon contenait un *Proteus* sp. comme commensal et quelques laboratoires ont probablement eu des problèmes pour isoler la *Shigella*.

Le faible pourcentage pour l’échantillon de liquide d’ascite qui contenait un mélange de levures, peut s’expliquer par le fait qu’un nombre de laboratoires n’ont identifié qu’un des 2 *Candida*.

A l’occasion de l’EEQ 2015/3 nous avons envoyé deux frottis pour coloration alcolo-acido-résistante (M/13527 (positif) et M/13727 (négatif)). 97% des laboratoires ont donné la réponse correcte pour l’échantillon M/11963 négatif et 99% pour l’échantillon M/12129 positif

### Répartition des laboratoires suivant le nombre d’identifications acceptables

Chaque laboratoire a dû réaliser 12 identifications. 64 (41.6%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 90 (58.4%) laboratoires ont mentionné au moins une identification inacceptable. Le tableau ci-dessous reproduit la répartition des laboratoires suivant le nombre d’identifications inacceptables.

**Tableau 1.2.** Nombre d’identifications inacceptables (sans les « non-réponses »)

Nombre d’identifications acceptables	Nombre de laboratoire (N=154)
0	64 (41.6%)
1	63 (40.9%)
2	21 (13.6%)
3	5 (3.2%)
5	1 (0.6%)

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 1.3.** Nombre d’identifications inacceptables (avec les « non-réponses »)

Nombre d’identifications acceptables	Nombre de laboratoire (N=154)
0	63 (40.9%)
1	63 (40.9%)
2	21 (13.6%)
3	5 (3.2%)
5	1 (0.6%)
8	1 (0.6%)

## **Evaluation des tests de sensibilité des antibiotiques**

Les sensibilités de 6 germes, *Klebsiella pneumoniae* M/12958, *Enterobacter cloacae* M/12961, *Klebsiella pneumoniae* M/12959, *Staphylococcus lugdunensis* M/13326, *Staphylococcus aureus* M/6442 et *Staphylococcus epidermidis* M/2289 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

### **Klebsiella pneumoniae M/12958 et Enterobacter cloacae M/12961**

Ci-dessous sont repris les éléments les plus importants du commentaire de l'EEQ 2015/1 rédigé par le Pr. Y. Glupczynski, Responsable du CNR des Bactéries Gram-négatif résistantes aux antibiotiques. Pour l'importance clinique et épidémiologique qui justifie de détecter la présence de carbapénémases nous référons au commentaire relatif à l'enquête nationale EEQ 2012/3 et le rapport annuel global 2012

La culture M/12958 était une souche de *Klebsiella pneumoniae* qui présentait une résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques (bêta-lactamines, aminoglycosides, quinolones,...) dont les carbapénèmes. Plus précisément, cette souche présentait une sensibilité réduite ou était résistante in vitro selon les carbapénèmes testés (CMI=1-2 µg/ml au méropénème (Sensibilité limite selon l'EUCAST) et CMI=4 µg/ml à l'ertapénème (résistant selon l'EUCAST). Elle présentait par ailleurs un diamètre diminué par la méthode de diffusion des disques en gélose tant vis-à-vis de l'ertapénème (zone d'inhibition= 16 mm) que vis du méropénème (zone d'inhibition=23 mm). L'EUCAST a défini les valeurs seuils de screening justifiant la confirmation de la présence d'une carbapénémase pour les souches présentant un diamètre d'inhibition <25 mm à un ou deux de ces antibiotiques (ertapénème, méropénème).

Cette souche produisait une carbapénémase de type OXA-48 ainsi qu'une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M-15 (CTX-M-Groupe 1). Par ailleurs trois autres bêta-lactamases (SHV-1, TEM-1 et OXA-1/-30) ainsi qu'une enzyme inactivant par acétylation les aminoglycosides et les fluoroquinolones (AAC(6')-Ib-cr) étaient également présentes.

Ces résistances sont médiées par 2 plasmides transférables (plasmide de 62 Kb hébergeant le gène codant pour OXA-48, les autres gènes de résistance (CTX-M-15, OXA-1/-30, AAC(6')-Ib-cr) étant colocalisés sous forme de cassettes de résistance dans un élément génétique de type intégron, lui-même situé sur un plasmide de poids moléculaire de 180 Kb).

OXA-48 est de loin la carbapénémase la plus fréquemment rencontrée en Belgique (Plus de 2/3 de toutes les CPE) et *Klebsiella pneumoniae* représente la première espèce d'Entérobactérie productrice de carbapénémase (70% de toutes les CPE).

Bien que la souche M/12958 présentait une sensibilité diminuée (sensibilité limite selon les critères EUCAST et CLSI), la majorité des laboratoires (>85%) a suspecté ou reconnu la présence d'une carbapénémase (environ 1/3 des laboratoires indiquaient même spécifiquement la présence d'une carbapénémase de type OXA-48) et a signalé qu'une telle souche si elle était rencontrée en routine serait envoyée au laboratoire pour confirmation de la présence d'une carbapénémase. Ceci constitue une amélioration significative par rapport à une évaluation antérieure réalisée en 2012 dans laquelle seulement 50% des laboratoires avaient suspectés la présence d'une carbapénémase OXA-48 exprimant une résistance similaire de faible niveau aux carbapénèmes (souche M/11721; EEQ 2012/3). L'amélioration de la capacité de détection des carbapénémases par les laboratoires belges est également perceptible au travers de la proportion croissante de souches envoyées et confirmées comme CPE par le CNR. Tandis qu'en 2012 seulement 40% des souches reçues étaient bien confirmées comme CPE cette proportion atteignait près

de 60% en 2014. Par contre, l'association d'OXA-48 avec une BLSE n'a été mentionnée que par 40 laboratoires, illustrant la difficulté de détection phénotypique de la présence de ce type de résistance en présence d'une carbapénémase. Cependant, la détection d'une BLSE semble d'importance secondaire en présence d'une carbapénémase tant au niveau clinique qu'en matière d'hygiène hospitalière.

La mesure de la sensibilité aux fluoroquinolones constituait une autre difficulté de cette souche. Comme signalé plus haut la souche M/12958 produisait une enzyme de type AAC(6')-Ib-cr acétylant à la fois les aminoglycosides et les fluoroquinolones. Ce mécanisme de résistance plasmidique entraîne une résistance de niveau aux fluoroquinolones nettement plus faible que celui observé en cas de mécanisme de résistance chromosomique liés à des mutations dans les gènes codant pour les DNA gyrases (en particulier *gyrA*) et affecte typiquement plus la ciprofloxacine que la lévofloxacine. La souche dont question présentait une CMI une double dilution plus haute à la ciprofloxacine (CMI=1 µg/ml) que à la lévofloxacine (0.5 µg/ml).

Ceci pourrait dès lors expliquer le nombre plus élevé de résultats faussement sensibles obtenus par les laboratoires ayant rapporté la mesure de sensibilité avec la lévofloxacine plutôt qu'avec la ciprofloxacine. Une autre constatation était le nombre plus élevé de résultats rapportés sensibles aux quinolones (à nouveau plus fréquemment avec la lévofloxacine qu'avec la ciprofloxacine) par les utilisateurs de systèmes automatisés d'antibiogramme et en particulier par la méthode VITEK 2. Bien que les raisons précises de ces discordances inter-méthodes ne soient pas élucidées, il est possible que les différences de mesures de résultats observés reflètent des variations dans les gammes de concentrations testées (en particulier avec concentrations basses trop élevées que pour détecter une résistance de bas niveau aux fluoroquinolones).

Rappelons brièvement ici que les OXA-48 sont des carbapénémases de classe D (selon la classification d'Ambler) codées par des gènes localisés sur un transposon (Tn1999 ou Tn 1999.2) situé sur un plasmide conjugatif auto-transférable (pOXA48). L'environnement génétique du gène de résistance codant pour OXA-48 est extrêmement stable et le plasmide pOXA-48 qui l'héberge présente une haute fréquence de transfert expliquant la capacité de cette carbapénémase à diffuser largement tant chez *Klebsiella pneumoniae* (diffusion intra-species) que chez d'autres espèces d'entérobactéries (*E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., ...). La diffusion épidémique d'OXA-48 dans plusieurs pays Européens (dont notamment la Belgique et la France) reflète donc plus une épidémie de plasmide qu'une épidémie de souches (clones).

On reconnaît actuellement plusieurs variants alléliques d'OXA-48 qui diffèrent de celle-ci par mutation(s) ponctuelle(s) d'un ou de quelques acides aminés, modifiant ainsi le spectre d'hydrolyse de l'enzyme. Ainsi, OXA-181 et OXA-232 largement prévalents sur le sous-continent indien possèdent une activité hydrolytique accrue sur les carbapénèmes par rapport à OXA-48. Inversement, chez OXA-163, les mutations présentes dans le site actif de l'enzyme entraînent une perte de l'hydrolyse des carbapénèmes et un profil d'activité de type BLSE (hydrolyse des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération, inhibition par le clavulanate et le tazobactam).

Les carbapénémases OXA-48 et la plupart de ses variants hydrolysent faiblement les carbapénèmes, mais n'hydrolysent par contre ni les céphalosporines à large spectre (3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération) ni l'aztréonam. A la différence des carbapénémases de classe A (KPC) et de classe B (métaallo-bêtalactamases) pour lesquelles il existe des inhibiteurs connus (acide aminophényl boronique inhibiteur de classe A et EDTA ou acide dipicolinique (DPA) inhibiteur de classe B), aucun inhibiteur n'est connu à ce jour vis-à-vis des carbapénémases de classe D (OXA-48). Cependant, une

caractéristique phénotypique très typique de la carbapénémase OXA-48 est la résistance de haut niveau aux pénicillines associées avec un inhibiteur de bêta-lactamase (clavulanate, tazobactam) et à la témocilline (CMI > 128 µg/ml ; diamètre d'inhibition < 12 mm). Bien que non spécifique, la résistance à ces antibiotiques constitue un élément intéressant pour la détection de la carbapénémase OXA-48 au laboratoire.

La résistance à la ceftazidime et à la céfépime observée chez la souche M/12958 s'explique par l'association d'une BLSE de type CTX-M (CTX-M-15) qui est présente dans 80% des cas de souches productrices de carbapénémase OXA-48.

La souche envoyée présentait un diamètre d'inhibition au méropénème de 24 mm et une CMI au méropénème de 1 µg/ml et était donc encore sensible selon les critères définis par l'EUCAST et par le CLSI. Cependant, l'EUCAST a défini une valeur limite (zone d'inhibition < 25 mm) comme seuil de screening pour la recherche et la confirmation de carbapénémase. Il est cependant important de noter près de 30% des souches productrices d'OXA-48 confirmées au laboratoire de référence ont un diamètre d'inhibition au méropénème supérieur à cette valeur seuil. En attendant la confirmation par l'EUCAST (révision de guidelines en cours), il paraît cependant important dans les pays/zones à haute prévalence d'OXA-48 (comme la Belgique) de considérer un diamètre au méropénème <27 mm comme valeur seuil de screening.

L'utilisation de l'ertapénème (valeur seuil de screening <25 mm recommandée par l'EUCAST) améliore la sensibilité de détection des carbapénémases OXA-48 (sensibilité : 97%) mais avec une spécificité nettement moindre (60%) en particulier chez *Enterobacter* spp. (souches productrices de céphalosporinase AmpC et/ou de BLSE avec résistance/diminution de sensibilité par imperméabilité de paroi).

De nombreux tests rapides (diagnostic en 60 à 120 min) pour le screening des carbapénémases sont actuellement disponibles commercialement. La plupart d'entre eux sont basés sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse de l'imipénème (Rapidec<sup>®</sup>, bioMérieux ; Rosco CARBA SCREEN kit, Rosco ; Blue Carb test, Rosco). Ces tests rapides ont une excellente spécificité en cas de résultat négatif (99-100%) et peuvent être utilisés pour exclure la présence d'une carbapénémase en cas de résultat négatif compte tenu de leur valeur prédictive négative très élevée. Parmi les différents tests disponibles, le Rapidec<sup>®</sup> (bioMérieux) montre le taux de sensibilité le plus élevé (>90%) mais des résultats faussement négatifs sont rarement observés pour certaines souches productrices d'OXA-48 (5-10% des cas). Le test de Hodge modifié (MHT ; Modified Hodge Test) montre une bonne sensibilité pour la détection de certaines carbapénémases (notamment KPC et OXA-48) mais manque par contre de sensibilité pour la détection des métallo-bêta-lactamases (classe B), en particulier vis-à-vis des NDM. Des résultats faussement positifs sont parfois observés (souches productrices d'AmpC et/ou de BLSE avec imperméabilité de paroi). Compte tenu de la difficulté de standardisation et de l'interprétation parfois subjective des résultats, l'utilisation du MHT n'est pas recommandée en routine pour le diagnostic des carbapénémases.

La présence de carbapénémase peut également être détectée en 2-3h par spectrométrie de masse en MALDI-TOF (hydrolyse de l'imipénème détectée par la disparition de pics du produit actif et présence de pics correspondant à des produits de dégradation de l'imipénème), mais la réalisation de cette technique reste encore laborieuse et n'est pas recommandée actuellement en première intention dans un contexte de routine.

Des méthodes génotypiques basées sur des techniques de PCR ont été rapportées. Ces techniques nécessitent une infrastructure spécialisée en biologie moléculaire et restent par ailleurs trop coûteuses pour être utilisées en routine. Des méthodes commercialisées rapides et automatisées par PCR multiplex en temps réelles ou par technique d'amplification isothermique (Loop-mediated isothermal amplification [LAMP]) sont également disponibles et permettent l'obtention de résultats (détection précise du type de CPE) dans un délai d'une heure. Globalement, les méthodes génotypiques ont le désavantage de ne pas permettre la détection de nouveaux types ou de variants de carbapénémases existantes et leur utilisation reste encore limitée aux seuls laboratoires spécialisés et aux centres de référence.

A noter par ailleurs que certaines carbapénémases (plusieurs variants d'OXA-48, variants alléliques d'IMP,....) ne sont pas ciblés par les tests commerciaux et inversement que ceux-ci détectent parfois certains variants (p.ex : OXA-163) dépourvus d'activité carbapénémases (p.ex : OXA-163).

La détection de carbapénémase par test immunochromatographique utilisant des anticorps monoclonaux vis-à-vis d'une protéine recombinante purifiée constitue une avancée diagnostique majeure. Un premier test sera commercialisé très prochainement pour la détection rapide de carbapénémase OXA-48 en moins de 15 min à partir de colonies en culture (OXA-48 K-SeT, Coris BioConcept). Les résultats préliminaires issus des premières évaluations semblent extrêmement prometteurs (sensibilité et spécificité: 100%). Par ailleurs, les développements de tests immunochromatographiques pour la détection d'autres types de carbapénémases (p.ex. : KPC, NDM) sont actuellement en cours. Outre son excellente sensibilité et spécificité, cette technologie simple, rapide et peu coûteuse offre l'avantage par les possibilités de multiplexage (détection possible d'antigènes dirigés contre plusieurs types de carbapénémase sur un même test) et est déjà largement utilisée dans les laboratoires clinique pour le diagnostic d'agents pathogènes responsables de différentes maladies infectieuses.

L'échantillon M/12961 présentait un profil de multi-résistance classique affectant l'ensemble des  $\beta$ -lactamines (pénicillines, céphalosporines et carbapénèmes) et les aminoglycosides (à l'exception de l'amikacine pour laquelle la sensibilité était limite ; diamètre 16 mm; CMI = 8  $\mu$ g/ml par méthode de microdilution). De manière inhabituelle pour une CPE, cette souche conservait une bonne sensibilité vis-à-vis des fluoroquinolones (ciprofloxacine et lévofloxacine). A la différence de la souche précédente (M/12958), l'isolat M/12961 présentait une résistance de haut niveau au méropénème (CMI = 16  $\mu$ g/ml), résistant à la fois selon les recommandations de l'EUCAST et du CLSI. Cette souche produisait une métallo- $\beta$ -lactamase (carbapénémase de classe B de Ambler) de type VIM-1 (Verona Imipenemase) et une BLSE de type CTX-M-9.

Les participants dans leur grande majorité (>85% des laboratoires) ont souligné le caractère multi-résistant de la souche et ont soit reconnu soit suspecté la présence d'une carbapénémase en suggérant l'envoi de celle-ci dans un laboratoire de référence pour la confirmation de la présence d'une carbapénémase.

Un screening de détection de la production d'une MBL peut être facilement effectué à l'aide de tests phénotypiques recherchant la présence d'une synergie entre l'imipénème ou le méropénème et l'EDTA ou d'autres types d'inhibiteurs des carbapénémases de type MBL comme le DPA (acide dipicolinique). Plusieurs tests ou kits commerciaux sont actuellement disponibles sous différents formats: doubles tigettes utilisant des gradients de concentration d'antibiotiques (imipénème vs imipénème/EDTA ou méropénème vs méropénème/DPA) (tests positifs lorsque le ratio des CMI carbapénèmes vs Carbapénème/inhibiteur de MBL est  $\geq 8$ ), ainsi que des disques combinés (imipénème vs imipénème /EDTA ou méropénème vs

méropénème/DPA) commercialisés par la firme ROSCO® (positifs lorsque la différence de diamètre observée entre la combinaison carbapénème/inhibiteur MBL est  $\geq 5$  mm à celui en présence du carbapénème seul). La présence d'une BLSE associée est habituellement difficile à détecter, mais elle pouvait être suspectée ici par la résistance à l'aztréonam (cet antibiotique n'étant pas hydrolysé par les MBL). Chez les souches productrices de carbapénémases, la mise en évidence d'une BLSE associée peut être révélée phénotypiquement par l'utilisation de tests de synergie (céfotaxime et ceftazidime +/- clavulanate) en présence d'inhibiteurs spécifiques de carbapénémases (p.ex : EDTA pour les métallob- $\beta$ -lactamases, acide boronique pour les carbapénémases de classe A). Cependant, la détection d'une BLSE semble d'importance secondaire en présence d'une carbapénémase tant au niveau clinique qu'en matière d'hygiène hospitalière.

Sur toute souche suspecte reçue, le centre national de référence réalise d'abord des tests phénotypiques (confirmation de l'identification bactérienne par MALDI-TOF MS, antibiogramme élargi (16 antibiotiques) par diffusion des disques en gélose, tests d'hydrolyse des carbapénèmes par le carba NP test). En fonction des résultats préliminaires, des tests complémentaires (amplification génique par méthode isotherme de type LAMP) sont réalisés tous les jours). Les résultats positifs pour CPE sont communiqués par courrier électronique et des protocoles définitifs sont édités quotidiennement (par voie électronique et en support papier). En 2014, le turn around time maximum de réponse du CNR des BLSE/Carbapénémase était de 6 jours ouvrables et ne dépassait pas 3 jours ouvrables dans plus de 90% des cas.

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

Les tableaux ci-dessous ont été publiés dans le rapport global 2015/1.

**Tableau 1.4.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Résultat attendu</b>	<b>Total</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>-</b>
Pipéracilline-tazobactame	R	141	-	4	136	1 <sup>1</sup>
Ceftazidime		143	10	60	72	1 <sup>2</sup>
Céfépime		138	37	69	31	1 <sup>3</sup>
Céfazoline <sup>4</sup>		1	-	-	1	-
Céfoxitine <sup>5</sup>		1	1	-	-	-
Ceftriaxone <sup>5</sup>		1	-	-	1	-
Céfuroxime <sup>4,6</sup>		2	-	-	2	-
Méropénème		148	88	34	25	1 <sup>7</sup>
Imipénème <sup>8</sup>		3	1	1	1	-
Ertapénème <sup>8,9</sup>		8	-	2	6	-
Témocilline	R	127	-	-	127	-
Ciprofloxacine	I/R	139	32	39	68	-
Lévofloxacine	I/R	78	52	2	24	-
Ofloxacine <sup>10</sup>		1	-	-	1	-
Amikacine	S	129	127	1	1	-
Gentamicine <sup>11</sup>		2	-	-	2	-

<sup>1</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert (« I ») mais a laissé ouvert le résultat final.

<sup>2</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert (« R ») mais a laissé ouvert le résultat final.

<sup>3</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert ("R") mais a répondu ' ? ' pour le résultat final.

<sup>4</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfazoline et à la céfuroxime.

- <sup>5</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfoxitine.
- <sup>6</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la ceftriaxone et à la céfuroxime.
- <sup>7</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat brut (« S ») mais a répondu « suspicion de carbapénèmase » pour le résultat final.
- <sup>8</sup> Trois laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'imipénème et à l'ertapénème.
- <sup>9</sup> Quatre laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'ertapénème. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ertapénème au lieu du méropénème.
- <sup>10</sup> Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.
- <sup>11</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à l'amikacine également la sensibilité à la gentamicine.  
Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

**Tableau 1.5.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat attendu</i>	<i>Total</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>-</i>
Pipéracilline-tazobactame	R	147	-	-	147	-
Ceftazidime	R	149	-	1	148	-
Céfépime	R	143	-	15	128	-
Céfazoline <sup>1</sup>		1	-	-	1	-
Céfotaxime <sup>2</sup>		1	-	-	1	-
Ceftriaxone <sup>3</sup>		1	-	-	1	-
Céfuroxime <sup>1,2,3</sup>		3	-	-	3	-
Méropénème	R	154	3	22	124	5 <sup>4</sup>
Imipénème <sup>5</sup>		3	-	1	2	-
Ertapénème <sup>5,6</sup>		7	-	-	7	-
Témocilline	R	130	-	-	130	-
Ciprofloxacine	S	144	142	1	1	-
Lévofloxacine	S	71	69	1	1	-
Ofloxacine <sup>7</sup>		1	1	-	-	-
Norfloxacine <sup>7</sup>		1	1	-	-	-
Amikacine	S/I	130	67	53	10	-
Gentamicine <sup>8</sup>		3	-	1	2	-

- <sup>1</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfazoline et à la céfuroxime.
- <sup>2</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfotaxime et à la céfuroxime.
- <sup>3</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la ceftriaxone et à la céfuroxime.
- <sup>4</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat brut (« S ») mais a répondu « suspicion de carbapénèmase » pour le résultat final. Quatre laboratoires ont obtenu le résultat « S » pour la diffusion sur disque et ont ensuite effectué une détermination de la CMI qui a donné le résultat « I »;
- <sup>5</sup> Trois laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'imipénème et à l'ertapénème.
- <sup>6</sup> Quatre laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'ertapénème.
- <sup>7</sup> Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine et à la norfloxacine au lieu de la lévofloxacine.
- <sup>8</sup> Deux laboratoires ont en plus de la sensibilité à l'amikacine également la sensibilité à la gentamicine.  
Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

## **Klebsiella pneumoniae M/12959**

Cette souche était porteuse d'une BLSE mais pas d'une carbapénémase.

Les résultats de l'enquête (cfr. tableau 1.6.) mais également les remarques des laboratoires concernant la présence de BLSE et/ou carbapénémase dont le résumé a été repris dans le rapport global de l'enquête) témoignent de la complexité de la détermination de la sensibilité chez de tels germes.

L'échantillon M/12959 et les échantillons M/12958 et M/12961 décrits ci-dessus ont été envoyés dans un but didactique afin de familiariser les laboratoires avec le problème des carbapénémases.

Ci-dessous sont repris les éléments les plus importants du commentaire de l'EEQ 2015/1 rédigé par le Pr. Y. Glupczynski, Responsable du CNR des Bactéries Gram-négatif résistantes aux antibiotiques.

La culture **M/12959** était une souche de *Klebsiella pneumoniae* qui présentait une sensibilité diminuée ou une résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques (beta-lactamines incluant la plupart des molécules à large spectre molécules telles les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération, l'aztréonam, les aminoglycosides, les quinolones,...) dont les carbapénèmes. Plus précisément, cette souche présentait une sensibilité réduite ou était résistante *in vitro* selon les carbapénèmes testés (CMI=4 µg/ml au méropénème (niveau intermédiaire de sensibilité selon l'EUCAST; résistant selon le CLSI) et CMI=32 µg/ml à l'ertapénème (résistant selon l'EUCAST et le CLSI)). On observait par ailleurs un diamètre diminué par la méthode de diffusion des disques en gélose tant vis-à-vis de l'ertapénème (zone d'inhibition = 11 mm) que vis du méropénème (zone d'inhibition = 20 mm). Comme déjà signalé dans le commentaire précédent (EEQ 2015/1) l'EUCAST a défini les valeurs seuils de screening justifiant la confirmation de la présence d'une carbapénémase pour les souches présentant un diamètre d'inhibition <25 mm à un ou deux de ces antibiotiques (ertapénème, méropénème).

La souche **M/12959** produisait une beta-lactamase à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M-15 (CTX-M-Groupe 1) ainsi que trois autres types de beta-lactamases (SHV-11 (variant non BLSE de SHV-1, TEM-1 et OXA-1/-30) **mais elle ne possédait pas de carbapénémase** (tests d'hydrolyse des carbapénèmes de type Carba NP négatif), la résistance aux carbapénèmes (ertapénème > méropénème) étant liée ici à la présence d'une diminution de perméabilité de la paroi combinée à la production d'une BLSE (CTX-M-15).

Rappelons ici que même si la fréquence d'isolement des entérobactéries productrices de carbapénémases est en nette augmentation en Belgique depuis quelques années (cf. commentaire EEQ 2015/1), environ 90% des souches cliniques d'entérobactéries résistantes ou de sensibilité diminuée au carbapénème s'avèrent après réalisation de tests de confirmation phénotypiques ou moléculaires comme étant non productrices de carbapénémases (résistance par diminution de la perméabilité de la membrane externe aux carbapénèmes, généralement associée à la présence d'autres mécanismes de résistances (production de BLSE et/ou de céphalosporinase AmpC chromosomique ou plasmidique)).

L'identification de la souche **M/12959** ne posait pas de problème (99% de réponses correctes au niveau de l'espèce). La diminution de sensibilité aux carbapénèmes (R à l'ertapénème et I au méropénème) a été reconnue par la majorité des laboratoires (>90%). Cependant, seul un nombre limité d'entre eux (47/152) a signalé de manière spécifique la présence d'une BLSE chez cet isolat. Sur le total de 152 participants, 114 ont signalé qu'une telle souche, si elle était rencontrée en routine, serait envoyée au laboratoire de référence dans un but épidémiologique (confirmation ou

exclusion de la présence de carbapénémase, détermination précise du mécanisme de résistance,...etc.) bien que la suspicion de carbapénémase n'était réellement mentionnée que par 55 d'entre eux.

Ceci traduit à l'évidence la difficulté persistante au niveau des laboratoires pour la caractérisation des mécanismes associés à une résistance aux carbapénèmes, en particulier pour la détection des carbapénémases chez les bactéries à gram-négatif. L'augmentation du nombre de souches envoyées au laboratoire de référence ne permet plus à celui-ci dans un contexte budgétaire limité et d'incidence croissante de bactéries multi-résistantes d'analyser la totalité des souches qui lui sont adressées.

Il paraît également très souhaitable dans une optique d'amélioration de la qualité du diagnostic et des soins prodigués aux patients (diagnostic et traitement individuel mieux adapté, mesures de prévention et de contrôle de la transmission croisée de CPE) qu'un diagnostic puisse être réalisé localement au niveau du laboratoire dans un laps de temps le plus court possible.

Ceci est actuellement rendu possible par la mise sur le commerce de plusieurs tests à la fois rapides et performant permettant la réalisation d'un premier screening pour la présence de carbapénémases (diagnostic dans un délai maximum de 60 à 120 min). La majorité de ces tests sont basés sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse de l'imipénème (Rapidec<sup>®</sup>, BioMérieux ; Rosco CARBA SCREEN kit, Rosco; Blue Carba test, Rosco). Ces tests présentent tous une excellente spécificité en cas de résultat négatif (99-100%) et peuvent être utilisés pour exclure la présence d'une carbapénémase en cas de résultat négatif compte tenu de leur valeur prédictive négative très élevée ( $\geq 99\%$ ). Parmi les différents tests disponibles, le Rapidec<sup>®</sup> (bioMérieux) montre le taux de sensibilité le plus élevé ( $>90\%$ ) mais des résultats faussement négatifs sont rarement observés pour certaines souches productrices d'OXA-48 (5-10% des cas).

La détection de carbapénémase par test immunochromatographique utilisant des anticorps monoclonaux vis-à-vis d'une protéine recombinante purifiée constitue une autre avancée diagnostique majeure. Deux tests sont actuellement commercialisés pour la détection rapide des carbapénémase de type OXA-48 et de type KPC en moins de 15 min à partir de colonies en culture (OXA-48 K-Set, Coris BioConcept). A noter que ces deux tests assurent une couverture diagnostique vis-à-vis d'environ 80% de toutes les CPE actuellement détectées en Belgique (OXA-48 : 60-65% ; KPC : 10-15%).

Les résultats issus des premières évaluations cliniques réalisées au niveau de notre laboratoire sont très satisfaisants (sensibilité et spécificité: 100% tant pour OXA-48 que pour KPC). Par ailleurs, le développement d'autres tests immunochromatographiques (p.ex. : pour la détection des carbapénémases de type NDM et pour les BLSE de type CTX-M du groupe 1) sont actuellement en cours. Outre son excellente sensibilité et spécificité, cette technologie simple, rapide et peu coûteuse (6-7€/test) offre l'avantage par les possibilités de multiplexage (détection simultanée possible d'antigènes spécifiques de plusieurs types de carbapénémase sur un même test; test combiné OXA-48/KPC en cours de développement).

A noter que les tests immunochromatographiques pour détection d'antigènes sont déjà largement utilisés dans les laboratoires cliniques pour le diagnostic de nombreux agents pathogènes responsables de différentes maladies infectieuses et ils représentent une alternative simple, rapide et peu coûteuse par rapport aux tests moléculaires (PCR multiplex, amplification isotherme de type LAMP, PCR-ligase sur micro-array,...etc.) pour la confirmation et la caractérisation des mécanismes de résistance (MRSA, CPE, BLSE,...).

Une évaluation in vitro de la sensibilité aux carbapénèmes doit être impérativement réalisée sur toutes les souches qui présentent au minimum une résistance aux beta-lactamines mais elle n'est pas nécessaire lorsque des isolats d'entérobactéries présentent un profil de type multi-sensible ou lorsque celles-ci sont sensibles aux aminopénicillines (ampicilline/amoxicilline). Si la plupart des CPE présentent le plus souvent un profil de multi-résistance aux antibiotiques (résistance à  $\geq 3$  classes d'antibiotiques), certaines d'entre elles (surtout OXA-48) peuvent présenter un profil de résistance parfois beaucoup plus limité (aminopénicillines, combinaison beta-lactamines + inhibiteurs de beta-lactamase, témocilline) ainsi qu'une résistance parfois de bas niveau aux carbapénèmes (en particulier vis-à-vis du méropénème). Afin d'optimiser la sensibilité de la détection des CPE, il est dès lors recommandé de réaliser des tests de sensibilité in vitro vis-à-vis au minimum de deux molécules distinctes (ertapénème et méropénème).

Des tests de confirmation/identification des CPE devraient être réalisés pour toutes les souches présentant une sensibilité diminuée à l'ertapénème ou au méropénème (<25 mm selon les valeurs seuils de cut-off définis par l'EUCAST). Dans le contexte épidémiologique belge (large prédominance de carbapénémases de type OXA-48), la prise en considération de valeurs seuils élargies (< 27 mm pour l'ertapénème et < 29 mm pour le méropénème) permet une amélioration significative (+20%) de la sensibilité de détection des CPE appartenant à cette famille de carbapénémase.

Le centre national de référence des bacilles à gram-négatif multi-résistant a décidé de ne plus accepter dorénavant de réaliser des tests de confirmation pour CPE dans les conditions suivantes :

- Isolats multisensibles aux antibiotiques (profil de sensibilité in vitro de type wild type, variable selon les espèces)
- Isolats ne présentant aucune diminution de sensibilité in vitro aux carbapénèmes (erta, méro) selon les critères de screening prédéfinis par l'EUCAST (cf. supra)
- Absence de réalisation de tests de screening de première ligne par les laboratoires requérant (hydrolyse des carbapénèmes par test colorimétrique ou par spectrométrie de masse en MALDI-TOF, test immunochromatographique, Hodge test (même si celui-ci n'est plus recommandé en première intention (cf. commentaire EEQ 2015/1)), ....autres)
- Isolat appartenant à une espèce bactérienne présentant une résistance de type intrinsèque aux carbapénèmes (p.ex. : *Aeromonas hydrophila*, *Stenotrophomonas maltophilia*,...)

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2015/2.

**Tableau 1.6.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12959 (*Klebsiella pneumoniae*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Résultat attendu</b>	<b>Total</b>	<b>S</b>	<b>S/I</b>	<b>S/R</b>	<b>I</b>	<b>I/R</b>	<b>R</b>
Pipéracilline-tazobactame	R	146	3	-	-	3	-	140
Ceftazidime	R	149	-	-	-	1	-	148
Céfépime	R	138	5	-	-	1	-	132
Céfazoline <sup>1</sup>		1	-	-	-	-	-	1
Céfotaxime <sup>2</sup>		2	-	-	-	-	-	2
Ceftriaxone <sup>3</sup>		1	-	-	-	-	-	1
Céfuroxime <sup>1,2,3</sup>		3	-	-	-	-	-	3
Méropénème	I/R	151	12	-	-	83	8	48
Imipenem <sup>4</sup>		3	1	1	-	-	-	1
Ertapenem <sup>4,5</sup>		7	-	-	-	-	-	7
Ertapénème		128	29	1	1	13	2	82
Ciprofloxacine	R	144	-	-	-	-	-	144
Lévofloxacine	R	68	-	-	-	-	-	68
Ofloxacine <sup>6</sup>		1	-	-	-	-	-	1
Norfloxacine <sup>6</sup>		1	-	-	-	-	-	1
Moxifloxacine <sup>7</sup>		1	-	-	-	-	-	1
Amikacine	S	131	123	-	-	7	-	1
Gentamicine <sup>8</sup>		5	5	-	-	-	-	-
Tobramycine <sup>9</sup>		1	-	-	-	-	-	1

<sup>1</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfazoline et à la céfuroxime.

<sup>2</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfotaxime et à la céfuroxime. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la céfotaxime au lieu de la ceftazidime et la céfépime.

<sup>3</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la ceftriaxone et à la céfuroxime.

<sup>4</sup> Deux laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'imipénème et à l'ertapénème. Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'imipénème.

<sup>5</sup> Cinq laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'ertapénème.

<sup>6</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ciprofloxacine également la sensibilité à l'ofloxacine et à la norfloxacine.

<sup>7</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ciprofloxacine également la sensibilité à la moxifloxacine.

<sup>8</sup> Deux laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à l'amikacine également la sensibilité à la gentamicine. Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

<sup>9</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à l'amikacine également la sensibilité à la tobramycine..

## Staphylococcus lugdunensis M/13326

*S. lugdunensis* est plus fréquemment pathogène que les autres staphylocoques à coagulase négative (CNS), il est donc indispensable de l'identifier à l'espèce en présence d'un prélèvement de bonne qualité, surtout si une seule espèce bactérienne est retrouvée.

Les pathologies le plus fréquemment décrites sont l'endocardite infectieuse tant sur valves natives que prothétiques et les infections des tissus mous surtout au niveau du périnée et des seins.

Par ailleurs, vu ce risque infectieux plus important, il est nécessaire de réaliser un antibiogramme dont **les normes d'interprétation, pour *S. lugdunensis*, sont les mêmes que celles de *S. aureus*** et non que celles des autres CNS.

La particularité de la souche envoyée dans l'EEQ était qu'elle était sensible à presque tous les antibiotiques; la détection de la sensibilité à la pénicilline n'était cependant pas facile comme témoignent les résultats divergents pour cet antibiotique (cfr. tableau 1.8.). Néanmoins, on peut s'interroger sur la pertinence d'encre tester la sensibilité d'un staphylocoque quel qu'il soit vis-à-vis de la pénicilline. Aucun clinicien n'utilisera encore cet antibiotique en traitement.

Ce sont essentiellement les utilisateurs de Vitek2 et Vitek2 compact qui ont répondu que la souche était résistante à la pénicilline G et à l'oxacilline (tableau 1.7. qui compare les résultats de 2011 avec ceux de 2015 quand la même souche a été envoyée).

**Tableau 1.7.** Comparaison des résultats obtenus en 2011 et en 2015 (*S. lugdunensis*)

% de réponses reçues	M10246/ 2011		M13326/2015	
	S	R	S	R
Pénicilline G	56,10	42,30	41,38	57,76
Oxacilline	82,90	17,10	93,44	5,74

Il est à noter que deux laboratoires ont testé de manière inappropriée la sensibilité à **la norfloxacine**. **L'utilisation** de cet antibiotique **constituerait une erreur thérapeutique**.

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2015/2.

**Tableau 1.8.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/13326 (*Staphylococcus lugdunensis*)

<b>Antibiotique</b>	<b>Résultat attendu</b>	<b>Total</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>*</b>
Pénicilline	S	116	48	-	67	1 <sup>1</sup>
Oxacilline	S	122	114	-	7	1 <sup>2</sup>
Céfoxitine	S	117	113	-	3	1 <sup>3</sup>
Gentamicine	S	138	137	-	1	-
Amikacine <sup>4</sup>	(S)	2	2	-	-	-
Vancomycine	S	129	128	1	-	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	71	69	-	2	-
Lévofloxacine	S	47	47	-	-	-
Moxifloxacine	S	24	23	-	1	-
Norfloxacine	S	2	2	-	-	-
Ofloxacine	S	3	3	-	-	-

- <sup>1</sup> Un laboratoire a donné la conclusion « indécis » (diffusion par disque: S, Vitek 1<sup>e</sup> fois S, 2<sup>e</sup> fois R).
- <sup>2</sup> Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu avec l'Adagio (19 mm) mais pas d'interprétation.
- <sup>3</sup> Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu avec les disques Neosensitabs charges nouvelles (31 mm) et le résultat brut et expert (tous les 2 « S ») mais pas de résultat final.
- <sup>4</sup> Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine au lieu de la gentamicine

## Staphylococcus epidermidis M/2289

Cet échantillon a été envoyé avec comme information clinique que **1 flacon aérobie sur 3 sets était positif** afin de voir comment les laboratoires traiteraient un tel échantillon.

Un grand nombre de laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme pour ce germe ou ont donné une remarque complémentaire:

Identification « *S. epidermidis* »:

- 50 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme
- 16 laboratoires ont effectué un antibiogramme mais ils ont clairement indiqué qu'en routine ils ne le communiqueraient pas au clinicien
- 8 laboratoires ont effectué un antibiogramme mais ils ont mentionné qu'en routine ils ne le transféreraient que sous certaines conditions (p.ex. si d'autres flacons deviennent positifs, après concertation avec le clinicien,...)
- 15 laboratoires ont effectué un antibiogramme mais ils ont indiqué qu'en routine ils mentionneraient qu'il s'agit d'un contaminant

Identification « présence de commensaux »:

- 3 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme
- 2 laboratoires ont effectué un antibiogramme et ils le communiqueraient

Identification « absence de pathogènes »:

- 6 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme
- 1 laboratoire a effectué un antibiogramme et il le communiquerait

Dans le commentaire a été repris que dans l'interprétation des hémocultures positives il est essentiel de présenter le résultat d'une manière correcte au clinicien. Pour cela non seulement les informations cliniques sont évidemment très importantes mais également l'information qu'on a obtenu dans le laboratoire. Quand un seul flacon sur 6 devient positif, il faudra dans le laboratoire essayer de faire la distinction entre une « vraie » bactériémie et une « pseudobactériémie ». Aussi bien le CLSI-Cumitech que Garcia donnent des conseils, qui ont été repris dans le rapport 2015/3, à ce sujet.

Le commentaire a également mentionné que des réponses telles que « absence de pathogènes » et « présence de commensaux » ne sont pas acceptables pour une hémoculture.

Un message important concernait l'antibiogramme: si on répond un germe nominativement, avec mention de l'antibiogramme, on suggère que ce germe est important et le clinicien sera mis sur le mauvais chemin avec peut-être comme conséquence un diagnostic erroné et/ou un traitement antibiotique inutile.

**En conclusion chaque laboratoire est supposé avoir une politique pour « traduire » de manière correcte et univoque de tels résultats au médecin prescripteur". Ceci améliorera le diagnostic et évitera des antibiothérapies inutiles.**

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2015/3.

**Tableau 1.9.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/2389 (*Staphylococcus epidermidis*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Résultat attendu</b>	<b>Total</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>*</b>	<b>Pas en routine<sup>1</sup></b>
Pénicilline	R	77	-	-	77	-	8
Oxacilline	R	77	1	-	75	1 <sup>2</sup>	3
Céfoxitine	R	62	8	-	53	1 <sup>3</sup>	22
Gentamicine	R	82	-	-	82	-	8
Vancomycine	S	83	83	-	-	-	4
Quinolone							
Ciprofloxacine	R	52	2	5	45	-	4
Lévofloxacine	R	28	3	9	15	1 <sup>4</sup>	2
Moxifloxacine		13	8	5	-	-	1
Norfloxacine		1	-	-	1	-	-
Ofloxacine		2	-	1	1	-	-

<sup>1</sup> Cette remarque ne concerne les laboratoires qui ne répondraient en routine qu'un certain nombre d'antibiotiques.

<sup>2</sup> Un laboratoire a bien mentionné le diamètre qu'il a obtenu avec l'Adagio (17 mm) mais n'a pas donné d'interprétation.

<sup>3</sup> Un laboratoire a bien mentionné le diamètre qu'il a obtenu avec les disques papier (21 mm) mais a mentionné ne pas transférer de résultat pour la céfoxitine mais qu'il fait une extrapolation du résultat (« R ») à l'oxacilline.

<sup>4</sup> Un laboratoire a bien mentionné le diamètre qu'il a obtenu avec les disques papier (17 mm) et le résultat brut (« I ») mais pas le résultat final.

## Staphylococcus aureus M/6442

Cette souche était un CA-MRSA (productrice de PVL).

Les résultats des laboratoires étaient excellents.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2015/3. Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2015/3.

**Tableau 1.10.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/6442 (*Staphylococcus aureus*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat attendu</i>	<i>Total</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>	<i>Pas en routine<sup>1</sup></i>
Pénicilline	R	129	-	-	129	-	1
Oxacilline	R	128	-	-	128	-	4
Céfoxitine	R	111	1	-	109	1 <sup>2</sup>	42
Gentamicine	S	134	122	-	12	-	19
Vancomycine	S	139	139	-	-	-	8
Teicoplanine <sup>3</sup>	S	2	2	-	-	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacin	S	81	81	-	-	-	4
Lévofoxacin	S	53	52	-	-	1 <sup>4</sup>	3
Moxifloxacin	S	19	19	-	-	-	3
Norfloxacine	S	2	2	-	-	-	-
Ofloxacine	S	3	3	-	-	-	-

<sup>1</sup> Cette remarque ne concerne les laboratoires qui ne répondraient en routine qu'un certain nombre d'antibiotiques.

<sup>2</sup> Un laboratoire a bien mentionné le diamètre qu'il a obtenu avec les disques papier (16 mm) mais a mentionné ne pas transférer de résultat pour la céfoxitine mais qu'il fait une extrapolation du résultat (« R ») à l'oxacilline.

<sup>3</sup> Deux laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la vancomycine également la sensibilité à la teicoplanine.

<sup>4</sup> Un laboratoire a bien mentionné le diamètre qu'il a obtenu avec les disques papier (29 mm) et le résultat brut (« S ») mais pas le résultat final.

## II. Parasitologie

---

Trois enquêtes ont été organisées dans le domaine de la parasitologie en 2015.

### Enquête 1

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang (P/12582 et P/12688) ont été envoyés.

162 laboratoires ont participé à l'enquête.

L'échantillon P/12582 contenait des trophozoïtes 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 84 (51.9%) laboratoires. 48 (29.6%) laboratoires ont mentionné la présence de *Plasmodium non-falciparum* et 1 laboratoire *Plasmodium species*

Pour *P. ovale* 80 (95.2%) laboratoires ont mentionné le stade d'évolution trophozoïte. Pour *P. non-falciparum* tous les laboratoires d'évolution trophozoïte.

L'échantillon P/9033 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.

Ce résultat a été confirmé par PCR.

*Plasmodium falciparum* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par (93.2%) laboratoires.

150 (99.3%) laboratoires ont mentionné le stade d'évolution trophozoïte.

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*. Le commentaire a également mentionné qu'une estimation correcte de la parasitémie est surtout d'une grande importance pour *P. falciparum* parce que la parasitémie est un de critères sur lequel on se base pour décider si un patient est admis à l'hôpital. Le commentaire a référé au rapport de l'EEQ 2007/3 (p. 55-56) pour expliquer la manière dont le comptage de la parasitémie doit être effectuée.

### Enquête 2

Deux suspensions de selles formolées, P/13281 et P/13282, ont été envoyés.

147 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/13281 contenait des oocystes de *Cyclospora cayetanensis*.

*Cyclospora cayetanensis* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 134 (91.2%) laboratoires. Les oocystes ont été retrouvés par 109 (81.3%) d'entre eux.

L'échantillon P/13282 contenait des œufs de *Trichuris trichiura*.

*Trichuris trichiura* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 121 (82.3%) laboratoires. Les œufs ont été retrouvés par 113 (93.4%) d'entre

eux. Le score relativement faible pour retrouver le parasite est probablement dû au fait qu'il était relativement rare et qu'il fallait donc faire un « effort » pour le retrouver.

Le commentaire de l'enquête a décrit la morphologie, le cycle de vie, les symptômes et le diagnostic des infections à *T. trichiura*.

### **Enquête 3**

Deux suspensions de selles formolées, P/13695 et P/13766, ont été envoyés.

147 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/13695 contenait des œufs de *Taenia* species.

La PCR a prouvé qu'il s'agissait d'une *Taenia saginata*.

127 (86.4%) laboratoires ont répondu *Taenia* species (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites). 10 (6.8%); laboratoires ont répondu *Taenia saginata* et un laboratoire *Taenia solium*. s œufs ont été retrouvés par 134 (97.8%) des laboratoires ayant répondu « *Taenia* » (species, *saginata* ou *solium*).

L'échantillon P/13766 contenait des oocystes de *Cryptosporidium parvum*.

*Cryptosporidium parvum* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 123 (85.7%) laboratoires ; un laboratoire a répondu *Cryptosporidium* species. Les oocystes ont été retrouvés par 106 (82.7%) des laboratoires ayant répondu *Cryptosporidium*.

Ce même échantillon a déjà été envoyé dans l'EEQ 2011/2: 145/165 (87.9%) laboratoires ont répondu *Cryptosporidium parvum* à l'occasion de cette enquête.

### **Utilisation du Toolkit**

Le nombre de réponses envoyé par voie informatique (Toolkit) est respectivement 91.4%, 89.7% et 85.7% pour chacune des enquêtes.

En 2015, les paramètres sérologiques pour l'hépatite B, l'hépatite C, le CMV, la borréliose, l'EBV et le VIH ont été évalués. Il y avait également deux échantillons pour la détection de l'antigène de la Légionnelle. Le nombre de participants dépendait du paramètre.

#### **L'hépatite B**

Deux échantillons, S/4033 et S/5635 ont été envoyés.

Nous demandions aux laboratoires de déterminer la sérologie pour les hépatites B et C sur ces échantillons et d'effectuer l'interprétation de ces 2 paramètres ensemble (cfr. Interprétation hépatites B et C).

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

« Deux jeunes hommes ont entrepris un voyage "aventureux" au Brésil, où ils ont eu de multiples contacts avec la population locale. Deux semaines après leur retour ils se présentent chez leur médecin généraliste. Tous les deux ont des signes cliniques de jaunisse et les examens de laboratoires montrent des tests hépatiques anormaux.»

Les résultats attendus pour l'hépatite B étaient:

S/4033 :

HBV:            Ag HBs positif  
                  Ac HBs négatif  
                  Ac HBc positif  
                  Ag HBe négatif  
                  Ac HBe positif

S/5635:

HBV:            Ag HBs négatif  
                  Ac HBs négatif  
                  Ac HBc négatif  
                  (Ag HBe négatif)  
                  (Ac HBe négatif)

154 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont réalisé la sérologie de l'hépatite B. 148 (96.1%) d'entre eux ont répondu par voie électronique ((toolkit).

Pour l'échantillon S/4033, les 154 laboratoires ont effectué 677 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs:	163 tests
- Ag HBs confirmation:	11 tests
- Ac anti-HBs:	152 tests
- Ac anti-HBc totaux:	153 tests
- IgM anti-HBc:	7 tests
- Ag HBe:	97 tests
- Ac anti-HBe:	94 tests

Un laboratoire a effectué 1 test, 3 laboratoires 2 tests, 47 laboratoires 3 tests, 7 laboratoires 4 tests, 82 laboratoires 5 tests, 8 laboratoires 6 tests, 5 laboratoires 7 tests et un laboratoire 8 tests.

Pour l'échantillon S/5635, les 154 laboratoires ont effectué 629 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs:	157 tests
- Ag HBs confirmation:	1 test
- Ac anti-HBs:	152 tests
- Ac anti-HBc totaux:	152 tests
- IgM anti-HBc:	2 tests
- Ag HBe:	84 tests
- Ac anti-HBe:	81 tests

Deux laboratoires ont effectué 1 test, 1 laboratoire 2 tests, 66 laboratoires 3 tests, 4 laboratoires 4 tests, 78 laboratoires 5 tests, 1 laboratoire 6 tests, 1 laboratoire 7 tests et 1 laboratoire 8 tests.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ag HBs: Architect HBsAg (Abbott) (23.9% et 24.8%), Cobas HBsAg II (Roche) (19.6% et 20.4%), VIDAS HBsAg Ultra (bioMérieux) (10.4% et 7.6%) et ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (8.8% et 8.9%)
- Ac anti-HBs: Architect anti-HBs (Abbott) (25.7%, les 2 échantillons), Cobas anti-HBs (Roche) (23.0%, les 2 échantillons) et ADVIA Centaur anti-HBs 2 (Siemens) (8.5% et 8.2%)
- Ac anti-HBc totaux: Architect anti-HBc II (Abbott) (26.1% et 26.3%), Cobas anti-HBc (Roche) (21.6% et 21.7%) et VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (9.2% et 8.6%)
- Ag HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (37.1% et 36.9%), Architect HBeAg (Abbott) (22.3% et 19.0%), Cobas HBeAg (Roche) 12.4% et 13.12% et LIAISON HBe (DiaSorin) (9.3% et 9.5%)
- Ac anti-HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (35.1% et 34.6%), Architect anti-HBe (Abbott) 22.3% et 18.5%), Cobas anti-HBe (Roche) (12.8% et 13.6%) et LIAISON anti-HBe (DiaSorin) (9.6% et 9.9%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

S/4033: tous les participants ont trouvé l'Ag HBs positif (y compris le test de confirmation, s'ils l'ont effectué), 98.0% des participants ont trouvé les Ac anti-HBs négatifs, tous les participants les Ac anti-HBc positifs, tous ont trouvé les IgM HBc négatifs, 99.0% l'Ag HBe négatif et 98.9% les Ac anti-HBe positifs.

S/5635: 99.4% des participants ont trouvé l'Ag HBs et 99.3% les anti-HBc totaux négatifs; tous les participants ont trouvé les Ac anti-HBs Ac, les IgM HBc, l'Ag HBe et les Ac anti-HBe négatifs.

## **L'hépatite C**

Les anticorps anti-HCV devaient être déterminés sur les mêmes échantillons sur lesquels la sérologie de l'hépatite B devait être effectuée (cfr. Le chapitre sur l'hépatite B).

Les résultats attendus étaient :

S/4033:           Anticorps négatifs

S/5635:           Anticorps positifs

150 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont déterminé les anticorps anti-HCV (quatre labos n'ont en effet effectué que la sérologie de l'hépatite B). 144 (96.0%) d'entre eux ont répondu par voie électronique (toolkit).

Pour l'échantillon S/4033, 147 laboratoires ont effectué 1 test et 3 laboratoires 2 tests (au total ils ont donc effectué 153 tests) ; pour l'échantillon S/5635, 138 laboratoires ont effectué 1 test, 11 laboratoires 2 tests et 1 laboratoire 3 tests (au total ils ont donc effectué 163 tests).

Les trousseaux les plus utilisés sont: Architect HCV (Abbott) (26.8% et 25.2%), Cobas e anti-HCV II (Roche) (19.0% et 17.8%) et ADVIA Centaur HCV (Siemens) (11.8% et 11.0%).

149 (99.3%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat borderline pour l'échantillon S/4033. Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour l'échantillon S/5635.

## **Interprétation de l'hépatite B et C**

Comme mentionné dans le chapitre sur l'hépatite B, l'interprétation combinée des hépatites B et C devait être effectuée sur les 2 échantillons. Nous avons prévu des possibilités d'interprétation adaptées pour les laboratoires qui n'effectuent qu'un de ces 2 paramètres.

Les interprétations attendues étaient:

S/4033 : « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C »

S/5635 : « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux »

148 (98.7%) laboratoires ont donné pour l'échantillon S/4033 l'interprétation « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C » ou un variant de cette interprétation.

Deux laboratoires ont choisi « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux ».

147 (98.0%) laboratoires ont donné pour l'échantillon S/5635 l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests

complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux » ou un variant de cette interprétation.

Deux laboratoires ont choisi « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux ». Un laboratoire a répondu : « Immunité vaccinale ou par infection naturelle contre le virus de l'hépatite B; des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre eux. Sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé ; des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux ». Le commentaire sur l'enquête a souligné que ces 3 interprétations doivent être considérées comme aberrantes.

Le commentaire sur l'enquête a mentionné pour l'échantillon S/4033 que l'interprétation par la plupart des laboratoires était correcte. Les propres interprétations des laboratoires et les suggestions pour un second prélèvement ont été inspirées par la suspicion d'une infection tardive, chronique ou passée à cause de la présence des Ac HBe et l'absence de l'Ag HBe.

Environ la moitié des laboratoires confirmeraient le résultat, surtout par PCR/charge virale. **Les tests moléculaires ne sont remboursés que dans des situations bien précises.**

Pour l'échantillon S/5635 le commentaire a mentionné que les laboratoires ont conseillé d'effectuer comme tests complémentaires pour l'HCV les tests blot qui peuvent confirmer le résultat sérologique et/ou les tests hépatiques et les tests moléculaires qui donnent une idée de l'activité de la maladie. Les différentes réponses reflètent probablement la stratégie qui est utilisée dans les différents laboratoires. Si on effectue de toute façon un test moléculaire, le test blot n'est souvent pas nécessaire comme test de confirmation. Le même raisonnement est valable pour les résultats des tests de dépistage d'HCV au-dessus d'une certaine valeur quand lors de la validation du test il s'est avéré que ces valeurs très positives sont toujours confirmées. **De même pour l'HCV, les tests moléculaires ne sont remboursés que dans des situations bien précises.**

## **L'Ag de la Legionella**

Il y avait 2 échantillons d'urine pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/12900 en Ag/12973. L'échantillon Ag/12900 était négatif et l'échantillon Ag/12973 positif. L'échantillon Ag/12973 a déjà été envoyé lors de l'enquête 2010/2 sous le numéro Ag/10118.

90 laboratoires ont participé à cette EEQ. 78 (86.7%) d'entre eux ont répondu par voie électronique (toolkit).

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

Le réactif le plus utilisé est le BinaxNOW Legionella Urinary Ag test (Alere Health) (89.0%).

Tous les laboratoires ont un résultat négatif pour l'échantillon Ag/12900.

77 laboratoires ont également choisi « négatif » comme interprétation, 12 demanderaient des tests supplémentaires (principalement la PCR et/ou la culture) et 1 laboratoire a choisi l'interprétation « positif » (ce laboratoire a probablement coché la mauvaise case dans le toolkit étant donné qu'il a répondu « négatif » pour le résultat « technique »).

Pour l'échantillon Ag/12973, 89 (98.9%) laboratoires ont obtenu un résultat positif et 1 laboratoire a obtenu un résultat borderline. 83 laboratoires ont également choisi « positif » comme interprétation, 7 demanderaient des tests supplémentaires (principalement la PCR et/ou la culture).

Le commentaire a mentionné que la légionellose s'exprime classiquement sous forme de 2 entités différentes: 1) la maladie des légionnaires, une pneumonie fulminante avec ou sans atteinte multisystème grave, et 2) la fièvre de Pontiac, une maladie auto-limitante qui ressemble à la grippe (« Influenza Like Illness »). En plus beaucoup de personnes dont une infection dans le passé par Legionella a été prouvée par séroconversion, resteront asymptomatiques. La durée de l'incubation de la légionellose varie de 2 à 10 jours.

Le diagnostic d'une infection par Legionella peut être effectué par culture ou PCR sur des échantillons respiratoires (de préférence profonds), par un test de détection de l'antigène dans les urines ou par détection des anticorps spécifiques anti-*Legionella pneumophila*.

L'introduction et l'utilisation des tests de détection de l'antigène dans les urines ont significativement amélioré la vitesse du diagnostic et du début du traitement par antibiotiques, ce qui a mené à une mortalité diminuée. Il s'agit de tests très simples et faisables, surtout des tests immuno-enzymatiques (« enzyme-linked immunosorbent assays » et tests immunochromatographiques), appropriés pour la détection du sérotype 1 de *L. pneumophila* avec une spécificité bonne ou acceptable. Les sensibilités varient énormément d'un test à un autre, et certains tests commerciaux ont une sensibilité inacceptablement basse même pour la détection du sérotype 1.

Le **rapportage** doit idéalement être le suivant :

« **Positif pour l'antigène urinaire du séro groupe 1 de *Legionella pneumophila*** »

**OU:**

« **Négatif pour l'antigène urinaire du séro groupe 1 de *Legionella pneumophila*. Les autres sérogroupes et types de légionelles ne sont pas détectés avec ce test. La culture de sécrétions respiratoires est à conseiller si une infection de *Legionella* est suspectée.** »

Pour l'échantillon Ag/12900 12 laboratoires ont conseillé d'effectuer des tests complémentaires. La sensibilité est en effet bien un facteur limitant et ces **tests rapides** peuvent donc bien être utilisés pour diagnostiquer une infection par *Legionella* mais **pas pour l'exclure avec sûreté**. Il dépendra donc de la sévérité clinique de l'infection, de l'immunité du patient, de la probabilité de l'infection (dépistage respiratoire large pour d'autres agents infectieux, séjour récent dans un centre de bien-être/station thermale,...) si en cas d'un résultat négatif du test de l'antigène un test complémentaire plus sensible est nécessaire.

Pour l'échantillon Ag/12973 le commentaire a mentionné qu'en ce qui concerne la réponse « borderline »: il faut mentionner que l'insert de la trousse BinaxNOW mentionne clairement que chaque ligne visible doit être considérée comme « positive » et qu'il ne semble donc pas possible de répondre borderline.

## Le CMV

Deux échantillons ont été envoyés : S/6415 et IS/12016.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/12016: Une fille de 18 ans consulte son généraliste à cause d'une faiblesse générale et d'une légère fièvre. L'examen clinique ne montre rien de spécial; les tests hépatiques sont légèrement perturbés.

S/6415: Quelques jours après son petit ami consulte son médecin avec des plaintes semblables.

Les résultats attendus étaient :

S/6415:                    IgG positif  
                                 IgM négatif  
                                 Interprétation: Sérologie suggestive d'une infection  
                                 ancienne à CMV.

IS/12016:                IgG négatif  
                                 IgM négatif  
                                 Interprétation: Sérologie négative pour CMV.

151 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 90.7%.

Les laboratoires ont effectué 340 tests sur l'échantillon S/6415 et 320 tests sur l'échantillon IS/12016.

Echantillon S/6415 : 4 laboratoires ont effectué 1 test, 118 laboratoires ont effectué 2 tests, 22 laboratoires ont effectué 3 tests, 2 laboratoires ont effectué 4 tests, 4 laboratoires ont effectué 5 tests et 1 laboratoire 6 tests.

Echantillon IS/12016 : 4 laboratoires ont effectué 1 test, 133 laboratoires ont effectué 2 tests, 8 laboratoires ont effectué 3 tests, 4 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau 3.1.

**Tableau 3.1.** Nombre de participants répartis par paramètre pour CMV (2015/2)

<i>N tests</i>	<i>Paramètres effectués</i>	<i>Nombre de labos</i>	
		<i>S/6415</i>	<i>IS/12016</i>
1 test	Ac totaux	1	1
	IgG	3	3
2 tests	IgG + IgM	118	133
3 tests	IgG + IgM + Avidité IgG	21	5
	IgG + 2 IgM	1	2
	2 IgG + IgM	-	1
4 tests	IgG + 2 IgM + Avidité IgG	1	1
	2 IgG + IgM + IgG avidité	1	-
	2 IgG + 2 IgM	-	3
5 tests	2 IgG + 2 IgM + Avidité IgG	4	1
	Ac totaux + 2 IgG + 2 IgM	-	1
6 tests	Ac totaux + 2 IgG + 2 IgM + Avidité IgG	1	-
<b>Total</b>		<b>151</b>	<b>151</b>

Les trousseaux les plus utilisés pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect CMV IgG (26.9%, les 2 échantillons), Cobas CMV IgG (Roche) (20.5%, les 2 échantillons), Liaison CMV IgG II (Diasorin) (17.9%, les 2 échantillons) et VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (12.2%, les 2 échantillons)
- IgM: Architect CMV IgM (25.3% et 25.2%), Cobas CMV IgM (Roche) (21.4% et 21.3%), Liaison CMV IgM (Diasorin) (18.2% et 18.1%) et VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (13.0% et 13.5%),
- Avidité: VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (71.4% et 57.1%) et Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (17.9% et 42.8%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

Echantillon S/6415

Un laboratoire a obtenu un résultat positif pour les anticorps totaux, l'autre un résultat borderline.

149 (99.3%) laboratoires ont trouvé les IgG positives. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif.

146 (99.3%) laboratoires ont trouvé les IgM négatives. Un laboratoire a obtenu un résultat positif

27 (96.4%) laboratoires ont obtenu un résultat élevé pour l'avidité et un laboratoire un résultat bas.

143 (94.7%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie suggestive d'une infection ancienne à CMV ». Cinq laboratoires ont mentionné qu'il était impossible de faire la distinction entre une infection primaire ou ancienne sur base des tests qu'ils ont effectués et ils ont demandé l'exécution de tests complémentaires et/ou le prélèvement d'un deuxième échantillon. Un laboratoire a mentionné « Sérologie suggestive d'une infection primaire à CMV ». Deux laboratoires ont répondu « Sérologie négative pour CMV ».

Echantillon IS/12016

Les 2 laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux.

149 (99.3%) laboratoires ont trouvé les IgG négatives. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline

139 (94.6%) laboratoires ont trouvé les IgM négatives ; trois laboratoires ont obtenu un résultat borderline et 4 laboratoires un résultat positif. Un laboratoire obtenu des résultats différents (positif et négatif) avec les 2 trousse qu'il a utilisé.

Tous les résultats non-négatifs ont été obtenus avec la trousse Immulite CMV IgM (nombre total d'utilisateurs = 9: 5+, 3 +/-, 1-). La firme en a été avertie et a examiné le problème. Ci-dessous vous trouverez la conclusion de leur examen.

« Ce courrier répond à une requête reçue par Siemens Healthcare Diagnostics concernant les performances du dosage de CMV IgM sur IMMULITE® 2000/IMMULITE® 2000 XPi, avec l'enquête de l'Institut Scientifique de Santé Publique (ISP) sur la sérologie du CMV.

Le dosage de CMV IgM sur IMMULITE® 2000 est un immunodosage in vitro pour la détection qualitative d'anticorps IgM dirigés contre le cytomégalovirus (CMV) dans le sérum ou le plasma humain (hépariné ou EDTA) pour la détermination d'une infection aiguë à CMV.

Pour l'enquête 2015 de l'Institut Scientifique de Santé Publique sur la sérologie du CMV (WIV-ISP EKE CMV serology 2015/2), l'échantillon n° IS/12016 a été ciblé comme non réactif pour CMV IgM. La majorité des clients utilisant le dosage de CMV IgM sur IMMULITE® 2000 ont rapporté de résultats faiblement réactifs pour cet échantillon en utilisant les lots de réactifs n°251 et 253. Le test a donné des ratios pour l'échantillon IS/12016 compris essentiellement entre 1,12 et 1,4. Pour le dosage de CMV IgM sur IMMULITE® 2000, un ratio  $\geq 1,1$  est un résultat réactif.

Siemens a conduit ses propres investigations sur les performances de l'échantillon de l'enquête, et les résultats sont résumés dans le tableau 3.2. Un échantillon lyophilisé n° IS/12016 a été renvoyé, reconstitué et testé chez Siemens sur deux lots de réactifs (chacun) pour le dosage de CMV IgM et CMV IgG sur IMMULITE® 2000

**Tableau 3.2.**

<i>Dosage</i>	<i>CMV IgM</i>		<i>CMV IgG</i>	
Lot de réactifs	254	255	305	306
Ratio S/CO	1,13	1,43	0,05	0,04
Interprétation du résultat	Réactif	Réactif	Non Réactif	Non Réactif

Les résultats observés en interne corroborent le résultat « faiblement réactif » rapporté par les clients sur cet échantillon d'enquête (n° IS/12016).

On ignore jusqu'à quel point l'échantillon de l'enquête est « non réactif », mais avec les échantillons avoisinant les seuils qualitatifs, la répétition des dosages donnera des résultats tombant dans les plages « non réactif », « douteux » et « réactif ».

Siemens tient à souligner que les échantillons qui ont subi un traitement, notamment un mélange avec d'autres échantillons, une conservation et une lyophilisation, peuvent réagir différemment des échantillons natifs avec les tests de différents fabricants. Cela est dû au fait qu'un échantillon traité ne peut laisser prévoir totalement le comportement des anticorps dans un échantillon natif, et cet effet peut être imprévisible pour n'importe quelle combinaison particulière de matériels et méthodes.

Pour mieux évaluer les performances du dosage de CMV IgM sur IMMULITE® 2000, une analyse de résultats chez des patients, générés lors d'un contrôle de qualité effectué sur les lots de réactifs 247 jusque 259, a montré que les performances sont stables dans le temps, et que chaque lot répondait à la spécification du Contrôle Qualité pour la libération des lots.

Par ailleurs, Siemens a passé en revue l'enquête de qualité National External Quality Assessment Survey (NEQAS) menée au Royaume-Uni et celle du College of American Pathology (CAP) aux États-Unis pour les tests sérologiques de CMV IgM. Pour l'enquête de UK NEQAS Diagnostic Hepatitis serology, les rapports de 2012 à 2015 montrent que tous les clients utilisant le dosage de CMV IgM sur IMMULITE® et IMMULITE® 2000 concordent à 100% avec les résultats attendus pour CMV IgM. L'enquête NEQAS est diffusée deux fois par an, avec trois échantillons de CMV IgM, dont deux sont censés être « non réactifs ». De même, pour l'enquête USA CAP Infectious Disease Serology VR3, les rapports des participants de 2014 à 2015 montrent une concordance totale entre les résultats obtenus par les clients utilisant le dosage de CMV IgM sur IMMULITE® et IMMULITE® 2000 et les résultats attendus. L'enquête CAP est diffusée deux fois par an, avec un échantillon de CMV IgM inclus à chaque diffusion.

En résumé, Siemens ne dispose d'aucun élément indiquant que le dosage de CMV IgM sur IMMULITE® 2000 donne lieu à des résultats faux-réactifs ou qui laisse un doute sur les échantillons d'enquête en général. Tous les lots de réactifs CMV IgM répondent à certains critères de Contrôle Qualité Siemens conçus pour assurer la détection des CMV IgM. Soyez certain(e) que le dosage des CMV IgM sur IMMULITE® 2000 peut être utilisé sans problème pour les tests sur les patients et le compte-rendu des résultats des patients.

Il n'y a pas deux méthodes qui puissent être corrélées à 100 %, et aucun dosage n'aura une sensibilité de 100 % et une spécificité de 100 %. Même si la corrélation globale doit être assez bonne avec de nombreux échantillons, il y aura inévitablement certaines discordances. Le problème relevé dans cette enquête en particulier semble propre à l'échantillon concerné. »

6 (85.7%) laboratoires ont obtenu un résultat bas pour l'avidité. Un laboratoire a obtenu un résultat intermédiaire.

142 (94.0%) laboratoires ont fourni l'interprétation « Sérologie négative pour CMV ». Les 8 laboratoires qui ont obtenu un résultat « non-négatif » pour les IgM ont donné comme interprétation que la sérologie était suggestive d'une infection primaire par CMV ou qu'elle doit être exclue. Un laboratoire a répondu « Sérologie infection ancienne à CMV ».

Le commentaire sur l'enquête a mentionné que 7 laboratoires ont **réalisés l'avidité des IgG** sur l'échantillon IS/12016 or celle-ci ne peut être faite qu'en présence d'IgG. **La réalisation de ce test en l'absence d'IgG ou en présence d'un taux borderline mène à des résultats erronés.** Le taux minimum nécessaire pour une interprétation correcte est normalement précisé dans l'insert par chaque fabricant. Une autre remarque importante concerne l'interprétation de la présence d'IgM en

l'absence d'IgG. Il faut être attentif à **la possibilité de faux positifs en IgM**. Comme l'ont correctement mentionné certains laboratoires, une **infection primaire** ne peut être **confirmée** que s'il y a **séroconversion des IgG** dans un second prélèvement.

## **La borréliose**

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Borrelia, IS/5859 et S/6749.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

Echantillon IS/5859

Prise de sang à l'occasion d'un examen de médecine du travail chez un bucheron ardennais de 23 ans. Il ne mentionne aucune plainte spécifique.

Echantillon S/6749

Une femme de 45 ans consulte son généraliste à cause de problèmes articulaires. Elle mentionne avoir eu la maladie de Lyme il y a 10 ans.

Les résultats attendus étaient :

IS/5859:                    IgG négatif  
                                  IgM négatif  
                                  Interprétation: Absence d'anticorps

S/6749:  
                                  IgG positif  
                                  IgM négatif  
                                  Interprétation: Présence d'anticorps

124 laboratoires cliniques ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 248 tests sur l'échantillon IS/5859 et 269 tests sur l'échantillon S/6749.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 91.1%.

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau 3.3.

**Tableau 3.3.** Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour la détermination des anticorps anti-Borrelia de l'enquête 2015/2

<i>Nombre de tests</i>	<i>Type de trousse</i>	<i>Type de technique</i>	<i>IS/5859</i>	<i>S/6749</i>
1 test	Ac. tot.	anti-C6	8	6
2 tests	IgG et IgM	nonblot - nonblot	111	97
3 tests	Ac. tot. et IgG et IgM	antiC6 – blot – blot	1	3
	2 x IgG et IgM	nonblot – blot- nonblot	1	12
4 tests	2 x IgG et 2 x IgM	nonblot – nonblot - nonblot - nonblot	1	1
		nonblot – blot – nonblot – blot	2	5
<b>Total</b>			<b>124</b>	<b>124</b>

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps totaux (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA (Immunetics (100%))
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (45.0% et 39.7%) et VIDAS Lyme IgG (bioMérieux) (36.7% et 32.4%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (41.2% et 39.5%) et VIDAS Lyme (IgM) (bioMérieux) (37.0% et 35.5%)

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux, pour les IgG et pour les IgM pour l'échantillon IS/5859, indépendamment de la technique utilisée.

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

Echantillon S/6749

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les anticorps totaux et pour les IgG, indépendamment de la technique utilisée.

Avec les tests non-blot, 72 (62.6%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM, 27 un résultat borderline, 15 un résultat positif et un laboratoire deux résultats différents (positif et négatif) selon la technique utilisée.

Les 27 résultats borderline et 15 des résultats positifs ont été obtenus avec la trousse VIDAS Lyme IgM (nombre total d'utilisateurs = 44). La firme en a été avertie et a examiné le problème. Ci-dessous vous trouverez la conclusion de leur examen.

“ The manufacturer's device analysis results

The sample WIV 6749 of the External Quality Control of the ISP WIV (Scientific Institute of Public Health in Belgium) was received in bioMérieux facility. This sample gave a positive result instead of a negative one as expected.

Based on the information received by the Belgian subsidiary, forty-five (45) VIDAS customers tested the External Quality control. Two (2) out of 45 customers obtained a negative result, 27 obtained equivocal result and sixteen (16) a positive result. The results obtained using other commercial methods (76 results) were all negative.

The sample WIV 6749 was tested on four (4) lot of the test VIDAS Lyme IgM ref. 30319:

<i>Lot Vidas Lyme IgM</i>	<i>Results (index)</i>	<i>Interpretation</i>
1003354530	0,36	positive
1003508920	0,23	equivocal
1003590580	0,28	equivocal
1003645310	0,28	equivocal

The interpretation of the test VIDAS Lyme IgM ref. 30319 is as follow:  
 $I < 0.20$ : negative,  $0.20 \leq i < 0.32$ : equivocal,  $i > 0.32$ : positive.

No interference with Rheumatoid factor has been observed.

The root cause of the false positive results has not been identified. As stated in the Instructions for Use (IFU), chapter "Limitation of the method": Positive results in the VIDAS Lyme IgG and IgM assay must be interpreted with caution. Cross-reactivity maybe observed with certain diseases.

- Clinical symptoms, epidemiological information and other laboratory test results must all be considered in addition to VIDAS Lyme IgM and IgG assay results.
- Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.
- Testing should be done only when exposure history, epidemiology and clinical symptoms suggest Lyme disease.

For the other External Quality Assessments (Cap Survey (US), Labquality) VIDAS Lyme IgM ref. 30319 gave the expected results. VIDAS Lyme IgM product (reference 30319 – Lot 1003590580) conformed with the declared product performances indicated in the Instructions For Use.

Remedial action / corrective action / preventive action / Field Safety Corrective Action  
N/A"

Avec les tests en blot cinq laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 3 un résultat borderline

110 (88.7%) laboratoires ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. »; 11 (8.9%) laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. ». Trois laboratoires ont également mentionné la présence des anticorps IgG mais ont ajouté un propre élément.

Le commentaire concernant l'enquête a mentionné qu'on ne conseille pas de rechercher des anticorps anti-Borrelia chez des personnes sans symptômes. Pour l'échantillon S/6749 le commentaire a mentionné que la présence ou l'absence d'anticorps IgM ne peut donc pas être utilisée pour démontrer ou exclure une infection aiguë (ou ancienne). L'interprétation « Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines » est cependant incorrecte pour cet échantillon. Cette réponse est uniquement correcte dans un contexte où seuls les IgM sont positifs et les IgG négatifs. La production des anticorps anti-Borrelia prend quelques semaines mais après 6 semaines de maladie la sensibilité du test des IgG approche les 100%. La seule présence des IgM chez un

patient qui a des plaintes depuis longtemps n'étaie donc pas le diagnostic d'une borréliose de Lyme. Il est donc important de le rapporter étant donné que des résultats faux positifs des IgM anti-Borrelia sont un problème fréquent aussi bien pour les tests blot que les tests non-blot. **L'information clinique est nécessaire pour une interprétation correcte de la sérologie de la borréliose.**

Pour conclure le commentaire a souligné que chez **les patients** qui se présentent **avec un érythème migrant, le diagnostic de maladie de Lyme se fait uniquement sur base de la clinique et le diagnostic de laboratoire n'a pas de valeur ajoutée** (et en cas de résultat négatif des anticorps, il peut même avoir comme conséquence qu'on n'administre pas le traitement antibiotique nécessaire).



Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 3.4.

**Tableau 3.4.** Nombre de participants répartis par paramètre pour l'EBV (2015/3)

<i>N tests</i>	<i>Paramètres effectués</i>	<b>IS/13724</b>	<b>IS/13725</b>
1 test	Ac. Hétérophiles	2	2
	EBNA IgG	1	1
2 tests	VCA IgG + VCA IgM	14	14
	VCA-EA IgG + VCA IgM	4	4
	EBNA IgG + VCA IgM	2	2
3 tests	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM	23	23
	Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM	5	5
	Ac. Hétérophiles + IgG Totales + IgM Totales	4	4
	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + VCA IgM	10	10
	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + IgM Totales	1	1
	Ac. Hétérophiles + EBNA IgG + EA IgM	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	25	25
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	5	5
4 tests	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	27	27
	Ac. Hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	6	6
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	2	2
5 tests	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	6	6
	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + IgG Totales + IgM Totales	1	1
6 tests	Ac. Hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG+ EA IgM	1	1
<b>Total</b>		<b>140</b>	<b>140</b>

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ac hétérophiles: Clearview IM (Alere Health) (71.3%, les 2 échantillons)
- IgG totaux: Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens) (100%, les 2 échantillons)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100%, les 2 échantillons)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (DiaSorin) (52.5%, les 2 échantillons), Architect VCA IgG (Abbott) (20.2%, les 2 échantillons) et Immulite EBV VCA IgG (Siemens) (11.1%, les 2 échantillons)
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (DiaSorin) (37.9% et 39.1%), VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (20.7%, les 2 échantillons) et Architect EBNA IgG (Abbott) (19.5% les 2 échantillons)
- EA IgG: Liaison EA IgG (DiaSorin) (66.7%, les 2 échantillons)
- IgM totaux: Enzygnost anti-EBV IgM II (Siemens) (100%, les 2 échantillons)
- VCA IgM: Liaison EBV IgM (DiaSorin) (42.7%, les 2 échantillons), VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (17.6%, les 2 échantillons), Architect VCA IgM (Abbott) (16.8%, les 2 échantillons) et Immulite EBV VCA IgM Elisa (Siemens) (10.7%, les 2 échantillons)

## IS/13724

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les Ac. hétérophiles.

Tous les résultats pour les IgG totales et les IgG VCA-EA étaient positifs. Pour les IgG VCA 98 laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif (probablement le laboratoire a coché la mauvaise case dans le toolkit). Pour les IgG EBNA 86 laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif (probablement le laboratoire a coché la mauvaise case dans le toolkit). Les résultats des IgG EA étaient tous négatifs.

Tous les résultats pour les IgM totaux et les EA IgM étaient négatifs. Pour les IgG VCA 126 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 5 laboratoires un résultat positif (tous obtenus avec la trousse Chorus Epstein Barr VCA IgM).

La firme en a été avertie et a examiné le problème. Ci-dessous vous trouverez la conclusion de leur examen:

« We received the sample and it was tested in the new kit, cod. 81054 Chorus VCA IgM II lot 152 , obtaining negative result (N 0.1) as attended. The sample resulted positive only with the old kit, cod.81056 Chorus VCA IgM lot 103.

It is quite strange that the result with the cod. 81054 was positive; it could be worth to verify.

The new kit shows also a better specificity than the previous one:

Cod. 81056: specificity 96% CI95%: 90-98

Cod. 81054: specificity 98.3% CI95%: 96.6-99.2

Based on this result no other tests were performed »

95.7% des laboratoires ont donné l'interprétation correcte : « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ». Un laboratoire a mentionné « Ancienne infection avec IgM restant ou re-infection » et 2 laboratoires ont proposé la possibilité d'une infection primaire (ces 3 laboratoires avaient obtenu un résultat positif pour les VCA IgM).

Un laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac. hétérophiles) a référé à la nécessité d'effectuer une sérologie complémentaire d'EBV afin de pouvoir donner une interprétation correcte et 1 laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac. hétérophiles) a mentionné « sérologie négative pour EBV »

## IS/13725

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les Ac. hétérophiles.

Tous les résultats pour les IgG totales, les IgG VCA-EA et les IgG VCA étaient positifs. Pour les IgG EBNA 86 laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif (probablement le laboratoire a coché la mauvaise case dans le toolkit). Les résultats des IgG EA étaient tous négatifs.

Tous les résultats pour les IgM totaux et les EA IgM étaient négatifs. Pour les IgM VCA 130 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat positif (probablement le laboratoire a coché la mauvaise case dans le toolkit).

98.6% des laboratoires ont donné l'interprétation correcte : « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ». Un laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac. hétérophiles) a référé à la nécessité d'effectuer une sérologie complémentaire d'EBV afin de pouvoir donner une interprétation correcte et 1 laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac. hétérophiles) a mentionné « sérologie négative pour EBV ».

## Le VIH

Deux échantillons « prêts-à-l'emploi » (IS/10543 et IS/10557) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

L'échantillon IS/10543 était réactif.

L'échantillon IS/10557 était négatif.

155 laboratoires belges et Luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Les laboratoires ont effectué 179 tests de dépistage sur l'échantillon S/12642 et 169 tests

de dépistage sur l'échantillon IS/10557.

Le tableau 3.5. montre la distribution par génération de trousse.

**Tableau 3.5.** Distribution par génération des trouses utilisées pour la détection du VIH a

<i>N tests</i>	<i>Génération</i>	<i>IS/10543 (N labos)</i>	<i>IS/10557 (N labos)</i>
1 test	3 <sup>e</sup> gén.	10	11
	4 <sup>e</sup> gén.	123	132
2 tests	3 <sup>e</sup> + 4 <sup>e</sup> gén.	4	2
	4 <sup>e</sup> + 4 <sup>e</sup> gén.	16	8
3 tests	3 <sup>e</sup> + 4 <sup>e</sup> + 4 <sup>e</sup> gén.	1	1
	4 <sup>e</sup> + 4 <sup>e</sup> + 4 <sup>e</sup> gén.	1	1
<b>Total</b>		<b>155</b>	<b>155</b>

Pour l'échantillon IS/10543 les laboratoires ont donc utilisé 164 trouses de 4<sup>e</sup> génération et 15 trouses de 3<sup>e</sup> génération et pour l'échantillon IS/10557 155 trouses de 4<sup>e</sup> génération et 14 trouses de 3<sup>e</sup> génération. Un laboratoire qui n'a utilisé qu'un seul test de 3<sup>e</sup> génération, a cependant également effectué sur les 2 échantillons la recherche de l'Ag p24 avec une autre trousse.

Les réactifs les plus utilisés sont HIV Combi PT (Roche) (31.4%, les 2 échantillons), Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (26.3%, les 2 échantillons), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (10.1% en 9.0%) et Liaison XL Murex HIV Ag/Ab (DiaSorin) (9.6%, les 2 échantillons).

153 (98.7%) laboratoires ont obtenu un résultat réactif avec les tests de dépistage pour l'échantillon IS/10543. Deux laboratoires ont obtenu un résultat négatif ; étant donné que ces 2 laboratoires ont répondu un résultat réactif pour l'échantillon IS/10557, il s'agit probablement d'une inversion d'échantillons.

153 (98.7%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif avec les tests de dépistage pour l'échantillon IS/10557. Deux laboratoires ont obtenu un résultat réactif; étant donné que ces 2 laboratoires ont répondu un résultat réactif pour l'échantillon IS/10543, il s'agit probablement d'une inversion d'échantillons.

Le commentaire concernant l'enquête a accentué **que l'utilisation des tests de 3<sup>e</sup> génération est fortement déconseillée** étant donné leur moins bonne sensibilité en phase de séroconversion. La détection précoce des infections est une priorité, tant

pour le patient qui peut bénéficier plus rapidement d'un traitement que pour la population, les patients non-dépistés en phase aiguë d'infection montrant un risque accru de transmission du virus. Les tests de recherche d'antigène réalisés en complément d'un test de 3<sup>ème</sup> génération peuvent avantageusement être remplacés par une trousse de 4<sup>ème</sup> génération.

Le commentaire a également souligné que l'inversion des résultats par deux laboratoires démontre que les erreurs administratives ou techniques restent toujours possibles. **Le diagnostic de l'infection par le VIH doit impérativement être posé après l'analyse de deux échantillons indépendants.**

---

**FIN**

---