

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

**RAPPORT ANNUEL GLOBAL DEFINITIF
MICRO/SERO/PARA
2022**

Sciensano/Micro/Séro/Para/135-FR

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS

SCIENSANO					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Dr. VERNELEN Kris	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.29	e-mail:	kris.vernelen@sciensano.be
Dr. CHINA Bernard	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.53.85	e-mail:	bernard.china@sciensano.be
Experts	Institution				
Pharm. BOEL An	OLVZ Aalst				
Dr. BOELENS Jerina	UZ Gent				
Dr. BOERAS Anca	CLINIQUE ST JOSEPH Liège				
Dr. CAMPS Kim	ZNA Antwerpen				
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ Aalst				
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC Bruxelles				
Dr. DELFORGE Marie-Luce	ULB ERASME Bruxelles				
Dr. DEPYPARE Melissa	UZ Leuven				
Dr. HUANG Te-Din Daniel	UCL Mont Godinne				
Dr. MEEUX Cécile	CHU Liège				
Dr. MAGERMAN Koen	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt				
Dr. PADALCO Elizaveta	UZ Gent				
Dr. REYNDERS Marijke	AZ SINT JAN Brugge				
Dr TRE HARDY Marie	HOPITAUX IRIS SUD Ixelles				
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST LUCAS Gent				
Dr. VAN DEN BOSSCHE Dorien	ITG Antwerpen				

Une version préliminaire (draft) de ce rapport a été transmise aux experts le : 01/02/2023.

Autorisation du rapport : par Kris Vernelen, coordinateur d'enquête



Date de publication : 28/02/2023

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-microbiologie-parasitologie-et-serologie-infectieuse>

Tables des matières

I. MICROBIOLOGIE	4
1.1. Rapport de l'identification des cultures	4
1.2. Evaluation des tests de sensibilité	6
II. PARASITOLOGIE	22
Enquête 1	22
Enquête 2	22
Enquête 3	24
III. SÉROLOGIE INFECTIEUSE	25
La syphilis.....	25
La borréliose.....	29
CMV	34
L'EBV.....	36
Interprétation de l'EBV et du CMV	38
La toxoplasmose	39
L'hépatite A.....	41
Le VIH	43
COVID-19*	44

I. Microbiologie

Trois enquêtes ont été organisées en 2022 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 125 laboratoires ont participé à au moins une enquête. Un laboratoire (0.8%) ont participé à 1 enquête, 2 laboratoires (1.6%) ont participé à 2 enquêtes et 122 (97.6 %) ont participé aux 3 enquêtes. Cinq ont cessé d'effectuer des déterminations microbiologiques. Le nombre de laboratoires participants s'élevait à 124, 123 et 124 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 90 laboratoires hospitaliers, 22 laboratoires privés, 4 laboratoires de polycliniques et 9 autres laboratoires.

1.1. Rapport de l'identification des cultures

Répartition des résultats par échantillon.

Les participants ont reçu 12 échantillons : 11 échantillons lyophilisés et 1 échantillon simulé (selles).

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

Legionella pneumophila (échantillon respiratoire; enquête 2022/2) a toujours été envoyée à des fins didactiques ;il est clair que les informations cliniques n'ont pas fait soupçonner tous les laboratoires la possibilité d'une *Legionella*/pneumonie atypique. De plus beaucoup de laboratoires ne disposent toujours pas des milieux appropriés pour la culture des *Legionella*.

Campylobacter coli (selles; enquête 2022/2) étant donné que le long transport imprévu (suite aux problèmes chez B-Post) a eu un effet défavorable sur la survie du germe dans un échantillon simulé, ces résultats n'ont pas été évalués.

Au total les laboratoires devaient donc introduire 10 résultats évaluable.

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

Enquête	Germe	% d'identifications acceptables
2022/1	<i>Streptococcus canis</i> (hémoculture)	89.6
	<i>Burkholderia cepacia</i> (expectoration)	96.0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	99.2
	<i>Candida albicans</i> (hémoculture)	99.2
2022/2	<i>Staphylococcus aureus</i> (peroperatief diep staal)	99.2
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (endotracheale aspiratie)	100
2022/3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (hémoculture)	97.6
	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (expectoration)	95.2
	<i>Staphylococcus aureus</i> (hémoculture)	99.2
	<i>Kingella kingae</i> (liquide synoviale)	96.7

Les pourcentages pour *C. albicans* et *P. aeruginosa* de la 1^e ne sont « que » 99.2% étant donné qu'un laboratoire soustraite ces échantillons et qu'il n'a donc pas donné de résultat pour l'identification.

0 l'occasion de la 1^e enquête nous avons également envoyé un frottis pour la coloration de gram. Il contenait des levures, qui ont été retrouvées par tous les participants.

Pour le *S. aureus* de l'EEQ 2022/2 le pourcentage n'est pas 100% parce qu'un laboratoire a introduit une résultat erroné (*S. intermedius*). Pour le *S. aureus* de l'EEQ 2022/3 le pourcentage n'est pas 100% parce qu'un laboratoire a mentionné de sous-traiter ce genre d'échantillon.

Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications acceptables.

Chaque laboratoire a dû réaliser 10 identifications. 101 (80.8%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 24 (19.2 %) laboratoires ont mentionné des identifications inacceptables. Le tableau ci-dessous montre la répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.

Les laboratoires qui rapportent des erreurs cliniquement pertinentes sont contactés par les inspecteurs des communautés respectives.

Tableau 1.2. Nombre d'identifications inacceptables.

Nombre d'identifications inacceptables	Nombre de laboratoires (N = 125)
0	101 (80.8%)
1	15 (12.0%)
2	8 (6.4%)
3	1 (0.8%)

1.2. Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 6 germes, *Candida albicans* M/18472, *Pseudomonas aeruginosa* M/18740 *Staphylococcus aureus* M/18480, *Pseudomonas aeruginosa* M/18936, *Stenotrophomonas maltophilia* M/19114 *Staphylococcus aureus* M/18480 et *Kingella kingae* M/19310 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

***Candida albicans* M/18472**

A l'occasion de cette enquête nous avons demandé pour la première fois un antifongigramme, sur bases didactiques.

Le commentaire de l'enquête a discuté de l'identification et de la détection de l'antibiogramme.

Au laboratoire, lorsqu'une hémoculture est positive, il est préconisé de réaliser un examen direct avec coloration de GRAM. Les levures apparaissent GRAM positif et peuvent être visualisées sous forme de levures (blastospore de forme ovale de 2-4µm +/- bourgeonnement), de pseudomycélium ou de mycélium. La mise en culture de l'hémoculture sur milieu Sabouraud ou sur gélose au sang incubée entre 25 et 37°C, permet le développement en 24-48h de colonies d'1-2 mm de diamètre, crémeuses et blanchâtres.

En règle générale, le *C. albicans* est facilement identifié par spectrométrie de masse Maldi-Tof MS à partir d'une colonie isolée en culture moyennant un dépôt avec ajout d'acide formique 70%. Des scores supérieurs à 1.7 avec un même résultat donné au moins 3 fois sont considérés comme fiables à l'espèce pour les *Candida sp.*. En effet de nombreuses études ont déterminé qu'abaisser le « cut-off » à 1.7 au lieu de 2 comme préconisé par le fabricant, permettait d'augmenter le taux d'identifications réussies sans pour autant compromettre la précision de l'identification jusqu'à l'espèce. Pour les laboratoires ne disposant pas d'un spectromètre de masse Maldi-Tof, MS certains milieux chromogènes peuvent aider à l'identification comme le milieu Candi-select de Biorad par exemple ou le milieu ChromID Candida de bioMérieux. Grâce à la mise en évidence d'une réaction enzymatique spécifique, les colonies de *Candida albicans* apparaîtront avec une coloration qui leur est propre sur ces milieux permettant l'identification de l'espèce. La réalisation de tests biochimiques comme les galeries API32C (bioMérieux) par exemple est également envisageable pour confirmer l'identification. L'espèce *C. albicans* se distinguera notamment par sa capacité à fermenter le glucose et le maltose et à assimiler le carbone à partir de xylose, maltose, galactose et tréhalose. Par ces méthodes phénotypiques (culture sur milieux chromogènes, tests biochimiques), une confusion avec *C. dubliniensis* est cependant possible. *Candida albicans* pourra aisément être différencié de *C. dubliniensis* grâce aux méthodes de biologie moléculaire et par Maldi-Tof MS. En effet, l'analyse du profil protéique permet de différencier efficacement ces deux espèces proches. La réalisation d'une PCR amplifiant la région non codante ITS « internal transcribed spacer » de la

levure, suivie d'un séquençage permet également de faire la distinction entre les deux espèces. Ces deux espèces divergent en effet au niveau de leur génome et en particulier au niveau de la région ITS car des différences au niveau de 20 bases au sein de cette région génique ont été mises en évidence.

La réalisation d'un antifongogramme sur une souche de *C. albicans* isolée d'hémoculture est en effet indispensable. Les récentes recommandations concernant la prise en charge des candidémies préconisent l'utilisation des échinocandines pour le traitement en première intention. Même si le taux de résistance est fort bas pour cette classe d'antifongiques, le développement de résistances a déjà été mis en évidence notamment chez des patients ayant été préalablement traités par échinocandines. Ce phénomène de résistance est lié à une mutation du gène codant pour la sous unité Fks1 ou Fks2 (Fks2, uniquement chez *C. glabrata*) de la glucane synthase entraînant une diminution de l'affinité de l'enzyme pour les échinocandines. Cette mutation confère en général, une résistance croisée à toutes les échinocandines, c'est pourquoi il est préconisé de tester au moins une échinocandine en cas d'hémoculture positive à *Candida* sp. Les « guidelines » actuelles préconisent également l'utilisation du fluconazole en thérapie dégressive pour les candidoses invasives. Etant donné l'émergence de mécanismes de résistance aux azolés, la réalisation d'un antifongogramme ainsi que l'identification précise à l'espèce est primordiale. En effet, de nombreuses mutations au sein du gène ERG11, qui code pour la 14 α -déméthylase permettant la synthèse d'ergostérol à partir du lanostérol, ont été décrites à travers le monde comme étant responsables d'une augmentation des valeurs de concentrations minimales inhibitrices (CMI) chez *Candida* sp. incluant *C. albicans*. D'autres mécanismes de résistance comme une surexpression de ERG11 ainsi que des pompes à efflux de type ABC ou MFS ont également été décrits chez *C. albicans* et d'autres *Candida* sp.. *Candida krusei* est quant à lui constitutivement résistant au fluconazole et *C. glabrata* présente une sensibilité diminuée à l'égard de cet antifongique, justifiant l'importance d'une identification précise à l'espèce.

Par ailleurs, il est important d'utiliser le bon référentiel lié à la méthode utilisée pour l'interprétation des résultats. Les méthodes et référentiels associés aux méthodes de disques, et E-tests sont celles du CLSI, le dernier publié étant le document M60, celui-ci est également recommandé pour l'interprétation des résultats obtenus avec le Sensititre YeastOne (Thermo Fisher) et la méthode Vitek 2 (bioMérieux), cette dernière utilise en effet la carte AST-YS08 qui a été développée selon les standards CLSI. Les méthodes et référentiels suivis par la méthode Micronaut-AM (Bruker) sont par contre ceux de l'EUCAST. La méthode de microdilution EUCAST est une technique européenne dérivée de la méthode CLSI. Elle s'en distingue par une concentration supérieure en glucose du milieu de culture (2% au lieu de 0,2%), un inoculum plus dense ($1-5 \times 10^5$ UFC au lieu de $0,5-2,5 \times 10^3$ UFC), une lecture par spectrophotométrie et l'utilisation d'un puits à fond plat. Il est à noter que seule la méthode de microdilution (méthode Eucast v.7.3.2 ou

CLSI M27) non commercialisée est considérée comme méthode de référence, même si de nombreux ouvrages ont documenté un bon agrément des autres méthodes commerciales avec la méthode de référence. L'utilisation du référentiel correspondant à la méthode utilisée pour l'interprétation des résultats par les différents laboratoires n'a pu être discutée dans ce rapport car l'information n'était pas disponible pour toutes les méthodes.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2022/1.

Tableau 1.3. Résultats des antifongogrammes effectués pour l'échantillon M/18472 (*Candida albicans*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*	Pas en routine
Fluconazole	R	78	-	2	75	1	1
Voriconazole	R	67	3	3	60	1	4
Itraconazole	R	28	1	-	25	2	5
Posaconazole	**	26	2	-	21	3	8
Amphotéricine B	**	61	58	1	-	2	5
Caspofungine	S	63	57	1	4	1	4
Anidulafungine	S	43	35	1	6	1	2
Micafungine ¹		7	7	-	-	-	1

. Un certain nombre de laboratoires ont déclaré ne pas pouvoir donner d'interprétation pour certainsifongicides étant donné qu'il n'existe pas de directives.

** Ces résultats attendus sont discutés dans le commentaire sur l'enquête.

¹ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la caspofungine, à l'anidulafungine et à la micafungine. Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la caspofungine et à la micafungine.

***Pseudomonas aeruginosa* M/18740**

La souche était porteuse d'une carbapénémase VIM. 31 laboratoires ont mentionné explicitement cette présence; 19 autres laboratoires ont mentionné la présence d'une carbapénémase (pour laquelle ils enverraient l'échantillon); Un laboratoire a écommandé d'envoyer l'échantillon pour la détermination des mécanismes de résistance sans pour autant les préciser. 12 laboratoires enverraient la souche pour la détermination ou la confirmation du résultat de la colistine.

Il s'agit d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée dans une hémoculture chez un patient immunodéprimé. La souche est résistante de haut niveau au pipéracilline/tazobactam (PTZ), aux céphalosporines de 3^{ème} (ceftazidime) et 4^e génération (céfépime), à la ceftazidime/avibactam (CAZ/AVB), au ceftolozane/tazobactam (CTL/TZB) et aux carbapénèmes (imipénème et méropénème), alors qu'elle reste sensible à posologie élevée à l'aztréonam (ATM) selon la version 2022 des recommandations EUCAST. Cette souche est qualifiée de multirésistante (MDR) puisqu'elle est également résistante aux fluoroquinolones (ciprofloxacine) et aux aminoglycosides (amikacine et tobramycine). Ce profil de résistance aux beta-lactamines est typique d'une souche de *P. aeruginosa* productrice de carbapénémase (CPPA) de type VIM. Par ailleurs, la souche est sensible à la colistine, à la fosfomycine et au céfidérocol (options thérapeutiques de dernière ligne).

La carbapénémase de type VIM (essentiellement VIM-2) est actuellement l'enzyme la plus fréquemment rencontrée en Belgique chez les CPPA. La grande majorité (95%) de cette CPPA présente le plus souvent un haut niveau d'expression de la résistance aux carbapénèmes avec une CMI méropénème >8 µg/ml. Faisant partie des metallo-β-lactamases (MBL) de classe B d'Amber, une souche VIM-positif est toujours résistante aux antibiotiques avec inhibiteurs de β-lactamases de classe A/B/D dont la combinaison CTL/TZB et CAZ/AVB, alors que 2/3 des CPPA restent sensibles à l'aztréonam (en l'absence d'autres mécanismes de résistance à l'aztréonam).

L'émergence et la dissémination de souches de *P. aeruginosa* multirésistantes (MDR) et extrêmement résistantes aux médicaments (XDR) constituent de sérieux problèmes de santé publique pour plusieurs raisons. D'abord, *P. aeruginosa* provoque des infections graves, en particulier dans les institutions de soins de santé et chez les patients immunodéprimés. Ensuite, il a une capacité exceptionnelle à être sélectionné et à propager la résistance antimicrobienne in vivo soit via le transfert horizontal d'éléments mobiles de résistance, soit par la dissémination verticale des clones dits « à haut risque ». Enfin, Le manque d'alternatives thérapeutiques pour traiter les infections causées par ces bactéries MDR/XDR représente un poids considérable en termes de morbidité et de mortalité. L'Organisation mondiale de la santé a fait figurer depuis 2017 *P. aeruginosa* résistant aux carbapénèmes dans le groupe de « priorité critique » pour lequel le développement de nouveaux antibiotiques représente une urgence.

Au cours des dernières décennies, diverses définitions des profils MDR de *P. aeruginosa* ont été utilisées ont rendu difficile le suivi et la comparabilité des programmes de surveillance au cours du temps. Actuellement en utilisant les nouvelles définitions des catégories S I R d'EUCAST (version à partir de 2020), la MDR selon la surveillance européenne EARS-Net (souches invasives) est définie comme la résistance à au moins un agent dans au moins 3 classes d'antibiotiques parmi les 5 groupes d'antibiotiques suivants testés : pipéracilline/tazobactam, ceftazidime, carbapénèmes, aminoglycosides, fluoroquinolones. La surveillance belge NSIH-AMR (souches hospitalières de prélèvements cliniques) a redéfini les critères de MDR similaires à celles d'EARS-Net avec comme différence principale l'exclusion de pipéracilline/tazobactam. La prévalence de *P. aeruginosa* MDR se situe actuellement autour de 15% en Europe avec des

différences géographiques importantes. En Belgique, les surveillances EARS-Net et NSIH-AMR ont montré des taux de *P. aeruginosa* MDR de 5.9% et de 6.2% respectivement en 2019, des taux qui demeurent stables avec toutes les limites d'interprétation de ces données.

L'analyse de l'épidémiologie moléculaire des isolats cliniques et environnementaux de *P. aeruginosa* révèle généralement une grande diversité clonale. Cependant, si cette observation est vraie surtout pour isolats sensibles aux antibiotiques, des clones « à haut risque » ont été identifiés parmi des souches MDR/XDR et qui sont responsables d'épidémies hospitalières à travers le monde. En Belgique la caractérisation moléculaire portant sur 65 souches *P. aeruginosa* productrice de VIM carbapénémase collectées dans 27 hôpitaux belges lors de l'étude de surveillance en 2016 a montré la prédominance persistante du ST111 (sérotypage O12) et du ST235 (sérotypage O11) largement distribués dans les hôpitaux belges (avec des clusters épidémiques identifiés) et qui correspondent aux clones internationaux à haut risque (La souche M18740 fait partie du clone ST111). Néanmoins, la pathogénicité des clones à haut risque épidémique est variable et encore fortement débattue.

Au niveau diagnostique de production de carbapénémase sur colonies, rappelons que de nombreux tests utilisés pour le diagnostic des *Enterobacterales* productrices de carbapénémase (CPE), tels que l'hydrolyse des carbapénèmes par tests colorimétriques ou par MALDI-TOF MS, les tests immunochromatographiques pour la détection d'antigènes spécifiques ou les tests moléculaires, conviennent aussi pour le screening et la confirmation de la présence des principales carbapénémases de type MBL chez les CPPA (VIM, IMP, NDM...). Les tests d'hydrolyse de carbapénème ont en général une excellente sensibilité et spécificité de >95% pour la détection de MBL des CPPA, mais leur sensibilité est médiocre pour les rares carbapénémases non-MBL par exemple de type GES. Les tests immunochromatographiques ont en théorie une sensibilité et une spécificité maximales, mais peuvent parfois rater certains variants de carbapénémase non-couverts par les anticorps monoclonaux incorporés du test. Il est attendu que leur utilisation plus fréquente contribue à l'amélioration de performance et de rapidité de détection des CPPA par les laboratoires de microbiologie. Les tests de diffusion des disques de carbapénème avec ou sans inhibiteurs de carbapénémase de classe B (ex : imipénème ±EDTA, meropénème ±DPA) permettent une détection de CPPA et une orientation vers une MBL avec en général une excellente sensibilité >95% mais une spécificité modérée, ce qui nécessite souvent la confirmation par une autre méthode. A noter que l'utilisation de test similaire avec inhibiteur de carbapénémase de classe A de type KPC (acide boronique) est à proscrire pour les *P. aeruginosa* en raison de risque majeur de fausse positivité due à l'hyperproduction de céphalosporinase AmpC et l'absence de KPC chez *P. aeruginosa* dans nos régions.

Au niveau de la prévention de la transmission des *P. aeruginosa* MDR, les recommandations internationales de prise en charge restent très hétérogènes en l'absence de consensus. Selon le dernier avis du Conseil Supérieur de la Santé, il est suggéré de mettre en place les mesures d'isolement et de précautions additionnelles de type contact pour un patient hospitalisé porteur de *P. aeruginosa* MDR (surtout productrice de carbapénémase) après évaluation de risque local. Par ailleurs, seuls des clusters/épidémies dans des unités à risque (p.ex. USI, transplantés et immunodéprimés) requièrent l'instauration de prélèvements de dépistages (sites respiratoires et cutanéomuqueuses) avec une attention particulière sur les mesures de nettoyage – désinfection de l'environnement qui peut constituer un réservoir humide facilitateur de transmission dans certaines épidémies non contrôlées.

Le traitement des infections à *P. aeruginosa* MDR représente toujours un défi avec des possibilités souvent très limitées. Les choix de molécules doivent se baser sur la sensibilité résiduelle (en déterminant les CMI) des anti-Pseudomonas classiques et

l'association de plusieurs molécules est souvent nécessaire avec une efficacité clinique supérieure aux monothérapies. L'aztreonam à haute dose peut être considérée en association pour traiter une CPPA produisant une MBL en l'absence d'autre mécanismes de résistance aux β -lactamines. Les aminoglycosides pourraient être aussi utilisés en association s'ils sont actifs contre les souches MDR/XDR de *P. aeruginosa*. Il est à noter que sur base PK-PD et au contraire de la tobramycine et de l'amikacine, la gentamicine a une activité anti-pyocyanique jugée insuffisante (seuil épidémiologique ECOFF =8 mg/l) pour une efficacité clinique, ce qui explique son retrait d'interprétation catégorielle clinique (IE) de la version actuelle d'EUCAST. La fosfomycine par son activité bactéricide est une autre possibilité en IV en thérapie combinée, mais la résistance est fréquente y compris son développement pendant le traitement.

Parmi les nouveaux anti-infectieux anti-Pseudomonas, deux antibiotiques issus de la combinaison d'anciens et de nouveaux antibactériens ont été commercialisés ces dernières années pour les *P. aeruginosa* MDR/XDR. Le ceftolozane-tazobactam (CTL/TZB) est une association efficace en combinant le ceftolozane avec une inhibition plus efficace de la céphalosporinase chromosomique AmpC même hyperproduite du *P. aeruginosa*, avec le tazobactam qui inhibe d'autres β -lactamases de classe A et de classe D. La ceftazidime-avibactam (CAZ/AVB) constitue une autre nouvelle option thérapeutique. L'avibactam agit comme un inhibiteur à large spectre contre les enzymes (dont certaines carbapénémases) de classe A, C et D et restaure l'activité de la ceftazidime en évitant l'hydrolyse (surtout par l'AmpC) chez *P. aeruginosa*. Alors que les deux associations (CTL/TZB et CAZ/AVB) présentent une bonne activité (taux de sensibilité 60%-70% selon les données du CNR BGNMR) contre des souches *P. aeruginosa* MDR/XDR (non-MBL), elles sont en revanche inactives contre les carbapénémases.

Pour le traitement des *P. aeruginosa* XDR que sont souvent les souches CPPA productrices de MBL et qui résistent à ces nouveaux antibiotiques souvent coûteux ou encore peu disponibles, la colistine (représentant les polymyxines) demeure souvent la seule molécule classique de dernière ligne à considérer. Depuis plusieurs années, les seuils de sensibilité à la colistine ont fait l'objet de discussions aussi bien au sein de l'EUCAST et du CLSI qui ont mis en évidence certaines limites de son utilisation clinique. D'abord le seuil de sensibilité clinique pour *P. aeruginosa* a été remis à ≤ 4 mg/l (=ECOFF) pour éviter de diviser la population sauvage et en reconnaissant la mauvaise reproductibilité du test pour une CMI à 4 mg/l (ATU dans la version EUCAST 2021). Ensuite les données cliniques et de PK/PD ont montré que <50 % des patients ayant une fonction rénale normale obtiennent une exposition adéquate à la colistine (en particulier dans la pneumonie) tout en étant associé à un risque élevé de néphrotoxicité. Enfin, des études cliniques démontrent systématiquement une mortalité accrue pour les polymyxines utilisées en monothérapie par rapport à d'autres agents. Pour ces raisons, la dernière version d'EUCAST 2022 recommande d'utiliser ce seuil à 4 mg/l pour *P. aeruginosa*, mais d'inclure un commentaire dans le rapport: « Dans les infections systémiques, la colistine doit être utilisée en association avec autre agent actif ». La résistance à la colistine de plus haut niveau (CMI >4) chez *P. aeruginosa* reste très rare et apparaît qu'en cas d'exposition préalable à la colistine (le traitement des infections par les souches MDR/XDR, mucoviscidose...) et résulte surtout de la modification du lipopolysaccharide (LPS) suite à des mutations liées aux systèmes de régulation PmrAB et PhoPQ. Nous rappelons de nouveau que la seule méthode recommandée par EUCAST (et CLSI) pour la détermination de la sensibilité à la colistine est la microdilution liquide et que les méthodes de diffusion sont à éviter.

Enfin, le céfidérocol est un nouvel antibiotique prometteur pour le traitement des Gram-négatifs MDR/XDR dont les *P. aeruginosa* MBL. Il s'agit d'une céphalosporine sidérophore avec une stabilité élevée contre les diverses β -lactamases de toutes les

classes d'Ambler, y compris les MBL. De nombreuses études in vitro ont démontré une excellente activité conservée du céfidérocol contre différents Gram-négatifs MDR/XDR difficiles à traiter (*Enterobacterales*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* et *S. maltophilia*). Les dernières études cliniques de phase 3 montrent des données prometteuses avec une non-infériorité (APEKS-NP) aux meilleurs traitements disponibles (MTD), mais une étude (CREDIBLE-CR) a montré une mortalité globale plus élevée avec le céfidérocol par rapport au MTD pour le traitement des infections graves à Gram-négatifs résistantes aux carbapénèmes. La détermination de la CMI au céfidérocol peut se faire par microdilution en bouillon à condition d'utiliser un milieu MH déplété en fer. La méthode de diffusion du disque de céfidérocol sur MH agar standard semble offrir une alternative fiable pour exclure une résistance au céfidérocol.

Le tableau ci-dessous ont été publié dans le rapport global 2022/1.

Tableau 1.4. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Pipéracilline-tazobactame	R	122	1	4	117	3
Ceftazidime	R	121	1	-	120	2
Ceftazidime-avibactam ¹		11	1	-	10	3
Céfépime	R	114	-	-	114	18
Méropénem	R	121	-	-	121	6
Imipénem ²		4	-	-	4	1
Aztréonam	I	82	38	29	15	15
Ciprofloxacine	R	120	-	-	120	2
Lévofloxacine ³		8	-	-	8	-
Gentamicine	*	88	5	3	80	21
Amikacine	R	116	1	-	115	6
Tobramycine ⁴		3	-	-	3	-
Colistine	S	85	83	-	2	31

* Ce résultat attendu est discuté dans le commentaire sur l'enquête.

- ¹ Onze laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftazidime et à la ceftazidime-avibactam.
- ² Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénem et au méropénem.
- ³ Sept laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ciprofloxacine et à la lévofloxacine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la lévofloxacine au lieu de la ciprofloxacine.
- ⁴ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine, à l'amikacine et à la tobramycine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amikacine et à la tobramycine.

***Staphylococcus aureus* M/18480**

Cette souche a été envoyée à cause d'un profil spécifique de résistance: résistant à la clindamcine mais sensible à l'érythromycine. Pour le triméthoprim-sulfaméthoxazole: les différences peuvent être expliquées par l'utilisation de différentes techniques.. Ceci a été discuté dans le rapport global.

Il s'agissait d'une souche de *S. aureus* résistante à l'oxacilline (MRSA) conférée par le gène *mecA*. Si réalisée, la détection de la Pbp2a devait être positive. Les MRSA sont résistants à toutes les bêta-lactamines à l'exception de la ceftaroline et du ceftobiprole qui doivent être testés séparément si nécessaire.

Les résistances associées étaient :

- Une résistance aux aminosides à l'exception de la gentamicine conférée par le gène *aadC*
- Une résistance à la tétracycline et à la minocycline conférée par les gènes *tetM* et *tetK*
- Une résistance à la clindamycine avec une diminution de la sensibilité aux synergistines (quinupristine/dalfopristine intermédiaire, non disponible en Belgique) mais une sensibilité conservée à l'érythromyine (phénotype LS)
- Une résistance aux quinolones qui est la résistance associée la plus fréquente (71.3% des MRSA dans la surveillance hôpitaux belges 2020)

La résistance au sulfaméthoxazole triméthoprim a été surestimée par le Vitek®. C'est un problème connu sur cet automate et aussi décrit pour BD Phoenix™ (Coombs and al. Sulfamethoxazole/trimethoprim resistance overcall by VITEK® 2 and BD Phoenix™ in community-associated MRSA and MSSA, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 74, Issue 12, December 2019, Pages 3639–3641, <https://doi.org/10.1093/jac/dkz361>). En cas de nécessité d'utiliser cet antibiotique, il est recommandé de contrôler la résistance par une méthode alternative telle que la diffusion en disque.

Le tableau ci-dessous avec les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2022/2.

Tableau 1.5. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/18480 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	S/I	S/R	I	R	Pas en routine
Flucloxacilline	R	74	-	-	--	-	74	6
Oxacilline	R	24	-	-	-	-	24	4
Céfoxitine	R	22	-	-	-	-	22	15
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	*	118	39	1	4	8	66	2
Clindamycine	R	121	-	-	-	-	121	2
Vancomycine	S	118	118	-	-	-	-	5
Teicoplanine ¹		4	4	-	-	-	-	1
Linézolide	S	112	110	-	-	-	2	41
Tétracycline	R	114	-	-	-	-	114	12
Doxycycline ²		8	1	-	-	-	7	4
Minocycline ³		11	-	-	-	-	11	2
Tigécycline ⁴		2	2	-	-	-	-	1
Erythromycine	S	121	115	-	-	-	6	4
Ciprofloxacine	R	82	-	-	-	-	82	6
Lévofloxacine	R	24	-	-	-	-	24	3
Moxifloxacine	R	14	-	-	-	-	14	5
Norfloxacine	R	2	-	-	-	-	2	-
Ofloxacine	R	2	-	-	-	-	2	-

* le résultat dépend de la méthode utilisée.

- 2 Quatre laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la vancomycine également la sensibilité à la teicoplanine.
- 3 Six laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la tétracycline également la sensibilité à la doxycycline; 2 laboratoires ont déterminé la sensibilité à la doxycycline au lieu de la tétracycline.
- 4 Sept laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la tétracycline également la sensibilité à la minocycline, 4 laboratoires ont déterminé la sensibilité à la minocycline au lieu de la tétracycline.
- 5 Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la tétracycline également la sensibilité à la tigécycline, un laboratoire a déterminé la sensibilité à la tigécycline au lieu de la tétracycline.

***Pseudomonas aeruginosa* M/18936**

Cet échantillon a été envoyé à fin d'examiner à quel point les laboratoires appliquent les nouvelles directives d'EUCAST (plus particulièrement concernant le rapportage d'un résultat « I »). Certains laboratoires ont mentionné dans le texte libre qu'ils n'ont pas encore effectué le changement, ou que justement ils ont déjà effectué le changement ou que pour certains antibiotiques on utilise toujours des hautes doses dans leur hôpital.

Il s'agit d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* (100% de bonne identification à l'espèce par les laboratoires) avec un profil de sensibilité sauvage (multisensible) qui a été envoyée surtout comme indicateur pour évaluer le taux de passage et d'adhérence à la nouvelle version (à partir de 2020) des recommandations EUCAST. Les résultats attendus (si on interprète selon la nouvelle norme EUCAST) sont sensibles à haute dose (« I » en EUCAST v2022) pour piperacilline-tazobactam, ceftazidime, céfépime, aztréonam, imipénème, ciprofloxacine/lévofloxacine ; sensibles à dose standard (« S » en EUCAST v2022) pour méropénème ; sensibles à dose standard en association avec d'autres antibiotiques (« (S) » en EUCAST v2022) pour amikacine, tobramycine et colistine. Pour rappel la gentamicine est retirée de l'interprétation catégorielle clinique (IE) dans la version actuelle d'EUCAST.

Selon cette enquête, actuellement 96% des 121 laboratoires belges participants utilisent le référentiel EUCAST pour l'interprétation des sensibilités aux antibiotiques. Parmi ces 116 labos utilisant EUCAST, 57% des laboratoires déclarent utiliser les dernières versions (>2019) d'EUCAST. Cette proportion est tout à fait encourageante tenant compte du délai d'implémentation de la nouvelle version EUCAST pour juillet 2022 recommandé par le Comité National d'Antibiogramme (NAC). Néanmoins parmi les utilisateurs des nouvelles versions EUCAST, on observe des réponses « S » pour les antibiotiques avec résultat attendu « I » chez ¼ des labos, même si un labo a précisé qu'un commentaire spécifique est ajouté avec un résultat « S ».

Dans le cadre de l'application de cette nouvelle version des normes EUCAST, nous rappelons l'importance de continuer à utiliser la lettre « I » dans les comptes-rendus de laboratoire et de ne pas la remplacer par d'autres lettres. Cependant, nous encourageons les laboratoires à inclure des commentaires supplémentaires pour l'interprétation des antibiogrammes (sur le changement de définition) sur les comptes-rendus de résultats, certainement utile durant la période de transition après le changement. Nous encourageons également l'utilisation de masquage des résultats « S » d'antibiotiques beta-lactames à très large spectre (tels que méropénème ou ceftazidime-avibactam), lorsque la souche est « I » aux beta-lactames à spectre plus restreint (ceftazidime, céfépime, piperacilline-tazobactam) pour orienter vers un choix thérapeutique plus ciblé. Dans cette enquête, près de ¼ (24%) des laboratoires ont mentionné ne pas répondre le résultat du méropénème, mais il est souhaitable de voir cette proportion augmenter si cette stratégie de rapportage en cascade (masquage) est davantage appliquée.

Nous vous référons vers la note d'information officielle du NAC qui vous a été communiquée (e-mail envoyé par le service Qualité des Laboratoires le 4 mars 2022 à tous les laboratoires belges ; également disponible sur la page du NAC au site web de la SBIMC) et qui fournit les supports et références disponibles à ce sujet.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2022/2.
 Les résultats attendus dans ce tableau sont basés sur les directives EUCAST version 2022.

Tableau 1.6 Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/18936 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Pipéracilline-tazobactam	I	119	70	49	-	5
Ceftazidime	I	121	72	49	-	5
Céfépime	I	115	69	45	1	28
Méropénem	S	119	114	5	-	29
Imipénem ¹		4	2	1	1	1
Aztréonam	I	65	31	33	1	25
Ciprofloxacine	I	118	70	48	-	3
Lévofloxacine	I	54	28	25	1	12
Tobramycine	S	64	63	1	-	17
Amikacine	S	115	114	1	-	9
Gentamicine ²		5	5	-	-	-
Colistine	S	56	54	1	1	34

- ¹ Quatre laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénem également la sensibilité à l'imipénem.
- ² Trois laboratoires ont déterminé sensibilité à la tobramycine, à l'amikacine et à la gentamicine. Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine et à la gentamicine.

***Stenotrophomonas maltophilia* M/19114**

La souche a été envoyée afin de discuter l'intérêt de tester la sensibilité à la triméthoprime-sulfaméthoxazole (elkel était intermédiaire sensible).

Stenotrophomonas maltophilia (SM) est un bacille Gram négatif aérobie non-fermentant du glucose ubiquitaire dans les milieux aquatiques. Généralement peu pathogène comparé aux autres bactéries nosocomiales, il peut survivre sur les surfaces humides de l'environnement et démontre un tropisme pour les cathéters, les drains, les endoscopes, les syphons d'évier et les circuits d'hémodialyse et de ventilation en milieu hospitalier. Sa propension à former des biofilms sur ces surfaces biologiques et inertes confère une protection contre les défenses de l'hôte, le traitement antimicrobien et les mesures de contrôle des infections. Ces caractéristiques lui permettent la colonisation ou l'infection chez les hôtes vulnérables, tels que ceux atteints d'une pathologie pulmonaire sous-jacente (e.g. mucoviscidose) ou d'immunosuppression (e.g. greffe de cellules souches). Les infections à SM posent des défis de gestion similaires à ceux des infections opportunistes par d'autres non-fermentants. D'abord, il est souvent difficile de savoir si SM représente un organisme colonisateur ou un véritable agent pathogène. SM est classiquement un colonisateur sélectionné par antibiothérapie multiple en particulier dans les voies aériennes chez les patients souffrant d'affections pulmonaires sous-jacentes ou de la dépendance au ventilateur. SM est souvent cultivé au sein d'une flore polymicrobienne, ce qui complique davantage l'interprétation de la signification et de la nécessité d'un traitement ciblé contre SM. Les facteurs de risque au développement d'une vraie infection à SM (en général chez un patient avec une comorbidité importante) comprennent les procédures invasives comme la chirurgie ou la ventilation et l'utilisation d'antibiotiques de très large spectre, tels que les carbapénèmes. Ces mêmes conditions constituent également les facteurs de risque de mortalité accrue surtout en cas de bactériémie chez un patient immunodéprimé.

SM possède intrinsèquement et peut acquérir un nombre impressionnant de mécanismes de résistance aux antimicrobiens. Une métallo- β -lactamase L1 et une sérine β -lactamase L2 chromosomiques rendent la plupart des β -lactames conventionnels inefficaces contre SM. L1 hydrolyse les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes, mais pas l'aztréonam, alors que L2 a une activité céphalosporinase inductible étendue avec la capacité d'hydrolyser l'aztréonam. SM possède une résistance intrinsèque aux aminoglycosides via les enzymes modifiant par acétyl-transférase. De plus, SM peut accumuler des pompes à efflux multidrogues qui réduisent l'activité des tétracyclines, aminoglycosides et fluoroquinolones. De plus, SM peut acquérir divers gènes de résistance, notamment les gènes *sul* et *dfrA* conférant la résistance au SXT et la formation de biofilms réduit l'efficacité antimicrobienne.

L'antibiothérapie anti-SM est compliquée. Le SXT dont l'activité clinique est la mieux documentée, constitue le premier choix, mais nécessite une posologie élevée. La résistance au SXT (SXT-R) chez SM reste relativement rare (<10%) et est classiquement rencontrée chez un patient récemment exposé au SXT. Cependant, chez les patients pour lesquels le SXT ne peut être utilisé en raison d'une SXT-R de l'isolat ou plus fréquemment, d'une intolérance aux sulfamides du patient, le choix du traitement est problématique. Les antimicrobiens utilisés souvent en combinaisons comprennent historiquement la ticarcilline-acide clavulanique, les fluoroquinolones (la lévofloxacine étant la plus active), la minocycline, la tigécycline, la colistine, le chloramphénicol et les céphalosporines.

Les tests de sensibilité aux antibiotiques (AST) de SM sont difficiles car peu robustes et fortement influencés par les conditions techniques (milieu de culture, température d'incubation et méthodes utilisées). Cette variabilité est illustrée par le testing des

aminoglycosides dont la résistance naturelle n'est parfois observée in vitro qu'après incubation de longue durée (>48h) et à plus basse température (<30°C). Alors que le SXT est le seul agent avec des seuils limites de sensible à haute dose (I) définis par la version actuelle d'EUCAST (MIC ≤ 4 mg/L ou DD ≥16 mm), CLSI a établi des critères d'interprétation pour 7 agents anti-SM : SXT, ticarcilline-acide clavulanique, ceftazidime, lévofloxacine, minocycline, chloramphénicol et (plus récemment) le céfidérocol. La fabrication de ticarcilline-clavulanate a été interrompue et le chloramphénicol est rarement utilisé en raison de sa toxicité. Deux études d'une même équipe ont montré une performance et une reproductibilité assez modérées des méthodes AST de routine à la ceftazidime, à la lévofloxacine et à la tigécycline avec des taux de concordances catégorielles (CA) <90% que ce soient des méthodes de diffusion des disques/bandelettes de gradient ou des automates. Seules les méthodes AST du SXT et de la minocycline (par diffusion) donnent des résultats fiables et reproductibles en comparaison avec la méthode de référence de microdilution en bouillon. En dehors du SXT, l'interprétation de ces seuils critiques reste limitée aussi par le manque de données pharmacocinétiques-pharmacodynamiques et de données de corrélation entre la sensibilité in vitro et l'efficacité clinique.

Concernant les polymyxines, il n'y a pas de critères d'interprétation ni par CLSI ni par EUCAST pour les méthodes AST très peu fiables en raison surtout d'une hétérorésistance (inhibition partielle de la croissance) de SM fréquemment observée. Les polymyxines ne sont d'ailleurs plus recommandées pour le traitement des infections à SM.

Parmi les nouveaux antibiotiques récemment disponibles, la combinaison de la ceftazidime-avibactam (stable contre la β-lactamase L2) avec l'aztréonam (stable contre la métallo-β-lactamase L1) permet de contourner cette résistance enzymatique aux β-lactamines. Cette activité synergique bien démontrée in vitro a aussi atteint un succès clinique dans des petites séries de cas rapportés. Cette association est actuellement une alternative thérapeutique raisonnable en cas d'utilisation exclue du SXT. Le céfidérocol (cfr commentaire sur la souche M18740 de EEQ 2022/1) est un autre nouvel antibiotique prometteur pour le traitement d'infections à Gram-négatifs multirésistants dont SM. Les premières études de surveillance indiquent une activité de près de 100% sur les souches de SM, y compris celles qui sont résistantes aux autres anti-SM classiques. Dans le seul essai clinique randomisé évaluant le céfidérocol dans les infections résistantes aux carbapénèmes, sur les cinq patients atteints d'infections à SM et qui sont tous affectés au bras trité au céfidérocol, quatre sont décédés. Ces données cliniques limitées actuelles ont amené l'IDSA à recommander son utilisation en association avec un autre antibiotique actif pour le traitement d'infection sévère.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2022/3.

Tableau 1.7.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/19114 (*Stenotrophomonas maltophilia*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	I	119	31	83	5	1

Staphylococcus aureus M/19269

La souche était porteuse de la toxine PVL (Leucocidine de Panton-Valentin).

A la question de savoir si le laboratoire détecte la Leucocidine de Panton-Valentine (LPV) 118 laboratoires ont répondu non et 6 laboratoires oui.

Quatorze laboratoires ont indiqué que la détection de la LPV (par un autre laboratoire (de référence)) est nécessaire.

La leucocidine de Panton-Valentine (PVL) est une exotoxine cytotoxique responsable d'une destruction des leucocytes ainsi qu'une nécrose tissulaire. Son implication peut être suspectée dans des infections à *S. aureus* telles que : infections sévères ou compliquées (nécrose cutanée ou sous-cutanée, abcès profonds, thrombophlébite suppurée, choc septique), les pneumonies nécrosantes ainsi que les infections ostéo-articulaires sévères (fièvre importante, lésions douloureuses, sepsis associé). Bien qu'il y ait eu en Europe la diffusion du clone USA300 de *S. aureus* porteur de PVL et résistant à la méthicilline (MRSA), celui-ci reste peu fréquent, et la suspicion de PVL ne doit pas être limitée aux seuls MRSA.

En cas d'infection sévère avec suspicion de *S. aureus* porteur de PVL, il est discuté d'associer un traitement à visée anti-toxinique qui inhibe la production de PVL même à des CMI faibles au site de l'infection (du fait de la nécrose fréquente limitant la diffusion antibiotique au site de l'infection) en plus de l'éradication du *S. aureus*. Les traitements ayant prouvé leur efficacité *in vitro* étant la clindamycine, le linézolide et la rifampicine y compris en association avec des bêtalactamines ou la vancomycine. La détection des souches productrices de PVL repose actuellement sur la détection par biologie moléculaire. Celle-ci est effectuée en routine par le CNR des *Staphylococcus* 1 fois par semaine (délai de réponse < 7 jours) dans le cadre des activités prises en charge par le budget des CNR. Néanmoins, en cas de suspicion forte, il est préférable de recourir à un traitement anti-toxinique avant même la confirmation du portage de PVL.

Le tableau suivant reprenant les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2022/3.

Tableau 1.8.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/19269 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Oxacilline	R	108	-	-	108	2
Céfoxitine	R	101	-	-	101	57 ¹
Erythromycine	R	120	-	-	120	7
Ciprofloxacine	I	110	31	79	-	13
Lévofloxacine ²		7	1	6	-	3
Moxifloxacine ²		3	3	-	-	1
Norfloxacine ²		1	1	-	-	1
Clindamycine	S	118	118	-	-	4
Gentamicine	S	110	108	-	2	25
Amikacine ³		3	1	-	2	1
Kanamycine ³		1	-	-	1	-
Tobramycine ³		3	2	-	1	1
Vancomycine	S	114	114	-	-	6
Teiplanine ⁴		7	7	-	-	2

- ¹ Un grand nombre des laboratoires qui ne rapportent pas la céfoxitine en routine ont mentionné qu'ils utilisent la céfoxitine comme marqueur pour l'oxacilline.
- ² Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la lévofloxacine en plus de la sensibilité à la ciprofloxacine. Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la moxifloxacine en plus de la sensibilité à la ciprofloxacine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la Lévofloxacine et à la moxifloxacine au lieu de la ciprofloxacine. Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la lévofloxacine au lieu de la ciprofloxacine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la norfloxacine au lieu de la ciprofloxacine.
- ³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine et à la tobramycine en plus de la sensibilité à la gentamicine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la kanamycine et à la tobramycine en plus de la sensibilité à la gentamicine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amikacine en plus de la sensibilité à la gentamicine.
- ⁴ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la teicoplanine en plus de la sensibilité à la vancomycine

Kingella kingae M/19310

La souche a été envoyée afin de savoir dans quelle mesure les laboratoires effectuent un antibiogramme pour la *Kingella*.

Vous pouvez trouver une discussion approfondie dans le rapport global de l'enquête 2022/3.

Le tableau suivant reprenant les résultats de l'enquête a été publié dans le rapport global 2022/3.

Tableau 1.9.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/19310 (*Kingella kingae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Pénicilline	S	103	73	-	30	4
Amoxicilline ¹		3	3	-	-	-
Ampicilline ¹		1	-	-	1	-
Amoxicilline-acide clavulanique		1	1	-	-	-
Céfotaxime	S	75	74	-	1	9
Ceftriaxone	S	60	58	-	2	3
Ceftazidime ²		2	2	-	-	-
Ciprofloxacine	S	97	96	-	1	5
Lévofloxacine ³		8	8	-	-	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	S	97	95	-	2	5
Méropénem	S	84	80	-	4	29

¹ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amoxicilline et à l'amoxicilline-acide clavulanique en plus de la sensibilité à la pénicilline Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amoxicilline en plus de la sensibilité à la pénicilline Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amoxicilline et à l'ampicilline au lieu de la pénicilline.

² Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftazidime au lieu de la céfotaxime et de la ceftriaxone.

³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la lévofloxacine en plus de la sensibilité à la ciprofloxacine. Six laboratoires ont déterminé la sensibilité à la lévofloxacine au lieu de la ciprofloxacine.

II. Parasitologie

Trois enquêtes ont été organisées dans le domaine de la parasitologie en 2022.

Enquête 1

Deux suspensions de selles formolées, P/ P/18272 et P/18846, ont été envoyés.

115 laboratoires (tous les laboratoires inscrits) ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/18272 contenait des kystes d'*Entamoeba histolytica/dispar* d'*Entamoeba histolytica/dispar* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 84 (73.0%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 82 (97.6%) d'entre eux. 14 laboratoires (12.2%) ont répondu *E. histolytica*; tous ont mentionné les kystes comme stade d'évolution. Deux laboratoires ont répondu *E. dispar*; un des deux a mentionné les kystes comme stade d'évolution.

L'échantillon P/18846 contenait des œufs d'*Hymenolepis nana*. d'*Hymenolepis nana* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 109 (94.8%) laboratoires. Les œufs ont été retrouvés par 102 (93.6%) d'entre eux.

Cet échantillon a déjà été envoyé dans EEQ 2017/3 (sous le numéro P/15347) et 2014/3 (sous le numéro P/10183).

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus lors de ces 3 enquêtes.

Tableau 2.1. Comparaison des résultats obtenus pour les échantillons P/10183 (2014/3), P/15347 (2017/3) et P/18846 (2022/1).

P/10183 (2014/3): *H. nana*
96.1%

P/15347 (2017/3): *H. nana*
97.8%

P/18846 (2022/1) *H. nana*
94.0%

Le commentaire sur l'enquête a discuté des différentes espèces dans le genre *Entamoeba* (d'un côté le complexe *E. histolytica/E. dispar*, et de l'autre côté les autres espèces d'amibes intestinales non pathogènes) et comment faire la distinction (nous référons au rapport global de l'enquête). Le commentaire a également discuté comment faire la distinction entre l'*E. histolytica* pathogène et l'*E. dispar* nonpathogène : quand on ne retrouve que des kystes, une différenciation approfondie (qui est nécessaire pour juger de la puissance pathogène) ne peut être effectuée de façon fiable à l'aide de la biologie moléculaire. Pour la différenciation moléculaire on utilise idéalement les selles fraîches, non-fixées. Les cas confirmés d'une amibiase invasive sont de préférence traités avec le nitro-imidazole, suivi par un traitement (luminal) avec la paromomycine. En cas d'une amibiase non-invasive un traitement avec uniquement paromomycine suffit en première ligne.

Enquête 2

A l'occasion de cette enquête 1 échantillon de selles (P/19079) et 1 échantillon de papier collant (P/18786) ont été envoyés. Ce dernier était envoyé à des fins didactiques et ne tombe pas sous l'accréditation BELAC.

115 laboratoires (tous les labos inscrits) ont introduit leurs résultats. Cependant pour l'échantillon P/19079 seuls 114 laboratoires ont introduit leurs résultats.

L'échantillon P/18786 contenait des œufs de *Taenia* species

Taenia species a été répondu par 97 (84.3%) laboratoires. Les œufs ont été mentionnés par 94 (96.9%) d'entre eux. Quatre laboratoires ont répondu *Taenia saginata*, et un laboratoire *Enterobius vermiculatis*. deux laboratoires ont mentionné qu'ils enverraient l'échantillon au centre de référence pour faire le diagnostic différentiel entre *Taenia* species et spores végétales/pollen. 11 laboratoires ont répondu « absence de parasites ».

L'échantillon P/19079 contenait des œufs de *Trichuris trichiura*.
Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'EEQ 2016/2 sous le numéro P/13937.

Trichuris trichiura a été répondu par 102 (89.5%) laboratoires. Les œufs ont été mentionnés par 100 (98.0%) de ces laboratoires. 10 laboratoires ont répondu « absence de parasites ». Ceci est probablement dû au fait que les œufs n'étaient présents que dans une faible concentration. En comparaison avec 2016 nous constatons cependant une nette amélioration: si en 2016 15.3% des laboratoires ont répondu « absence », "il ne s'agit que de 8.90% en 2022

Le commentaire de l'enquête a discuté le principe du test de papier collant. La particularité de cet échantillon était qu'il s'agissait d'un échantillon de papier collant (cellophane) dans lequel les œufs de *Taenia* étaient présents. Un échantillon de papier collant est souvent utilisé pour la recherche d'*Enterobius vermicularis* étant donné qu'il est plus sensible que l'examen de selles. Les œufs de *Taenia* peuvent être présents comme découverte accidentelle. D'habitude il s'agit d'œufs de *Taenia saginata*, même si ceci ne peut pas être confirmé sur base de la morphologie. Les proglottis gravides peuvent se déplacer spontanément via le sphincter anal et en même temps excréter des œufs dans la région péri-anales. C'est beaucoup moins souvent le cas chez *Taenia solium*.

Il est toujours important de faire les préparations d'une manière correcte. Il faut utiliser un papier collant transparent où on applique le côté adhésif sur la peau péri-anales. Ceci peut se faire en enveloppant le papier collant autour d'un tube ou d'une spatule en bois. Le meilleur moment pour le faire est le matin avant de se laver et avant une défécation (surtout pour l'*Enterobius*, moins important pour la *Taenia*). Après le papier collant est collé sur une lame porte objet et examiné avec un grossissement de 10 x 10. Il est conseillé de mettre un peu de liquide préférentiellement (sur base d'expérience personnelle) de l'eau physiologique ou du toluol/xylol, sinon de l'huile d'immersion. Il faut garder à sec les extrémités du papier collant de façon qu'il puisse encore coller à la lame.

Enquête 3

Deux frottis sanguins, P/18990 et P/19413, ont été envoyés.

139 laboratoires (sur 141 inscrits, soit 98.6%) ont participé à l'enquête. Cependant pour l'échantillon P/19413 seulement 136 ont introduit un résultat.

L'échantillon P/18990 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium malariae*. Dans un certain nombre d'échantillons on pouvait également retrouver des schizontes et des gamétocytes

Plasmodium malariae (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 92 (66.2%) laboratoires. 89 (96.7%) d'entre eux ont mentionné la présence de trophozoïtes, 62 (67.4%) la présence schizontes et 19 (20.7%) la présence de gamétocytes.

35 laboratoires (25.2%) ont mentionné la présence de *Plasmodium non-falciparum* 34 (97.1%) d'entre eux ont mentionné la présence de trophozoïtes, 22 (62.9%) la présence schizontes et 9 (25.7%) la présence de gamétocytes.

L'échantillon P/19413 était négatif et ne contenait donc pas de parasites.

134 (98.5%) laboratoires ont répondu « absence de parasites ».

Les caractéristiques morphologiques principales de *P. malariae* sont les trophozoïtes avec un cytoplasme compact et la présence d'une pigment brun foncé. La caractéristique typique de *P. malariae* est la forme en bande large des trophozoïtes plus anciens, mais ceux-ci sont plutôt rares. Les globules rouges infectés sont normaux ou de petites tailles. *P. malariae* a une préférence pour infecter les globules mûrs/plus anciens (McKenzie F.E, et al. J. Parasol, 2002). Il n'y a pas de présence de taches de Maurer (*P. falciparum*) ou graines de Schuffner (*P. vivax/P. ovale*) dans les cellules.

Moins de la moitié des laboratoires (44.0%) a vu des schizontes dans cet échantillon et seuls 13.5% ont rapporté les gamétocytes. Un schizonte est composé de 6 à 12 merozoïtes (d'habitude 8), où une forme de rosette est une caractéristique typique de *P. malariae*. Dans le schizonte le pigment brun foncé se trouve souvent au centre. Les gamétocytes ont une forme compacte et sont parfois difficiles à différentier des trophozoïtes plus anciens. Les gamétocytes remplissent le globule rouge entièrement et le gros pigment brun est dispersé dans le gamétocyte. La chromatine peut être très bien délimitée (surtout chez les macro gamétocytes) ou plus diffuse (microgamétocytes).

III. Sérologie infectieuse

En 2022, les paramètres sérologiques pour la syphilis, la borréliose, le CMV, l'EBV, la toxoplasmose, l'hépatite A et le VIH ont été évalués. Le nombre de participants dépendait du paramètre.

En plus 2 enquêtes pour la sérologie de la COVID-19 ont été organisées (paramètre non réalisé dans le cadre de l'accréditation).

La syphilis

Deux échantillons lyophilisés IS/18099 et IS/18095 étaient proposées pour la détermination des anticorps anti-syphilis. Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/18099: Un homme de 35 ans consulte son nouveau généraliste avec la demande d'un dépistage pour MST suite à un contact à haut risque un mois avant. Même s'il n'a pas de symptômes, il se fait quand-même du souci.

IS/18095: Un an après ce même homme consulte son généraliste pour un bouton à la bouche.

L'EEQ était accompagné d'un questionnaire concernant les algorithmes et troussees utilisés par les laboratoires.

Les résultats attendus étaient :

IS/18099:

Tests tréponémiques: positifs

Tests non tréponémiques: négatifs

Interprétation: Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique.

IS/18095:

Tests tréponémiques: positifs

Tests non tréponémiques: positifs

Interprétation: Présence d'anticorps suggestive d'une réinfection. Il est conseillé d'effectuer un traitement.

128 laboratoires (sur 129 laboratoires inscrits ou 99.2%) ont introduit leurs résultats.

Sur l'échantillon IS/18099 les laboratoires ont effectué 287 tests, à savoir 181 tests tréponémiques (TT) (169 Ac. Totaux, 8 IgG et 4 IgM) et 106 tests non-tréponémiques (TNT).

19 laboratoires ont effectué 1 test, 66 laboratoires ont effectué 2 tests, 38 laboratoires ont effectué 3 tests, 3 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

Sur l'échantillon IS/18095 les laboratoires ont effectué 287 tests, à savoir 181 tests tréponémiques (169 Ac. Totaux, 8 IgG et 4 IgM) et 106 tests non-tréponémiques.

19 laboratoires ont effectué 1 test, 67 laboratoires ont effectué 2 tests, 36 laboratoires ont effectué 3 tests, 4 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

Les tableaux suivants donnent un aperçu des types de tests qui ont été utilisés:

Tableau 3.1. Aperçu global des types et des combinaisons de tests utilisés (nombre de laboratoires).

Nombre de tests	Type test	IS/18099	IS/18095
1 test exécuté	1 x tréponémique	19	19
2 tests exécutés	1 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	63	64
	2 x tréponémique	3	3
3 tests exécutés	2 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	38	36
4 tests exécutés	3 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	3	4
5 tests exécutés	4 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	2	2
Total		128	128

Tableau 3.2. Résumé des types et des combinaisons de tests utilisés (nombre de laboratoires).

Type test	IS/18099	IS/18095
Un test: tréponémique	19	19
Combinaison de méthodes tréponémiques + non-tréponémiques	106	106
Combinaison de méthodes tréponémiques seulement	3	3
Total	128	128

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Tests non-tréponémiques: RPR Carbon (Spinreact) (20.8% les 2 échantillons), Macro-Vue RPR Card Test (Becton Dickinson) (17.9%, les 2 échantillons), Carbogen (RPR Card Test) (Tulip Diagnostics) (13.2%, les 2 échantillons) et RPR100 (BioRad) (11.3%, les 2 échantillons)
- Tests tréponémiques: Serodia TPPA (Fujirebio) (20.4% et 19.9%), Liaison Treponema Screen (DiaSorin) (16.6%, les 2 échantillons), Elecsys syphilis (Roche) (13.8%, les 2 échantillons) et Architect Syphilis TP (Abbott) (9.9%, les 2 échantillons)

Résultats analytiques pour l'échantillon IS/18099

- Tests non-tréponémiques: 103 (97.2%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 2 un résultat positif et 1 un résultat borderline
- Tests tréponémiques, anticorps « totaux »: 127 (99.2%) laboratoires ont obtenu un résultat positif et 1 un résultat négatif.
- Tests tréponémiques, IgG: 6 laboratoires ont obtenu un résultat positif et 2 un résultat borderline
- Tests tréponémiques, IgM: 3 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 1 un résultat borderline

Interprétations pour l'échantillon IS/18099:

- 87 (66.7%) laboratoires: Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique.

- 15 (11.9%) laboratoires: Présence d'anticorps compatible avec une infection très précoce de 1 à 3 semaines avant. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique.
- 16 (12.7%) laboratoires ont mentionné que les anticorps étaient positifs et ont donné leur propre interprétation basé sur ce résultat
- 10 (7.9%) laboratoires ont mentionné qu'ils ne recherchent que les anticorps tréponémiques et qu'ils ne peuvent donc pas donner d'interprétation
- 1 laboratoire: Absence d'anticorps

Résultats analytiques pour l'échantillon IS/18095

- Tests non-tréponémiques: 104 (98.1%) laboratoires ont obtenu un résultat positif, 2 un résultat négatif
- Tests tréponémiques, anticorps « totaux »: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.
- Tests tréponémiques, IgG: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif
- Tests tréponémiques, IgM: 1 laboratoire a obtenu un résultat négatif, 1 a obtenu un résultat positif et 2 ont obtenu un résultat borderline

Interprétations pour l'échantillon IS/18095:

- 79 (62.7%) laboratoires: Présence d'anticorps suggestive d'une réinfection. Il est conseillé d'effectuer un traitement.
- 19 (15.1%) laboratoires: Présence d'anticorps suggestive d'une infection primaire. Il est conseillé d'effectuer un traitement
- 18 (14.3%) laboratoires ont mentionné que les anticorps étaient positifs et ont donné leur propre interprétation basé sur ce résultat
- 10 (7.9%) laboratoires ont mentionné qu'ils ne recherchent que les anticorps tréponémiques et qu'ils ne peuvent donc pas donner d'interprétation

Les deux échantillons étaient originaires du même patient. Au moment du prélèvement de l'échantillon IS/18099 le patient n'avait pas de symptômes mais il avait eu un contact à haut risque un mois auparavant. Les anticorps tréponémiques (TT) étaient positifs avec des titres/ratios relativement élevés. Les anticorps non tréponémiques (TNT) étaient négatifs. Ceci est compatible avec une sérologie témoignant d'une ancienne infection. Théoriquement la durée d'incubation d'une infection syphilitique est de 21 jours et peut atteindre 90 jours. Une réinfection ne peut donc pas encore être exclue avec certitude. Pour l'échantillon IS/18095 aussi bien les TT que les TNT ont été répondus comme positifs par presque tous les laboratoires. Le patient avait un bouton à la bouche. Le résultat sérologique est compatible avec une réinfection (étant donné qu'il a déjà des antécédents) ou le stade primaire d'une infection par syphilis. Ces 2 réponses ont été considérés comme correctes. Aussi bien le titre des TT que celui des TNT avaient augmenté dans cet échantillon de suivi. Ceci en combinaison avec les symptômes indique qu'il ne peut pas s'agir d'un stade tardif, d'une syphilis ancienne ou d'une syphilis traitée.

De nouveau nous remarquons de grandes différences dans les titres des TNT et nous référons au commentaire de l'enquête 2018/2. Il est toujours conseillé d'analyser les échantillons de suivi dans un même « run » afin de permettre une interprétation correcte.

Algorithmes utilisés pour le diagnostic de la syphilis

Mondialement on utilise algorithmes différents pour le diagnostic de la syphilis (1,2). On peut distinguer 3 algorithmes qui ont chacun leurs avantages et leurs désavantages:

- L'algorithme traditionnel: on commence avec la détermination des TNT, de préférence quantitatif pour repérer un effet prozone. Ceci peut être utile dans une situation à haute prévalence étant donné que la plupart des personnes sont déjà

positifs pour les TT et que les TNT sont nécessaires pour déterminer l'activité de la maladie. Cependant les TNT ont une sensibilité plus basse que les TT, surtout en cas d'une détection très précoce de la syphilis. Les TNT positifs doivent toujours être suivis par une détermination des TT sur le même échantillon.

- L'algorithme inversé: on commence par les TT. Ceci est souvent utilisé dans les laboratoires plus grands qui utilisent une EIA/ELISA/CLIA automatisée qui permet une plus grande capacité. Dans une situation à basse prévalence l'utilisation des TT comme test de dépistage peut cependant donner un nombre élevé de résultats faux positifs. Quand il y a une discordance entre les TT automatisés et les TNT (résultat négatif), le résultat initial des TT doit être confirmé par une deuxième détermination des TT. On peut laisser dépendre l'utilisation d'une deuxième détermination des TT des symptômes du patient, des antécédents, du ratio des premiers TT (les faux positifs ont souvent des ratios plus bas).
- L'algorithme avec TT et TNT combinés: les 2 tests sont toujours effectués. Ceci est surtout utile dans les situations dans lesquelles une syphilis précoce arrive fréquemment (chancre, population à haute risque, ...). Dans certains cas les TNT deviennent réactifs plus tôt que les TT.

Le questionnaire envoyé aux laboratoires belges montre qu'aucun laboratoire n'utilise l'algorithme traditionnel et commence par les TNT. Environ la moitié des laboratoires utilisent un algorithme inversé complet. 10% supplémentaires utilisent également l'algorithme inversé mais ne le confirment pas par un 2^e TT en cas de discordance entre le 1^e TT et les TNT. Environ 15% effectuent toujours une détermination des TT et TNT et 23% effectuent ce que le médecin a demandé. Dans ces 3 derniers groupes le risque existe qu'une combinaison de TT positifs et TNT négatifs puisse-t-être faussement positive, surtout dans une situation de basse prévalence. Ceci a des conséquences inutiles en ce qui concerne le traitement et le suivi du patient. **Dans ce cas, une deuxième détermination des TT pour confirmation est nécessaire.** Les ratios faibles, faux positifs, des TT initiaux peuvent rester présents dans un échantillon de suivi, donc un échantillon de suivi ne donne pas de solution.

Quand deux TT sont utilisés dans l'algorithme il est également conseillé de commencer par le test le plus sensible et le moins spécifique, par exemple une EIA/CLIA/ELISA automatisée. Ces essais comprennent souvent un ou plusieurs antigènes recombinants (p. ex. Tp15, Tp17, Tp47) qui sont très sensibles. Certains de ces antigènes peuvent cependant montrer des réactions croisées (3). Comme deuxième test (de confirmation), il est conseillé d'utiliser des tests plus spécifiques comme le *Treponema pallidum* Particle Agglutination test (TPPA) ou le *Treponema pallidum* Haemagglutination test (TPHA) (1). Il est déconseillé d'effectuer la confirmation par un test rapide ou par un test automatisé avec une spécificité semblable ou inférieure.

Tous les médecins ne sont toujours bien informés sur la valeur prédictive positive et négative et sur l'interprétation des résultats discordants TT/TNT. **Il est absolument nécessaire que le laboratoire fournisse toujours une interprétation au médecin.**

La borreliose

2 échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la borreliose : S/5664 et IS/18777. Pour ce dernier numéro les laboratoires avec des numéros d'agrément pairs et impairs ont reçu des échantillons différents. Les laboratoires pairs ont reçu u échantillon qui a déjà été envoyé dans l'EEQ 2009/2 sous le numéro S/1196: les laboratoires pairs ont reçu u échantillon qui a déjà été envoyé dans l'EEQ 2018/1 sous le numéro S/7124.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

Echantillon S/5664

Un groupe de scouts participe en été à un camp dans les Ardennes. Deux semaines après leur retour, un participant de 14 ans se plaint de démangeaisons à la partie inférieure de la jambe. Etant donné la participation au camp scouts, le généraliste décide de faire une prise de sang pour rechercher des anticorps anti-Borrelia.

Echantillon IS/18777

Une semaine après un autre participant au même camp remarque une tache rouge à la jambe. On procède également chez lui à une prise de sang.

Les résultats attendus étaient :

S/5664:

IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent

IS/18777, labos pairs:

IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent

IS/18777, labos impairs:

IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé

113 laboratoires (tous les laboratoires inscrits) ont introduit leurs résultats..

Ils ont effectué 234 tests sur l'échantillon S/5664. Les 72 laboratoires pairs ont effectué 151 tests sur l'échantillon IS/18777 et les 41 laboratoires impairs tests pairs ont effectué 86 tests.

Pour l'échantillon S/5664, 5 laboratoires ont effectué 1 test, 101 laboratoires ont effectué 2 tests, 1 laboratoire a effectué 3 tests et 6 laboratoires 4 tests.

Pour l'échantillon IS/18777, 2 laboratoires pairs ont effectué 1 test, 65 laboratoires ont effectué 2 tests, 1 laboratoire a effectué 3 tests et 4 laboratoires 4 tests.

Pour l'échantillon IS/18777, 3 laboratoires impairs ont effectué 1 test, 34 laboratoires ont effectué 2 tests, 2 laboratoires ont effectué 3 tests 1 laboratoire 4 tests et 1 laboratoire 5 tests.

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

Tableau 3. Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour la détermination des anticorps anti-Borrelia de l'enquête 2022/1.

Nombre de tests	Type de trousse	Type de technique	S/5664	IS/18777, labo pairs	IS/18777, labos impairs
1 test	Ac. tot	non blot	5	2	3
2 tests	IgG et IgM	non blot - non blot	100	65	33
		blot – blot	1	-	1
3 tests	Ac. tot. et IgG et IgM	non blot – blot – blot	1	1	-
	2 x IgG et IgM	non blot – non blot - non blot	-	-	2
4 tests	2 x IgG et 2 x IgM	non blot – non blot – non blot – non blot	1	-	-
		non blot – blot – non blot – blot	5	4	1
5 tests	2 x IgG et 2 x IgM	non blot – non blot –blot - non blot – non blot	-	-	1
Total			113	72	41

Remarque: le laboratoire qui déterminé les tests IgG blot et IgM blot, a mentionné dans une remarque « Ce blot serait exécuté en cas IgG ou IgM positif en screening dans notre laboratoire associé. Le screening ne se fait donc pas dans notre laboratoire »

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps totaux: Borrelia Lyme Screen ELISA (IgGM (Euroimmun) (66.7% pour les 3 échantillons)
- IgG, non-blot: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (55.1% (S/5664), 52.2% (labos pairs) et 57.5% (labos impairs)) et VIDAS Lyme IgG (bioMérieux) (29.0% (S/5664), 29.0% (labos pairs) et 32.5% (labos impairs))
- IgM, non-blot:: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (51.4% (S/5664), 49.3% (labos pairs) et 55.3% (labos impairs)) et VIDAS Lyme (IgM) (bioMérieux) (28.0% (S/5664), 29.0% (labos pairs) et 26.3% (labos impairs))

Résultats analytiques pour l'échantillon S/5664

- anticorps totaux: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif
- IgG: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendamment de la nature de la technique (blot ou non blot)
- IgM: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendamment de la nature de la technique (blot ou non blot)

Interprétations pour l'échantillon S/5664

- 82 (72.6%) laboratoires: Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.
- 30 (26.5%) laboratoires: Sérologie anti-Borrelia négative
- 1 laboratoire: Le résultat sérologique n'est pas concluant, en cas de suspicion clinique le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé

Résultats analytiques pour l'échantillon IS/18777, labos pairs

- anticorps totaux: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif

- IgG: pour les déterminations non-blot 68 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 1 laboratoire un résultat positif; pour les déterminations blot tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif
- IgM: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendamment de la nature de la technique (blot ou non blot)

Interprétations pour l'échantillon IS/18777, labos pairs

- 54 (75.0%) laboratoires: Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.
- 15 (20.8%) laboratoires: Sérologie anti-Borrelia négative
- 2 laboratoires: Le résultat sérologique n'est pas concluant, en cas de suspicion clinique le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé
- 1 laboratoire: Le résultat sérologique indique une infection récente, cohérent avec les informations cliniques

Résultats analytiques pour l'échantillon IS/18777, labos impairs

- anticorps totaux: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif
- IgG: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif, indépendamment de la nature de la technique (blot ou non blot)
- IgM: les résultats des déterminations blot étaient toutes négatives; de les résultats des déterminations non-blot: 27 négatifs, 9 positifs et 1 borderline. Tous les résultats « non-négatifs » ont été obtenu avec la trousse VIDAS Lyme IgM.

Après prise de contact la firme nous a donné l'explication suivante:

- Hypothesis for this sample is a non-specific binding Specificity is < 100%
Moreover as reminder on the package insert:
 - Antibody detection methods do not provide definitive results for establishing or ruling out diagnosis of Lyme Borreliosis.
 - Positive results with the VIDAS® Lyme IgG and IgM assays must be interpreted with caution. Cross-reactivity may be observed with certain diseases (13, 14): refer to section "Cross-reactivity".
 - Clinical symptoms, epidemiological information and other laboratory test results must all be considered when interpreting VIDAS® Lyme IgM and IgG assay results.
 - Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components or substances that affect the reaction. 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.

Interprétations pour l'échantillon IS/18777, labos impairs

- 17 (14.5%) laboratoires: Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé.
- 4 (9.8%) laboratoires ont donné leur propre variant à l'interprétation mentionnée ci-dessus
- 15 (36.6%) laboratoires: Le résultat sérologique indique une infection récente, cohérent avec les informations cliniques
- 2 laboratoires ont donné leur propre variant à l'interprétation mentionnée ci-dessus

- 2 laboratoires ont mentionné la nécessité d'une détermination blot
- 1 laboratoire: Le résultat sérologique n'est pas concluant, en cas de suspicion clinique le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé.

L'échantillon S/5664 a été trouvé négatif par tous les participants aussi bien pour les IgG que pour les IgM. Il y avait cependant une variation dans l'interprétation, pour laquelle 73% des laboratoires ont donné le commentaire attendu « *Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.* ». 27% des laboratoires ont répondu « *Sérologie anti-Borrelia négative* ». Après une explication détaillée d'un participant, nous avons décidé d'accepter les 2 réponses. L'information clinique n'était pas spécifique pour une infection par *Borrelia* (uniquement démangeaisons), d'où la suggestion d'un échantillon de suivi en cas de situation clinique inchangée n'est pas souhaitable.

L'échantillon IS/18777 laboratoires pairs. Tous les participants (sauf 1) ont obtenu un résultat négatif pour les IgM et les IgG. La majorité a choisi le commentaire « *Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.* » (75%), suivi par « *Sérologie anti-Borrelia négative* » (21%). 2 laboratoires ont indiqué que le résultat sérologique est indécis (même si les tests étaient négatifs), et le laboratoire qui a obtenu un résultat positif pour les IgG a répondu que ceci indique une infection récente. On peut faire beaucoup de remarques. Tout d'abord: le fait de trouver des IgG spécifiques anti-*Borrelia* n'est pas indicatif d'une infection récente. Etant donné que l'érythème migrant (EM) se présente très précoce au cours d'une infection, il n'y a souvent pas encore de réponse immunitaire. Un EM typique est un diagnostic clinique (et non sérologique) qui devrait mener à un traitement. Par conséquent on peut discuter du message « *Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.* »: après le traitement un suivi sérologique n'a également pas de sens. Pour cet échantillon nous acceptons également le commentaire « *Sérologie anti-Borrelia négative* », de préférence complété avec une information supplémentaire concernant le diagnostic clinique.

L'échantillon IS/18777 laboratoires impairs: tous les laboratoires ont rapporté la présence attendue des IgG, et 73% l'absence des IgM. Il est à noter que tous les résultats faussement positifs pour les IgM ont été obtenus par les utilisateurs du Vidas. La firme a été contactée afin d'avoir une explication. La grande variation dans les interprétations confirme les difficultés et les limitations de la sérologie. La plupart des laboratoires ont mentionné la réponse attendue « *Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé* » (40%), qui était suivi un peu étonnement par « *Le résultat sérologique indique une infection récente, cohérent avec les informations cliniques* » (37%), qui a été fourni en grande partie par les laboratoires qui ont trouvé les IgM non négatives. Ici aussi nous devons faire la remarque qu'un EM typique ne nécessite pas une confirmation sérologique et même que la détection d'IG sans présence d'IgM ne pourrait pas exclure une (ré)infection dans ce cas. Un traitement reste indiqué en cas d'une présentation clinique d'EM. S'il existe un doute sur la lésion et qu'on décide de pas encore traiter, un échantillon de suivi peut être souhaitable afin d'objectiver une éventuelle augmentation des IgG.

Comme on le sait, *Borrelia burgdorferi* est un spirochète qui peut, suite à des morsures de tiques, causer des infections humaines. En absence de symptômes cliniques typiques, comme l'érythème migrant, le diagnostic des tableaux cliniques relatés à la maladie de Lyme repose surtout sur la détection des anticorps spécifiques. La stratégie actuelle de test repose dans la plupart des cas sur un algorithme à deux étapes: d'un côté l'algorithme traditionnel dans lequel un immunoessai (EIA) ou un essai

d'immunofluorescence (IFA) (sensible) est, en cas d'un résultat douteux ou positif, suivi par un Western Blot (IgM et/ou IgG) (plus spécifique) et d'un autre côté d'un protocole utilisé moins souvent dans lequel 2 EIA consécutifs sont effectués. En Europe on choisit d'habitude le protocole traditionnel, le protocole alternatif est surtout utilisé aux Etats-Unis. De plus on mentionne dans la littérature un protocole en une étape avec une ELISA anti-peptide C6, pour lequel une sensibilité aussi élevée (?) mais une spécificité moindre sont décrites. Etant donné la situation épidémiologique différente aux Etats-Unis nous ne pouvons pas tirer les mêmes conclusions pour l'Europe. En effet aux Etats-Unis circule principalement *B. burgdorferi sensu stricto* tandis qu'en Europe nous voyons surtout *B. afzelli* et *B. garinii* et que dans une minorité de cas *B. burgdorferi sensu stricto*. Ceci rend difficile d'extrapoler les stratégies de test. De plus le CDC conseille pour le moment un algorithme en deux étapes. Ça reste également notre conseil.

Pour finir nous voulons souligner une fois de plus que les demandes d'une sérologie *Borrelia* en absence de signes cliniques spécifiques doivent être évitées, vu aussi bien le risque de fausse positivité que la prévalence en arrière-plan (qui dans certaines régions et dans certains groupes professionnels peut s'élever jusque plus que 20%).

CMV

Deux échantillons ((IS/16641 et IS/16660)) ont été envoyés pour effectuer la sérologie CMV et EBV.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/16641: Femme en âge de procréation, ayant consulté pour un syndrome grippal accompagné de myalgies, de fièvre et d'une malaise généralisé. L'échantillon soumis au CQ a été prélevé un mois après le début des manifestations cliniques.

IS/16660: Un patient sous chimiothérapie a des symptômes grippaux. Il a récemment eu la visite de jeunes membres de sa famille qui après ont été testés positifs pour les anticorps CMV et/ou EBV. Pour cette raison on prélève un échantillon chez le patient.

Les résultats attendus pour le CMV étaient :

IS/16641: IgG positif
IgM négatif
IS/16660: IgG négatif
IgM négatif

Nous avons demandé d'effectuer une interprétation combinée des résultats de CMV et EBV.

129 laboratoires (sur 130 inscrits, soit 99%) ont introduits leurs résultats pour le CMV.

Pour l'échantillon IS/16641 les laboratoires ont effectué 309 tests (1 détermination des anticorps totaux, 139 IgG, 136 IgM et 33 déterminations de l'avidité).

Pour l'échantillon IS/16660 les laboratoires ont effectué 280 tests (1 détermination des anticorps totaux, 138 IgG, 136 IgM et 5 déterminations de l'avidité).

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

Tableau 3.4. Nombre de participants répartis par paramètre pour le CMV

Nombre de tests	Type test	IS/16641	IS/16660
1 test	IgG	2	2
	Ac. totaux	1	1
2 tests	IgG + IgM	90	111
3 tests	IgG + IgM + avidité	25	5
	IgG + IgG + IgM	1	-
	IgG + IgM + IgM	-	1
4 tests	IgG + IgM + IgM + avidité	1	-
	IgG + IgG + IgM + IgM	1	8
5 tests	IgG + IgG + IgM + IgM + avidité	7	-
	IgG + IgG + IgG + IgM + IgM	1	1
Total		129	129

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Cobas CMV IgG (Roche) (23.0% et 23.2%), Liaison CMV IgG II (DiaSorin,) (20.1% et 20.3%), Architect CMV IgG (Abbott) (15.1% et 15.2%), ElecsysCMV IgG (Roche) (12.9% et 13.0%), Alinity CMV IgG (Abbott) (9.4%, les 2 échantillons) et VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (8.6% et 8.0%)

- IgM: Cobas CMV IgM (Roche) (23.5%, les 2 échantillons), Liaison CMV IgM II (DiaSoriri,) (20.6%, les 2 échantillons), Architect CMV IgM (Abbott) (15.4%, les 2 échantillons), Elecsys CMV IgM (Roche) (11.8%, les 2 échantillons), Alinity CMV IgM (Abbott) (8.8%, les 2 échantillons) en VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (8.8%, les 2 échantillons)
- IgG avidité (uniquement pour l'échantillon IS/16641): VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (63.6%), et Liaison CMV IgG avidity (DiaSoriri) (21.2%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

IS/16641:

- le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux a obtenu un résultat positif
- 127 laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG; un laboratoire a obtenu un résultat négatif (ce laboratoire a probablement coché la mauvaise case étant donné que le résultat quantitatif indique plutôt un résultat positif)
- tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM
- tous les laboratoires ont obtenu une avidité élevée

IS/16660:

- le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux a obtenu un résultat négatif
- tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG
- tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM

L'EBV

Les anticorps anti-EBV devaient être déterminés sur les mêmes échantillons sur lesquels la sérologie dU CMV devait être effectuée (cfr. Le chapitre sur CMV).

123 laboratoires ont introduit des résultats. Cependant pour l'échantillon IS/16660 il n'y a que 122 laboratoires qui ont introduit des résultats (bizarrement le laboratoire manquant a donné une interprétation combinée pour le CMV et l'EBV pour cet échantillon: probablement s'agit-il d'un oubli au moment d'introduire des résultats).

Pour l'échantillon IS/16641 les laboratoires ont effectué 359 tests (50 Ac. hétérophiles, 11 IgM totaux, 95 VCA IgG, 13 VCA-EA IgG, 105 VCA IgM, 79 EBNA IgG et 6 EA IgG). Pour l'échantillon IS/16660 les laboratoires ont effectué 353 tests (49 Ac. hétérophiles, 11 IgM totaux, 94 VCA IgG, 12 VCA-EA IgG, 103 VCA IgM, 78 EBNA IgG et 6 EA IgG).

La trousse VIDAS VCA-EA IgG donne une appréciation globale de ces 2 paramètres sans les distinguer.

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

Tableau 3.4. Combinaisons des tests effectués par les participants pour l'EBV (EEQ 2022/2)

Nombre de tests	Paramètre	IS/16641	IS/16660
1 test	Ac hétérophiles	3	3
	EBNA IgG	4	5
2 tests	VCA IgG + VCA IgM	24	24
	VCA-EA IgG + VCA IgM	2	2
	VCA IgG + IgM totaux	1	1
	EBNA IgG + VCA IgM	2	2
3 tests	Ac hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM	11	11
	Ac hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM	1	1
	Ac hétérophiles + VCA IgG + IgM totaux	2	2
	Ac hétérophiles + EBNA IgG + VCA IgM	6	6
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	26	26
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	7	6
	VCA IgG + IgM totaux + EBNA IgG	5	5
4 tests	Ac hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	18	17
	Ac hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	3	3
	Ac hétérophiles + VCA IgG + IgM totaux + EBNA IgG	2	2
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	1	1
	VCA IgG + IgM totaux + EBNA IgG + EA IgG	1	1
5 tests	Ac hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	4
Total		123	122

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ac. hétérophiles: Clearview IM (Abbott) (82.0% et 83.7%)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100%, les 2 échantillons)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (DiaSorin) (50.5% et 50.0%), Architect VCA IgG (Abbott) (16.8% et 17.0%), Alinity i EBV-VCA IgG (Abbott) (10.5% et 10.6%) et Elecsys EBV VCA IgG (Roche) (9.5% et 9.6%)
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (DiaSorin) (30.4% et 29.5%), VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (21.5% et 21.8%) et Architect EBNA IgG (Abbott) (20.3% et 20.5%)
- EA IgG: Liaison EA IgG (DiaSorin) (83.3%, les 2 échantillons)
- IgM totaux: Elecsys EBV IgM (Roche) (81.8%, les 2 échantillons)

- VCA IgM: Liaison EBV IgM (DiaSorin) (47.6%, les 2 échantillons), Architect VCA IgM (Abbott) (16.2% et 16.5%), VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (15.2% et 14.6%) et Alinity i EBV-VCA IgM (Abbott) (10.5% et 10.7%)

IS/16641

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

Tous les résultats pour les, les IgG VCA et les IgG VCA-EA étaient positifs. Tous les résultats pour les IgG EA étaient négatifs.

Pour les IgG EBNA, 58.2% des laboratoires ont obtenu un résultat positif, 34.2% un résultat négatif et 7.6% un résultat borderline.

Tous les résultats pour les IgM totales et les VCA IgM étaient négatifs.

IS/16660

48 laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les Ac. Hétérophiles et .un laboratoire un résultat borderline

Pour les VCA IgG 93 laboratoires ont obtenu un résultat positif et 1 laboratoires un résultat négatif Tous les rsultats pour les VCA-EA IgG et les EBNA IgG étaient positifs.

Les résultats des EA IgG étaient tous négatifs.

Tous les résultats pour les IgM totaux(étaient négatifs. Pour les. VCA IgM 102 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat borderline.

Interprétation de l'EBV et du CMV

IS/16641

Laboratoires qui n'effectuent que le CMV (N =7)

Cinq laboratoires ont répondu « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV ». Un laboratoire (qui a déterminé les Ac totaux (résultat positif)) a choisi « Test CMV global. Infection ancienne ou primaire ». Un laboratoire (qui n'a déterminé que les IgG (résultat positif) a mentionné « Nous sommes une centre de Transfusion Sanguine et nous n'effectuons que le test CMV IgG » .

Laboratoires qui n'effectuent que l'EBV(N =2)

Un laboratoire a choisi « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV » L'autre laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac hétérophiles (résultats négatifs)) a choisi « Pas d'interprétation possible sur seule base du P&B, d'autres tests sérologiques sont nécessaires ».

Laboratoires qui effectuent CMV et EBV (N = 119)

110 (75.8%) laboratoires ont choisi « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV et d'une infection ancienne par EBV ». Trois laboratoires ont choisi pour « Sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV et d'une infection ancienne par CMV ». deux laboratoires pour « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV; sérologie négative pour EBV » et un laboratoire pour « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV; sérologie négative pour CMV (même si ce laboratoire a trouvé les IgG anti-CMV positifs). Trois laboratoires ont proposé leur propre interprétation (extensive).

IS/16660

Laboratoires qui n'effectuent que le CMV (N =7)

Cinq laboratoires ont répondu « Sérologie négative pour CMV ». Un laboratoire (qui a déterminé les Ac totaux (résultat positif)) a choisi « Test CMV global. Infection ancienne ou primaire ». Un laboratoire (qui n'a déterminé que les IgG (résultat négatif) a mentionné « Nous sommes une centre de Transfusion Sanguine et nous n'effectuons que le test CMV IgG ».

Laboratoires qui n'effectuent que l'EBV(N =2)

Un laboratoire a choisi « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV » L'autre laboratoire (qui n'a déterminé que les Ac hétérophiles (résultats négatifs)) a choisi « Pas d'interprétation possible sur seule base du P&B, d'autres tests sérologiques sont nécessaires ».

Laboratoires qui effectuent CMV et EBV (N = 117)

114 (97.4%) laboratoires ont choisi « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV; sérologie négative pour CMV ». Trois laboratoires ont choisi une autre interprétation.

La toxoplasmose

2 échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la toxoplasmose : IS/19049 en IS/19050.

L'échantillon IS/19050 a déjà été envoyé dans l'EEQ 2021/1 sous le numéro IS/17478 dans l'EEQ 2012/1 sous le numéro IS/10550

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

IS/19049: Une dame de 47 ans se plaint depuis un mois de fatigue; les ganglions cervicaux sont clairement palpables. Elle ne possède pas de chat mais elle travaille régulièrement dans le jardin.

IS/19050: Prélèvement chez une architecte paysagiste de 25 ans qui souhaite devenir enceinte.

Les résultats attendus étaient :

IS/19049:

IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs)

IS/19050:

IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps spécifiques

126 laboratoires ont introduit leurs résultats.

Pour l'échantillon IS/19049 les laboratoires ont effectué 305 tests : 94 laboratoires ont effectué 2 tests, 20 laboratoires effectué 3 tests, 4 laboratoires ont effectué 4 tests, 7 laboratoires effectué 5 tests et un laboratoire 6 tests

Pour l'échantillon IS/19050 les laboratoires ont effectué 279 tests : 110 laboratoires ont effectué 2 tests, 6 laboratoires ont effectué 3 tests, 9 laboratoires ont effectué 4 tests et un laboratoire 5 tests.

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

Tableau 3.5. Nombre de participants répartis par paramètre pour la toxoplasmose (EEQ 2022/2).

Nombre de tests	Types de tests	IS/19049	IS/19050
2 tests	IgG + IgM	94	110
3 tests	IgG + IgM + avidité	20	5
	IgG + 2 IgM	-	1
4 tests	2 IgG + 2 IgM	1	8
	3 IgG + IgM	1	1
	2 IgG + IgM + avidité	1	-
	IgG + 2 IgM + avidité	1	-
5 tests	2 IgG + 2 IgM + avidité	7	-
	2 IgG + 2 IgM + IgA	-	1
6 tests	2 IgG + 2 IgM + IgA + avidité	1	-
Total		126	126

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Cobas Toxo IgG (Roche) (20.3% et 20.4%), Elecsys Toxo IgG (Roche) (15.2% et 15.3%), Liaison Toxo IgG II (DiaSorin) (15.2% et 15.3%), Architect Toxo IgG (Abbott) (12.3% et 11.7%), en Alinity Toxo IgG (Abbott) (10.1% et 10.9%)
- IgM: Cobas Toxo IgM (Roche) (19.9%, les 2 échantillons), Elecsys Toxo IgM (Roche) (15.4%, les 2 échantillons), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (13.2%, les 2 échantillons), Architect Toxo IgM (Abbott) (12.5% et 11.8%), en Alinity Toxo IgM (Abbott) (10.3% et 11.0%)
- IgG avidité (uniquement l'échantillon IS/17690): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (56.7%) en Liaison XL Toxo IgG avidity II (DiaSorin) (26.7%)

Pour l'échantillon IS/19049, tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG.

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

Tous les laboratoires ont donné un résultat élevé pour l'avidité.

125 (99.2%) laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs) ». Un laboratoire a donné sa propre interprétation.

Pour l'échantillon IS/19050 125 (99.2%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

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

125 (99.2%) laboratoires ont choisi l'interprétation "Absence d'anticorps spécifiques". Un laboratoire a donné sa propre interprétation.

L'analyse n'a pas démontré de problèmes analytiques, mais on peut quand-même faire quelques remarques sur les interprétations. Un certain nombre de laboratoires ont fourni un résultat pour l'avidité pour l'échantillon IS/19050 tandis que cet échantillon était négatif aussi bien pour les IgG anti-toxoplasme que pour les IgM. Ces laboratoires feraient bien de vérifier si leur méthode génère en effet un résultat en cas d'absence d'IgG.

Ceci monte également l'importance d'évaluer les différents paramètres sérologiques ensemble.

Suite aux interprétations que les laboratoires ont donné (absence d'anticorps spécifiques), on pourrait supposer qu'il s'agit d'une mauvaise encodage de résultats.

Heureusement la plupart des laboratoires ont indiqué qu'ils n'effectueraient pas l'avidité en routine.

L'hépatite A

Deux échantillons ont été envoyés : IS/19224 et IS/19302.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/19224 et IS/19302: Les deux échantillons ont été prélevés chez des patients avec des signes cliniques (fièvre, jaunisse) et des résultats de laboratoire (bilirubine et transaminases élevées) caractéristiques d'une hépatite. Aucun des 2 patients n'a séjourné à l'étranger durant les dernières années.

Les résultats et interprétations attendues étaient :

IS/19224:

IgG: positifs
IgM: négatifs
Interprétation: Immunité

IS/19302:

IgG: négatifs
IgM: négatifs
Interprétation: Immunité

Au total 130 laboratoires cliniques (sur 131 laboratoires inscrits, soit 99.2%) ont donné une réponse.

Sur les 2 échantillons les laboratoires ont effectué 251 tests.

9 laboratoires ont effectué un test et 121 laboratoires 2 tests.

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

Tableau 3.6. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Types de tests	IS/19224	IS/19302
1 test	IgM	8	8
	Ac totaux	1	1
2 tests	Ac totaux + IgM	91	91
	IgG + IgM	30	30
Total		130	130

Les laboratoires ont donc effectué 92 déterminations des anticorps totaux, 30 déterminations des IgG et 129 déterminations des IgM.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect HAV IgG (Abbott) (56.7% les 2 échantillons) et Alinity i HAVAb IgG (Abbott) (43.3%les 2 échantillons)
- Ac. totaux.: Cobas anti-HAV (Roche) (27.2% les 2 échantillons), Elecsys anti-HAV (Roche) (21.7% les 2 échantillons), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (13.0% les 2 échantillons) et Atellica HAV Total (13.0% et 12.0%)
- IgM: Cobas anti-HAV IgM (Roche) (20.9% les 2 échantillons), Elecsys anti-HAV IgM (Roche) (14.7% les 2 échantillons), Architect HAV IgM (Abbott) (14.0% et 13.2%) et VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (11.6% les 2 échantillons)

Pour l'échantillon IS/19424, tous les laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvés positives.

90 laboratoires (97.8%) ayant déterminé les anticorps totaux les ont trouvés positifs : 2 laboratoires ont obtenu un résultat négatif (un de ces 2 laboratoires a cependant probablement inversé les 2 échantillons vu qu'il a obtenu un résultat positif pour l'échantillon IS/19302).

128 laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatives ; un laboratoire a obtenu un résultat positif. .

120 laboratoires ont choisi l'interprétation correcte « Immunité ». Un laboratoire a répondu « pas d'immunité » (il s'agit du laboratoire qui a probablement inversé les 2 échantillons) . Un laboratoire (qui a obtenu un résultat positif pour les anticorps totaux) a choisi « Profil sérologique suggestif d'une infection récente/actuelle causée par le virus de l'hépatite A ».

Les laboratoires n'ayant déterminé que les IgM, ont mentionné qu'il n'y a pas d'arguments pour une infection récente par le virus de l'hépatite A (N = 4), ou qu'il est impossible de donner une interprétation sur seule base des IgM (N = 3).

Pour l'échantillon IS/19302 tous les laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvés négatives.

91 laboratoires (97.8%) ayant déterminé les anticorps totaux les ont trouvés positifs : 1 laboratoire a obtenu un résultat négatif (il s'agit du laboratoire qui a probablement inversé les 2 échantillons).

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

120 laboratoires (91.8%) ont choisi l'interprétation correcte « Pas d'immunité ». Un laboratoire a répondu « Immunité » (il s'agit du laboratoire qui a inversé les 2 échantillons).

Les laboratoires n'ayant déterminé que les IgM, ont mentionné qu'il n'y a pas d'arguments pour une infection récente par le virus de l'hépatite A (N = 5) ou qu'il est impossible de donner une interprétation sur seule base des IgM (N = 3).

Vous pouvez trouver une discussion approfondie dans le rapport global de l'enquête 2022/3.

Le VIH

2 échantillons « prêts-à-l'emploi » (IS/19400 et IS/19404) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon IS/19400 était réactif pour les anticorps anti-VIH.

L'échantillon IS/19404 était négatif pour les anticorps anti- VIH. Cet échantillon a déjà été envoyé dans les enquêtes 2015/3 (sous le numéro IS/10557), 2016/3 (sous le numéro / IS14254) et 2018/3 (sous le numéro IS/15349).

137 laboratoires (sur 138 laboratoires inscrits, soit 99.3%) ont introduit leurs résultats.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests de dépistage effectués par laboratoire. Plusieurs laboratoires ont effectué 2 tests de dépistage différents par échantillon et un laboratoire 3 tests.

Tableau 3.7. Tests de dépistage effectués pour la détermination du VIH.

Echantillon	1 test	2 tests	3 tests	Total
IS/19400, (N labos)	123	13	1	137
IS/19404 (N labos)	129	7	1	137

Les laboratoires ont donc effectué 152 tests de dépistage pour l'échantillon IS :19400 et 146 tests de dépistage pour l'échantillon IS/19404;

Les réactifs les plus utilisés sont Elecsys HIV Duo (Roche) (21.7% et 23.3%), HIV Combi PT (Roche) (165.4% et 17.1%), Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (12.5% et 13.0%) et Alinity HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (12.5% et 13.0%).

Résultats pour l'échantillon IS/19400

133 (97.1%) les laboratoires ont obtenu un résultat réactif avec les tests de dépistage. Trois laboratoires ont obtenu un résultat borderline et un laboratoire un résultat négatif (ce laboratoire a probablement inversé les 2 échantillons étant donné qu'il a obtenu un résultat r »actif pour l'échantillon IS/19404).

Résultats pour l'échantillon IS/19404

136 (99.3%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif avec les tests de dépistage. Un laboratoire a obtenu un résultat réactif (le laboratoire mentionné plus haut qui a probablement inversé les 2 échantillons).

COVID-19*

* paramètre non réalisé dans le cadre de l'accréditation

1) Enquête de mai (EEQ COVID 2022/1)

3 échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la COVID.

Information concernant l'origine des échantillons.

IS/19117: donneur sain sans infection naturelle documentée, 94 jours après la troisième dose du vaccin Pfizer

IS/19118: donneur avec test PCR positif le 10/02/2022. Le prélèvement a été effectué le 23/05/2022

IS/19119: donneur sain séronégatif

109 laboratoires cliniques ont participé à l'enquête : ils ont effectué 146 tests sur les 3 échantillons.

75 laboratoires ont effectué 1 test, 29 laboratoires ont effectué 2 tests, 3 laboratoires ont effectué 3 tests et 1 laboratoire a effectué 4 tests.

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

Tableau 3.8 : Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour la détermination des anticorps anti-COVID de l'enquête 2022/1.

N Nombre de tests	Anticorps	N labos (chacun des 3 échantillons)	
1 test	Ac totaux	30	
		Ac anti-S	28
		Ac anti--N	2
	IgG		45
		Ac anti-S	42
	Ac anti--N	3	
2 tests	Ac totaux: anti--N et IgG: Ac anti-S	2	
	Ac totaux (Ac anti-S) et IgM	1	
	IgG (Ac anti-S) et IgM	4	
	2 x Ac totaux (Ac anti-S et Ac anti--N)	14	
	2 x IgG (Ac anti-S et Ac anti--N)	8	
3 tests	Ac totaux. et IgG et IgM	3	
		Ac totaux anti-S et IgG & IgM tests rapides	2
		Ac totaux anti-N et IgG anti-S	1
4 tests	Ac totaux anti-N et anti-S et IgG & IgM test rapides	1	
Total		108	

Au total les laboratoires ont donc effectué :

- 66 déterminations des anticorps totaux: 46 anti-S et 20 anti-N
- 71 déterminations des IgG: 57 anti-S, 11 anti-N et 3 tests rapides
- 9 déterminations des IgM dont 3 tests rapides

Les trousse les plus utilisées étaient:

- Ac totaux:
 - o Ac Anti-S: Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S (Roche) (88.01%)
 - o Ac Anti-N: Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 Test (Cobas) (Roche) (100%,)
- IgG:
 - o Ac Anti-S: LIAISON SARS-CoV-2 TrimericS IgG (Diasorin) (33.3%), SARS-CoV-2 IgG II Quant (Alinity) (Abbott) (24.6%) et SARS-CoV-2 IgG II Quant (Architect) (Abbott) (22.8%)
 - o Ac Anti-N: SARS-CoV-2 IgG Assay (Architect) (Abbott) (54.5%)
- IgM: pour aucune trousse il n'y avait plus que 3 utilisateurs

Résultats

Echantillon IS/19117:

- Ac totaux:
 - o Ac Anti-S: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif
 - o Ac Anti-N: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.
- IgG
 - o Ac Anti-S: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif
 - o Ac Anti-N: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif
 - o Test rapides: un laboratoire a obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat négatif.
- IgM: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif

Echantillon IS/19118

- Ac totaux: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif, indépendant des anticorps qu'ils recherchent.
- IgG:
 - o Ac Anti-S: 56 (98.2%) laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire un résultat borderline
 - o Ac Anti-N: 4 laboratoires ont obtenu un résultat positif, 4 laboratoires un résultat borderline et 3 laboratoires un résultat négatif
 - o Test rapides: tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.
- IgM:
 - o Tests ELISA: cinq laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 2 laboratoires un résultat positif
 - o Test rapides: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif

Echantillon IS/18119

- Ac totaux: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendant des anticorps qu'ils recherchent
- IgG: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendant des anticorps qu'ils recherchent
- IgM: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif

2) Enquête de novembre (EEQ COVID 2022/2)

3 échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la COVID.

Information concernant l'origine des échantillons.

IS/19605: donneur sain séronégatif

IS/19606: donneur avec infection documentée le 01/04/20, vaccinations les 21/01/21 (Moderna), 19/02/21 (Moderna) et 26/11/21 (Pfizer); prélèvement le 19/10/22

IS/19607: donneur avec infections documentées les 03/20 et 31/01/22, vaccinations les 22/01/21 (Moderna), 19/02/21 (Moderna) et 26/11/21 (Pfizer); prélèvement le 19/10/22

107 laboratoires cliniques belges et luxembourgeois ont participé à l'enquête :
Les laboratoires cliniques ont effectué 144 tests sur chacun des 3 échantillons.

75 laboratoires ont effectué 1 test, 28 laboratoires ont effectué 2 tests, 3 laboratoires ont effectué 3 tests et 1 laboratoire a effectué 4 tests.

La distribution des tests utilisés en fonction des paramètres est présentée dans le tableau suivant.

Tableau 3.9 : Distribution des tests utilisés en fonction des paramètres pour la détermination des anticorps anti-COVID de l'enquête 2022/2.

Nombre de tests	Anticorps	N labos (chacun des 3 échantillons)	
1 test	Ac totaux	23	
		Ac anti-S	21
		Ac anti--N	2
	IgG	52	
		Ac anti-S	50
		Ac anti--N	2
2 tests	Ac totaux et IgG	4	
		Ac totaux anti-N et IgG anti-S	2
		Ac totaux -S antistoffen et IgG anti-S	2
	IgG (anti-S) et IgM	4	
	2 x Ac totaux (anti-S et anti-N)	13	
	2 x IgG (anti-S et anti-N)	7	
3 tests	Ac totaux. (anti-N) et IgG (anti-S) et IgM	1	
	2 x Ac totaux (anti-S et anti-N) et IgG (anti-S)	1	
	3 x Ac totaux (1 x anti-S et 2 x anti-N)	1	
4 tests	2 x Ac totaux (anti-N et anti-S) et IgG & IgM tests rapides	1	
Total		107	

Les trousse les plus utilisées étaient:

- Ac totaux:
 - o Ac Anti-S: Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S (Roche) (94.9%)
 - o Ac Anti-N: Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 Test (Cobas) (Roche) (100%),
- IgG:

- Ac Anti-S: LIAISON SARS-CoV-2 TrimericS IgG (DiaSorin) (28.4%), SARS-CoV-2 IgG II Quant (Alinity) (Abbott) (23.9%), Anti-S As: SARS-CoV-2 IgG II Quant (Architect) (Abbott) (16.4%) et Atellica IM SARS-CoV-2 IgG (sCOVG) (Siemens) (13.4%)
- Ac Anti-N SARS-CoV-2 IgG Assay (Architect) (Abbott) (55.6%)
- IgM: pour aucune trousse il n'y avait plus que 2 utilisateurs

Résultats

Echantillon IS/19605:

- Ac totaux:
 - Ac Anti-S: 37 (94.9%) les laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 2 (5.1%) laboratoires un résultat positif
 - Ac Anti-N: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.
- IgG
 - Ac Anti-S: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif
 - Ac Anti-N: 8 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 1 laboratoire un résultat borderline
 - Test rapides: le laboratoire a obtenu un résultat négatif.
- IgM
 - Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendamment de la nature de la trousse.

Echantillon IS/19606

- Ac totaux:
 - tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif, indépendamment des anticorps qu'ils recherchent.
- IgG:
 - Ac Anti-S : tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif
 - Ac Anti-N: tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif
- IgM:
 - Trousses ELUSA : 3 laboratoires ont obtenu un résultat négatif et 2 laboratoires un résultat positif
 - Tests rapides : le laboratoire a obtenu un résultat négatif

Echantillon IS/19607

- Ac totaux:
 - tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif, indépendamment des anticorps qu'ils recherchent
- IgG
 - tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif, indépendamment des anticorps qu'ils recherchent
- IgM
 - Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendamment de la nature de la trousse.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2023

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