

## I. REMARQUES GENERALES

Pour la troisième enquête du cycle 2002 (enquête 2002/3), le matériel suivant a été expédié le 7 octobre 2002.

**1.1. Quatre échantillons lyophilisés** pour identification.

Les tests de sensibilité ont également été demandés sur 2 de ces échantillons.

**1.2. Deux suspensions formolées de selles** pour la recherche de parasites.

**1.3. Trois échantillons lyophilisés de plasma** pour la recherche des anticorps de VIH.

### NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

- |                              |     |
|------------------------------|-----|
| 1. Pour les identifications: | 229 |
| 2. Pour la parasitologie:    | 217 |
| 3. Pour la sérologie :       | 221 |

## II. IDENTIFICATIONS

### 2.1 Culture M/2623 était un *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Cette souche a été isolée à partir d'une morsure de putois infectée. Un *E. rhusiopathiae* a également été envoyé lors du contrôle externe de qualité en 1995.

Les résultats de l'identification sont comparables, 92 % de réponses correctes en 1995 et 93 % de réponses correctes en 2002.

#### **Taxonomie et identification**

Le genre *Erysipelothrix* ne comprend qu'une espèce qui est pathogène pour l'homme, l'*E. rhusiopathiae*, et, une espèce non-pathogène l'*E. tonsillarum*. Il est préférable de ne plus utiliser l'ancienne dénomination *E. insidiosa* pour *E. rhusiopathiae*.

*E. rhusiopathiae* est un bacille Gram positif immobile. L'examen microscopique montre deux formes: d'une part, des bacilles courts (0.2 à 0.5 µm de large et 0.8 à 2.5 µm de long) avec des extrémités rondes, séparés ou en courtes chaînes et d'autre part, des éléments filamenteux longs sans ramifications (60µm ou plus long). Ils peuvent avoir un aspect de bacilles Gram négatif avec des granules Gram positif car ils sont facilement décolorés dans les colorations de Gram. La distinction avec des vrais bacilles Gram négatifs est parfois difficile à faire. Un test commercial d'aminopeptidase peut aider à faire cette distinction.

*E. rhusiopathiae* est un anaérobie facultatif avec une croissance optimale dans une atmosphère de 5 à 10 % CO<sub>2</sub>. Après 24 heures, il y a une croissance de petites colonies α-hémolytiques (0.3 à 1.5 mm) sur une gélose au sang. Après 48 heures, il est possible de distinguer deux types de colonies chez une même souche. D'une part se forment des petites colonies grisâtres luisantes aux bords réguliers du type "Smooth", qui correspondent aux petits bacilles, retrouvés à l'examen microscopique. D'autre part, apparaissent des colonies plus grandes, plus aplaties et plus opaques aux bords crénelés et à surface irrégulière du type "Rough", qui correspondent à de longs filaments, retrouvés à l'examen microscopique.

*E. rhusiopathiae* fermente facilement le glucose sans production de gaz ; la catalase et l'oxydase sont négatives et le bacille n'hydrolyse pas l'esculine. Sur Kligler et TSI, il y a une production typique de H<sub>2</sub>S. *E. rhusiopathiae* est résistant à la vancomycine et à la colistine.

A l'aide de ces caractéristiques, il est possible de distinguer *E. rhusiopathiae* des entérocoques, *Lactobacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, et *Listeria spp.*

Contrairement à *E. rhusiopathiae*, *E. tonsillarum* fermente le sucrose.

Les systèmes d'identification commerciaux comme API coryne et Vitek donnent habituellement une identification correcte du *E. rhusiopathiae*.

### **Signification clinique**

*E. rhusiopathiae* est une bactérie largement répandue dans la nature, à savoir dans le sol et dans les matériaux organiques en décomposition. La bactérie a été isolée comme commensale et/ou comme pathogène chez une grande diversité d'animaux. Elle est retrouvée particulièrement chez les porcs et dindons, surtout dans les amygdales et l'intestin.

Chez l'homme, *E. rhusiopathiae* cause surtout l'érysépele, une cellulite localisée qui se développe dans les 2 à 7 jours autour du site d'infection. Dans la majorité des cas, la maladie est contractée à cause d'une lésion de la peau, une blessure ou une morsure aux mains ou bras de personnes qui sont en contact avec des animaux ou des produits animaliers. La maladie est retrouvée principalement chez des personnes qui, pour raison professionnelle, entrent fréquemment en contact avec des animaux, tels que les vétérinaires, les bouchers et les pêcheurs.

*E. rhusiopathiae* peut être retrouvé dans des infections de plaie après une morsure de chat. La littérature ne mentionne rien sur des infections à *E. rhusiopathiae* après une morsure de putois.

Une forme généralisée avec des symptômes généraux (fièvre, douleurs articulaires, ...) avec hémocultures négatives peut se produire.

Une infection sérieuse, le plus souvent accompagnée d'une endocardite, avec hémocultures positives est retrouvée surtout chez des personnes immunodéprimées.

### **Diagnostic bactériologique**

Il est conseillé de prendre une biopsie aux bords de la lésion pour effectuer le diagnostic bactériologique de l'érysépele. Un enrichissement et une longue incubation (jusqu'à 7 journées) sont souvent nécessaires.

En général, l'examen microbiologique des infections après les morsures est assez difficile car dans la majorité des cas, plusieurs types de bactéries et des bactéries moins connues sont retrouvés.

### **Sensibilité aux antibiotiques**

*E. rhusiopathiae* est généralement sensible aux pénicillines, céphalosporines, clindamycine, tétracyclines, érythromycine et fluoroquinolones. D'habitude, il est résistant aux aminoglycosides, sulfonamides et à la vancomycine. La pénicilline est le traitement de choix.

Koen MAGERMAN (Virga Jesse, Hasselt)

## **REFERENCES**

1. C. Trollin, rapport global de l'évaluation externe de la qualité, enquête 02/1995
2. J. Bille, et al., 1999. *Listeria, Erysipelothrix, and Kurthia*. In Murray PR et al. (eds). Manual of Clinical Microbiology, ASM Press, Washington DC: 352-353
3. F. Fenollar et al., 2000. Comparison of a commercial disk test with vancomycine and colimycin susceptibility testing for identification of bacteria with abnormal gram staining reactions. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 19 (1): 33-38
4. D.A. Talan et al., 1999. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. New England Journal of Medicine, 340 (2): 85-92

## 2.2 Culture M/3753 *Campylobacter jejuni*

### Introduction

Les *Campylobacter* sont après les *Salmonella* la deuxième cause de diarrhée bactérienne en Belgique.<sup>1</sup> Les diarrhées à *Campylobacter*, sont généralement peu sévères, limitées dans le temps, et ne nécessitent pas de traitement antibiotique.<sup>2</sup>

Lorsqu'une antibiothérapie est requise (infections sévères, enfants en bas âge, sujets âgés, patients immunodéprimés), les macrolides ou les fluoroquinolones sont les antibiotiques recommandés. *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* sont les espèces les plus fréquemment isolées des selles (> 90% des cas).

Le genre *Campylobacter* est constitué de bactéries à Gram négatif, catalase (+), en forme de spirale, microaérophiles (croissance dans une atmosphère riche en CO<sub>2</sub> et réduite en oxygène) et thermophiles (bonne croissance à 42°C).

Pour leur isolement, on utilise le plus fréquemment des milieux sélectifs contenant des antibiotiques. Certaines espèces moins souvent responsables de diarrhée tel que le *C. upsaliensis*, sont sensibles aux antibiotiques présents dans les milieux sélectifs et/ou sont inhibées à 42°C. Pour isoler ces *Campylobacter*, on recommande d'utiliser une méthode de culture par filtration passive. On couvre la gélose de culture avec un filtre en acétate de cellulose dont les pores ont de 0.45 à 0.65 microns. Puis, on dépose à la surface du filtre quelques gouttes d'une suspension de selles et on laisse la boîte pendant ½ heure dans une étuve ordinaire à 35°C. Grâce à leurs mouvements rapides et leur petite taille (0,2 à 0,4 µm de largeur), les *Campylobacter* se fauillent à travers le filtre. Le filtre est ôté et la gélose est alors incubée dans une atmosphère microaérophile à 37°C.

### Identification

L'identification présomptive des *Campylobacter* est basée sur leur morphologie typique lors de la coloration au Cristal Violet : petites virgules, ou mouettes, des formes en petites spirales de 2 ou plusieurs courbes sont plus rares.

Les colonies suspectes sont identifiées grâce aux tests suivants : oxydase, catalase, hydrolyse de l'hippurate, ainsi que la croissance à 25°C et à 42°C.

La sensibilité à l'acide nalidixique et à la céphalotine sont de moins en moins utiles étant donné l'accroissement de la résistance aux quinolones et la présence de céphalosporines dans certains milieux de culture.

Ces différents tests permettent d'identifier la majorité des *Campylobacter* responsables de diarrhées dans nos régions.

L'identification au genre est probablement suffisante pour la plupart des souches isolées de coprocultures ; cependant notre expérience montre que ≈ 10% de ces souches sont des *Campylobacter* autres que *jejuni* ou *coli*.<sup>3</sup>

Les *Campylobacter* étant biochimiquement peu réactifs en comparaison avec d'autres bactéries, une identification moléculaire est recommandée en cas d'isolement à partir de sites stériles.

**Table:** Caractéristiques biochimiques des principaux *Campylobacter* spp. isolés des selles.

	<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	<i>C. concisus</i>	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
Croissance à 25°C/42°C	+/V	-/+	-/+	-/w	-/+	-/+	-/+
Catalase	+	-	+	V	+	+	-/w
Hydrolyse de l'Hippurate	-	-	+	+	-	-	-
Sensibilité à:							
acide nalidixique <sup>a</sup>	R	R	V	S	S	R <sup>b</sup>	S
céphalothine	S	V	R	R	R <sup>c</sup>	R	S

+ Réaction positive; - réaction négative; w, faible; V, variable; S, sensible; R, résistant,

<sup>a</sup> L'accroissement de la résistance des *Campylobacter* aux quinolones rend ce test d'identification de moins en moins utile.

<sup>b</sup> Urease-positive subgroup (UPTC), sont sensibles à l'acide nalidixique.

<sup>c</sup> Certaines souches sensibles.

### Antibiogramme

L'augmentation de la résistance des *Campylobacter* aux antibiotiques oblige les laboratoires à effectuer un antibiogramme chaque fois qu'une antibiothérapie est envisagée.

En Belgique, le taux de résistance des souches invasives envoyées au laboratoire de référence était de 19% en 2000 pour la Ciprofloxacine. La résistance des *C. jejuni* à l'Erythromycine s'observe moins fréquemment (3% des cas).<sup>1</sup>

Bien que les *C. fetus* et d'autres *Campylobacter* soient sensibles aux  $\beta$ -lactames, les *C. jejuni* et *C. coli* sont résistants à la majorité des  $\beta$ -lactames, y compris les céphalosporines qui ne doivent donc pas être testées.<sup>4</sup> Il est à noter que les *Campylobacter* sont tous naturellement résistants au Triméthoprime et donc aussi à l'association Triméthoprime-Sulfaméthoxazole.

L'évaluation in vitro de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter* n'est pas standardisée.

- Le NCCLS ne donne aucune recommandation.
- La firme ROSCO ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)) donne en janvier 2002 des tentatives d'interprétation valables pour 1 an.
- La Société Française de Microbiologie (SFM) ([www.sfm.asso.fr](http://www.sfm.asso.fr)) et la British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) donnent des recommandations provisoires en insistant sur le fait que la corrélation entre CMI et diamètres est parfois difficile à établir.

La possibilité d'étudier la sensibilité par la technique de diffusion en gélose est cependant décrite.

La société ROSCO et la SFM recommandent l'utilisation de Mueller-Hinton agar supplémenté avec 5% de sang de mouton ou de cheval. Par contre, la BSAC recommande l'utilisation d'Iso-Sensitest agar<sup>5</sup> supplémenté avec 5% de sang de cheval.

L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 h en atmosphère micro-aérobie.

On peut considérer que la Ciprofloxacine ou l'Acide Nalidixique et l'Erythromycine doivent être testées en première intention.

Le tableau ci-dessous reprend les zones d'inhibition des différents antibiotiques considérés.

Antibiotiques	ROSCO		SFM		BSAC	
	Résistant	Sensible	Résistant	Sensible	Résistant	Sensible
Acide Nalidixique	≤ 16 mm	≥18 mm	< 15 mm	≥20 mm	≤ 15 mm	≥16 mm
Ciprofloxacine	≤ 19 mm	≥23 mm	< 19 mm	≥22 mm	≤ 17 mm	≥18 mm
Erythromycine	≤ 20 mm	≥26 mm	< 17 mm	≥22 mm	≤ 19 mm	≥20 mm
Clarythromycine	≤ 19 mm	≥23 mm				

Bien que l'Acide Nalidixique serve à l'identification d'espèce, une résistance croisée est presque toujours observée entre l'Acide Nalidixique et la Ciprofloxacine<sup>6</sup>. La fréquence de résistance des *C. jejuni* et *C. coli* semble similaire pour l'Azithromycine et l'Erythromycine.

Une évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) peut être facilement réalisée par les E-Test. Il faut cependant noter que cette méthode donne des valeurs légèrement plus basses que les méthodes de détermination de la CMI par dilution en agar et que cette méthode n'est pas standardisée non plus.<sup>7</sup>

O. VANDENBERG et A. DEDISTE  
CHU Saint-Pierre, Bruxelles

## REFERENCES

1. Ducoffre G. Annual report on the surveillance of infectious diseases by the sentinel laboratories 2000 and the epidemiological trends 1983-1999. (Available in French and Dutch). Brussels: Institute of Public Health; 2001; IPH/EPI reports Nr 2001 – 018.
2. Anders BJ, Lauer BA, Paisley JW, Reller LB. Double-blind placebo controlled trial of erythromycin for treatment of *Campylobacter* enteritis. *Lancet* 1982;16:131-2.
3. O. Vandenberg, A. Dediste, L. Vlaes, A. Ebraert, P. Retore, N. Douat, P. Vandamme, J-P Butzler. Prevalence and Clinical features of non jejuni/coli *Campylobacter* species and related organisms in stool specimens. In: Program and abstracts of the 11th International Congress on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms. Freiburg, Germany.
4. Tajada P, Gomez-Graces JL, Alos JI, Balas D, Cogollos R. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 beta-lactam agents and combinations with beta-lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1924-5
5. King A. Recommendations for susceptibility testing on fastidious organisms and those requiring special handling. *J Antimicrob Chemother* 2001 ; 48(suppl.1) : 77-80.
6. Gaudreau C, Gilbert H. Comparison of disc diffusion and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother* 1997;39:707-12
7. Ge B, Bodeis S, Walker RD, White DG, Zhao S, McDermott PF, Meng J. Comparison of the Etest and agar dilution for in vitro antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter*. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:487-94



**2.3 Culture M/3759** isolée d'une aspiration bronchique était un *Streptococcus pneumoniae*.

**Taxonomie et identification**

Une identification correcte a été effectuée par 99.1% des 229 laboratoires. Un laboratoire a utilisé le nom *Pneumococcus pneumoniae* et un laboratoire n'a pas réussi à identifier le germe.

La souche poussait aisément sur une gélose au sang sous forme de colonies sèches  $\alpha$ -hémolytiques qui montraient une zone d'inhibition distincte autour d'un disque d'optochine. Après 48 heures, la majorité des colonies montrait une dépression centrale à cause de l'autolyse.

**Signification clinique**

*S. pneumoniae* peut coloniser la muqueuse oropharyngienne et être isolé chez un quart de la population saine. Le résultat d'une colonisation peut être de trois sortes: une disparition rapide de la bactérie, le sujet peut être porteur sain durant des mois ou évoluer vers la maladie. Le résultat est déterminé par la virulence de la souche colonisante et par l'efficacité de la défense de l'hôte.

Le facteur de virulence le plus important du pneumocoque est sa capsule de polysaccharides. On distingue pour le moment 90 différents types de capsules. La capsule empêche la phagocytose par les polynucléaires et est fortement antigénique. Certains sérotypes (exemple : type 3) causent régulièrement des infections tandis que d'autres types sont fréquemment isolés chez des porteurs asymptomatiques. La période entre la colonisation et le début d'une infection est variable; des études récentes ont néanmoins montré que les infections suivent d'habitude assez vite la colonisation. Dès que des anticorps IgA spécifiques contre la capsule du pneumocoque colonisant sont sécrétés, la colonisation disparaît dans la majorité des cas. Les infections à pneumocoques se développent fréquemment quand la muqueuse respiratoire est endommagée par une infection virale (exemple l'influenza).

*S. pneumoniae* est l'agent causal bactérien le plus fréquemment rencontré, surtout lorsque la pneumonie apparaît en dehors de l'hôpital. Les facteurs prédisposants sont des anomalies existantes des voies aériennes (bronchite obstructive chronique), abus d'alcool, maladies cardio-vasculaires. Chez 20 à 25 % des patients, le pneumocoque peut être isolé de la circulation sanguine.

La mortalité globale d'une pneumonie à pneumocoques est au moins de 10% mais peut monter jusqu'à 30% chez les patients octogénaires et/ou chez des patients qui ont des maladies sous-jacentes sérieuses. Pour la Belgique, il faut compter un nombre de 20.000 patients par année avec une pneumonie à pneumocoques et une mortalité de 10%. Le nombre des souches provenant d'hémocultures envoyées annuellement par les laboratoires hospitaliers au laboratoire de référence a augmenté significativement durant les dernières années. Puisque le nombre des laboratoires qui participent à cette surveillance ne change pas au cours des années, on peut supposer qu'il y a une augmentation réelle du

nombre d'infections invasives à pneumocoques d'année en année. L'augmentation du nombre d'isolats d'hémocultures chez les jeunes enfants est remarquable ; on constate même un doublement de ces isolats pour la période 1994-2001.

### **Résistance microbienne**

La résistance contre la pénicilline et les autres  $\beta$ -lactames est basée sur le changement des protein binding proteins (PBP) qui induit une affinité plus faible pour cette famille d'antibiotiques. Six PBPs différentes (1a, 1b, 2a, 2b, 2x et 3) ont été décrites chez le pneumocoque. L'affinité de ces différentes PBPs varie entre les différents  $\beta$ -lactames. Le changement de la PBP 2b résulte dans tous les cas en une diminution de l'activité de la pénicilline, tandis que l'activité des céphalosporines de troisième génération n'est pas compromise. Les PBPs 1a et 2x sont par contre importants pour l'activité des céphalosporines de troisième génération.

L'information génétique de cette résistance aux  $\beta$ -lactames provient probablement d'autres pneumocoques résistants ou de streptocoques viridans (*S. mitis* en *S. oralis*) (1).

L'évolution de la résistance contre la pénicilline et les céphalosporines de troisième génération est suivie par le laboratoire de référence, de même que l'évolution de la résistance contre l'érythromycine, la tétracycline et l'ofloxacine (tableau 2). En 2000, parmi les 1218 pneumocoques, 215 (17.6%) avaient une sensibilité diminuée pour la pénicilline. Un tiers de ces 215 souches avait une CMI pour la pénicilline de plus d'un mg/L et pouvait donc être classé dans la catégorie de 'vraie résistance'. 70 de ces 215 pneumocoques avaient une CMI pour le céfotaxime de plus de 0.5 mg/L ; 8 de ces 70 souches avaient une CMI de plus de 1 mg/L. Les pourcentages de résistance contre la tétracycline et l'érythromycine étaient de 31.7% et 36.5% respectivement. La résistance à l'ofloxacine était de moins de 1%.

En 2001, 214 (15%) des 1427 pneumocoques avaient une sensibilité diminuée pour la pénicilline. Deux de ces souches seulement présentaient une 'vraie résistance' (CMI > 1 mg/L). Sept (3.3%) de ces 214 pneumocoques avaient une sensibilité diminuée pour les céphalosporines de troisième génération. La résistance calculée à la tétracycline a également diminué jusqu'à 30.2%. Le pourcentage de résistance contre l'érythromycine est resté stable (aux environs de 36%). La diminution de la résistance aux  $\beta$ -lactames ne peut pas être clairement expliquée pour le moment ; il est possible que la diminution de l'utilisation de ces antibiotiques joue un rôle déterminant. Cette diminution de l'utilisation des  $\beta$ -lactames est peut-être due aux campagnes de sensibilisation du gouvernement durant les mois d'hiver des dernières années. D'autre part, de nouvelles fluoroquinolones (lévofloxacine, moxifloxacine) sont utilisées de manière croissante pour les infections respiratoires. Il est donc important de suivre de près l'évolution de la résistance contre les fluoroquinolones. Cette résistance repose sur des mutations provoquant la production par les pneumocoques de DNA-gyrases (topo-isomérases)

avec une sensibilité plus faible pour les fluoroquinolones. Une seule mutation n'aboutit pas à une résistance cliniquement importante ; mais plusieurs mutations y aboutissent en général.

En Belgique, la plupart des laboratoires suivent les directives NCCLS (tableaux 3, 4 et 5). Pour déterminer la sensibilité de la pénicilline par la méthode de diffusion, un disque d'oxacilline avec une charge de 1 µg est utilisé comme test de screening. Ce test est effectué sur une gélose Mueller Hinton avec 5% de sang. On utilise une suspension de la souche dans l'eau physiologique stérile avec une densité de 0.5 Mc Farland. L'incubation est effectuée pendant 20-24 heures dans une atmosphère avec 5% CO<sub>2</sub>. Si la zone d'inhibition est d'au moins 20 mm, on peut répondre que le pneumocoque est sensible à la pénicilline (CMI ≤ 0.06 mg/L). Le document NCCLS mentionne explicitement que, dans ce cas, l'amoxicilline, l'ampicilline, le céfépime, le céfotaxime, le ceftriaxone, la céfuroxime, l'imipenem et le méropenem peuvent être utilisés également dans le traitement de l'infection; des tests de diffusions fiables n'existent pas pour ces antibiotiques.

Le "users guide" de Rosco recommande d'utiliser une tablette de ceftizoxime. Si le diamètre de la zone d'inhibition est d'au moins 26 mm, la souche est sensible au céfotaxime et au ceftriaxone.

Si la zone d'inhibition autour du disque d'oxacilline (1 µg) est moins de 20 mm, la souche doit être considérée comme résistante. Il est néanmoins impossible de faire la différence entre les souches résistantes ou intermédiaires. Pour les souches invasives, une CMI doit être déterminée. L'interprétation des résultats se fait à l'aide du tableau 3. En ce qui concerne les céphalosporines de troisième génération, ce document NCCLS (M7-A5, janvier 2002) fait une distinction entre les souches « méningite » et « non-méningite ». Les critères pour quelques nouveaux antibiotiques, tels que le linezolid et le céfépime sont également incorporés dans ce document. La NCCLS conseille la procédure "broth microdilution" dans un Mueller Hinton broth avec 2 à 5% de sang de cheval hémolysé. La plupart des laboratoires belges sont passés au test de diffusion E (AB-biodisk) qui donne des résultats fiables si on tient compte des directives données par le producteur. Les directives suivantes sont importantes:

- Les « strips » sont déposés avec une pincette stérile une dizaine de minutes après le dépôt de l'inoculum sur le milieu.
- Les « strips » ne peuvent jamais être déplacés après qu'ils soient entrés en contact avec le milieu, la diffusion de l'antibiotique se produisant immédiatement.
- Lors de la lecture, il ne faut pas tenir compte de l'hémolyse mais seulement de la croissance.

### **Discussion des résultats**

La souche envoyée était clairement résistante lors du test de screening avec l'oxacilline 1 µg.

Puisqu'il s'agissait d'une souche non invasive, il n'était en fait pas nécessaire d'effectuer une détermination de la CMI (2). Un grand nombre

des laboratoires ont néanmoins effectué cette détermination de la CMI. Les résultats des tests de diffusion sont repris dans les tableaux 6 (disques en papier) et 7 (Neosensitabs, Rosco).

Quelques remarques sont à faire au sujet de ces résultats:

- Une faute fréquente est l'utilisation du test de diffusion pour les antibiotiques pour lesquels il n'existe pas de critère tel que la pénicilline, le méropenem et les céphalosporines de troisième génération.
- Certains laboratoires utilisent les disques vancomycine avec une charge de 5 µg et non pas la charge recommandée de 30 µg. Pour les Neosensitabs par contre, il faut utiliser les charges de 5 µg.

Les résultats des déterminations de la CMI, faites à l'aide du test E sont repris dans le tableau 8.

Tableau 1: Evolution du nombre des pneumocoques retrouvés dans les hémocultures en fonction des catégories d'âge (Belgique, 1994-2001)

	'94 (N=536)	'95 (N=671)	'96 (N=937)	'97 (N=933)	'98 (N=857)	'99 (N=896)	2000 (N=937)	2001 (N=1149)
<5 ans	85	72	102	130	148	148	191	191
5-19 ans	13	30	34	38	34	43	46	56
20-59 ans	128	183	256	256	207	218	221	272
>60 ans	295	386	535	509	468	487	524	631

Tableau 2: Evolution de la résistance contre les antibiotiques des *Streptococcus pneumoniae* (Belgique 1995-2001)

antibiotique	Année nombre (%)						
	1995 (N=992)	1996 (N=1289)	1997 (N=1241)	1998 (N=1205)	1999 (N=1216)	2000 (N=1218)	2001 (N=1427)
pénicilline G	70 (7.1)	122 (9.5)	124 (10)	171 (14.2)	202 (16.5)	215 (17.6)	214 (15)
tétracycline	157 (15.8)	237 (18.4)	288 (23.2)	338 (28.0)	359 (29.4)	386 (31.7)	431 (30.2)
ofloxacine	4 (0.4)	0 (0)	3 (0.2)	2 (0.1)	6 (0.5)	4 (0.3)	2 (0.1)
érytromycine	239 (24.1)	334 (25.9)	355 (28.6)	374 (31.0)	425 (34.8)	445 (36.5)	523 (36.6)

Tableau 3: Critères NCCLS pour *Streptococcus pneumoniae* en mg/L (M7-A5, janvier 2002)

Antibiotique	sensible	intermédiaire	résistant
pénicilline G	≤ 0.06	0.12-1	≥ 2
amoxicilline (non-méningite)	≤ 2	4	≥ 8
céfotaxime (méningite)	≤ 0.5	1	≥ 2
céfotaxime (non-méningite)	≤ 1	2	≥ 4
imipenem	≤ 0.12	0.25-0.5	≥ 1
érytromycine	≤ 0.25	0.5	≥ 1
tétracycline	≤ 2	4	≥ 8
vancomycine	≤ 1	-	-

Tableau 4: Critères NCLLS pour les tests de diffusion pour *S. pneumoniae* en mm (M2-A7, janvier 2002)

Antibiotique	sensible	intermédiaire	résistant
oxacilline (1 µg)	≥ 20	-	
vancomycine	≥ 17		
érythromycine	≥ 21	16-20	≤ 15
ofloxacine	≥ 16	13-15	≤ 18
tétracycline	≥ 23	19-22	≤ 15
co-trimoxazole	≥ 19	16-18	≤ 15
clindamycine	≥ 19	16-18	≤ 15

Tableau 5: Critères NCLLS pour les tests de diffusion avec Neosensitabs pour *S. pneumoniae* en mm ([www.rosco.dk](http://www.rosco.dk), users guide p 79)

Antibiotique	sensible	intermédiaire	résistant
oxacillin (1µg)	≥ 20	≤ 19	≤ 19
vancomycine (5µg)	≥ 16		
érythromycine	≥ 28	24-27	≤ 23
ofloxacine	≥ 20	17-19	≤ 16
tétracycline (10 µg)	≥ 18	15-17	≤ 14
co-trimoxazole	pas de données disponibles		
clindamycine (25 µg)	≥ 28	24-27	≤ 23

Tableau 6: Résultats des zones inhibition des tests de diffusion avec les disques en papier

antibiotique	Nombre de résultats	Charge	Valeur médiane	Dispersion
oxacilline	39	1	8	0-18
pénicilline	14	10	28	22-32
méropenem	28	10	31	22-41
vancomycine	30	30	23	18-29
céfotaxime	15	30	32	22-38
ceftazidime	7	30	31	28-36
ceftriaxone	6	30	29	25-35

Tableau 7: Résultats des zones inhibition des tests de diffusion avec les tablettes Rosco

antibiotique	Nombre de résultats	Charge	Valeur médiane	Dispersion
oxacilline	96	1	15	0-21
pénicilline	40	5	28	20-30
méropenem	68	10	35	5-47
vancomycine	51	5	24	19-32
céfotaxime	37	30	36	25-46
ceftazidime	9	30	30	27-36
ceftriaxone	21	30	34	26-45

Tableau 8: Résultats de la CMI (mg/l) avec le test E

	Nombre de résultats	< 0.06	0.06-0.12	0.12-0.25	0.25-0.5	0.50-1	1-2	2-4
pénicilline	93		1	73	17	2		
céfotaxime	25	5	18	1		1		
ceftriaxone	24	9	13	1		1		
vancomycine	23			11	12			

J. VERHAEGEN (UZ-Leuven)  
K. VERNELEN (WIV-Brussel)

## **REFERENCES**

1. Dowson CG, Coffey TJ, Kell C, Whiley RA. Evolution of penicillin resistance in *S. pneumoniae*: the role of *S. mitis* in the formation of low affinity PBP2B in *S. pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1993;9:635-43.
2. Bartlett JG, Dowel SF, Mandell LA et al. Practice guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2000, 31:347-82.

## 2.4 Culture M/3785 était un *E.aerogenes*

L'identification était facile, ce qui est illustré par le fait que presque tous les laboratoires ont obtenu une identification correcte. *E.aerogenes* est devenu, en contraste avec la situation qui existait il y a une dizaine d'années, un bacille Gram négatif fréquemment retrouvé dans nos hôpitaux. Personnellement, nous avons constaté que des souches produisant un ESBL ont fautivement été identifiées comme *K. pneumoniae* parce que la mobilité et la décarboxylase sont devenues temporairement négatives.

Une identification correcte est entre autres importante parce que cela nous permet de prédire les phénotypes et génotypes de résistance inhérente, et d'anticiper les problèmes qui peuvent se produire au cours de la thérapie.

- L'espèce fait partie des enterobacteriaceae 'inductibles': une  $\beta$ -lactamase chromosomiale est produite en grandes quantités en présence de certaines molécules (fortement inductrices) de  $\beta$ -lactame. Des mutants qui produisent continuellement ces vastes quantités peuvent apparaître et être sélectionnés: ceux-ci sont fréquemment résistants même aux céphalosporines de troisième génération. Ce fait peut se produire sous traitement ; il faut donc être prudent en traitant les infections au *E. aerogenes* avec la plupart des antibiotiques  $\beta$ -lactame (il faut éventuellement prévenir le clinicien d'une résistance secondaire). Si après quelques jours de nouvelles souches sont isolées chez le patient, un nouvel antibiogramme doit être réalisé.
- La  $\beta$ -lactamase chromosomiale est une  $\beta$ -lactamase Amp-C ; une caractéristique importante de cette  $\beta$ -lactamase est de ne pas être bloquée par les inhibiteurs de la  $\beta$ -lactamase (acide clavulanique, tazobactam).
- Une majorité des souches produisent des BLSE ; et on a constaté que ces souches appartiennent pour la plupart, à deux clones qui contiennent soit le TEM-24, soit le TEM-3 (voir les références).
- Il n'est pas exceptionnel de retrouver une résistance contre le carbapenem à cause d'une perméabilité diminuée ou à cause de certaines nouvelles  $\beta$ -lactamases (et combinaison des deux).

G. CLAEYS (UZ-Gent)

## **REFERENCES**

1. Emergence of *Enterobacter aerogenes* as a major antibiotic-resistant nosocomial pathogen in Belgian hospitals. De Gheldre Y, Glupczynski Y, Struelens M, De Mol P. *Clin. Microbiol Infect* 1999;5(10):622-627.
2. TEM derivative-producing *Enterobacter aerogenes* strains: dissemination of a prevalent clone. Dumarche P, De Champs C, Sirot D, Chanal C, Bonnet R, Sirot J. *Antimicrob Agents Chemother* 2002 Apr;46(4):1128-31.
3. National epidemiologic surveys of *Enterobacter aerogenes* in Belgian hospitals from 1996 to 1998. De Gheldre Y, Struelens MJ, Glupczynski Y, De Mol P, Maes N, Nonhoff C, Chetoui H, Sion C, Ronveaux O, Vaneechoutte M; Groupement pour le Dépistage, l'Etude et la Prévention des Infections Hospitalières (GDEPIH-GOSPIZ). *J Clin Microbiol* 2001 Mar;39(3):889-96



## II. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N=229)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

### 3.1 Culture M/2623 *Erysipelothrix rhusiopathiae* (morsure de putois) N= 229

<u>Erysipelothrix rhusiopathiae</u>	206 (90.0%)
Erysipelothrix sp.	7 (3.0%)
Erysipelothrix insidiosa	1
Erysipelothrix tonsillarum	1
Actinomyces meyeri	1
Arcanobacterium pyogenes	1
Capnocytophaga ochracea	1
Capnocytophaga sp.	2
Corynebacterium bovis	1
Pasteurella bettyae	1
Pasteurella multocida	1
Staphylococcus capitis	1
Streptobacillus moniliformis	2
Bacilles Gram positifs	1
Pas de réponse	2

### 3.2 Culture M/3753 *Campylobacter jejuni* (selles) N= 229

<u>Campylobacter species</u>	111 (48.5%)
<u>Campylobacter jejuni</u>	82 (35.8%)
<u>Campylobacter jejuni subsp. jejuni</u>	8 (10.3%)
Campylobacter lari	2
Campylobacter sputorum	1
Campylobacter coli	1
Helicobacter jejuni	1
Absence de croissance	19
Pas de coprocultures au labo	2
Pas de réponse	2

Il est à noter que 5 laboratoires qui n'ont pas obtenu une croissance du germe, ont supposé qu'il s'agissait d'un Campylobacter sur base de la coloration de Gram.

### 3.3 Culture M/3759 *Streptococcus pneumoniae* (aspiration bronchique) N= 229

<u>Streptococcus pneumoniae</u>	222 (96.9%)
<u>Pneumococcus</u>	4 (1.7%)
<u>Diplococcus pneumoniae</u>	1
Pneumococcus pneumoniae	1
Pas de réponse	1

Les réponses à la question de savoir si le germe présentait envers la pénicilline une sensibilité, une sensibilité diminuée ou une résistance sont réparties comme suit :

- 18 laboratoires n'ont pas donné de réponse :
  - o 1 laboratoire n'a pas identifié le pneumocoque
  - o 1 laboratoire n'effectue pas d'antibiogramme
  - o 14 laboratoires n'effectuent pas de détermination de la CMI ; quelques-uns mentionnent qu'il est impossible de répondre à la question sans effectuer une CMI
  - o 2 laboratoires ont effectué la détermination de la CMI mais n'ont pas répondu à la question
- 6 laboratoires ont mentionné « sensibilité diminuée ou résistance » ; la différence ne peut être faite qu'avec la détermination de la CMI ; hors ces laboratoires n'effectuent pas eux-mêmes la détermination de la CMI ; si nécessaire, l'échantillon est envoyé à un laboratoire de référence
- 173 laboratoires ont répondu « sensibilité diminuée » ; 139 ont donné cette réponse sur base d'une détermination de la CMI ; 34 l'ont donnée sans avoir fait une détermination de la CMI
- 22 laboratoires ont répondu « résistance » ; 2 ont donné cette réponse sur base d'une détermination de la CMI ; 20 l'ont donnée sans avoir fait une détermination de la CMI
- 10 laboratoires ont répondu « sensibilité » ; 2 ont donné cette réponse sur base d'une détermination de la CMI ; 8 l'ont donnée sans avoir fait une détermination de la CMI

#### **3.4 Culture M/3785 *Enterobacter aerogenes* (urines)** **N= 229**

<u>Enterobacter aerogenes</u>	227 (99.1%)
Enterobacter sp.	1
Enterobacter aerogenes + levures	1

## IV. ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme type a été réalisé par plusieurs experts selon les deux méthodes les plus couramment utilisées et pouvant servir de référence : méthode de diffusion sur disque selon NCCLS et ROSCO (NEO-SENSITABS).

### 4.1 Culture M/3753

177 laboratoires ont effectué des tests de sensibilité sur au moins un antibiotique ; certains laboratoires ont effectué ces tests avec plusieurs méthodes.

36 laboratoires ont mentionné ne pas effectuer un antibiogramme pour le *Campylobacter* puisque les directives NCCLS sont inexistantes pour ce germe. D'autres laboratoires ont mentionné utiliser d'autres directives que les NCCLS, à savoir: SFM, ROSCO, Manual of Clinical Microbiology 7th edition, Prof. Butzler (obtenu par l'intermédiaire de BioMérieux), propres directives. Il est à remarquer qu'un certain nombre de laboratoires qui ont mentionné ne pas effectuer d'antibiogramme pour le *Campylobacter* en routine, ont quand même effectué cet antibiogramme lors du contrôle externe de qualité.

Un laboratoire n'effectue pas l'antibiogramme pour le *Campylobacter* mais envoie ses échantillons à un autre laboratoire.

Tableau 4.1.1. Les résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/3753

	Résultat attendu	S	I	R
erythromycine	S	150		
ciprofloxacine	R	3		130
ampicilline	R	26	19	75
amoxicilline+acide clavulanique	S	111		5
gentamicine	S	112	1	1
céfotaxime	R	13	21	55

Tous les laboratoires n'ont pas mentionné la méthode utilisée. Pour ce qui concerne les laboratoires qui ont mentionné la méthode et les diamètres, nous avons déterminé le diamètre moyen, minimum et maximum pour la méthode de diffusion sur disque selon NCCLS et ROSCO (NEO-SENSITABS).

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion sur disque selon NCCLS pour l'échantillon M/3753

	Nombre d'utilisateurs	Charge	Diamètre moyen	Diamètre minimum	Diamètre maximum
erythromycine	41	15	28	19	42
ciprofloxacine	35	5	3	0	7
ampicilline	35	10	8	0	25
amoxicilline+acide clavulanique <sup>1</sup>	17	30/15	28	6	52
	12	20/10	30	14	45
gentamicine <sup>2</sup>	21	10	2	17	40
céfotaxime	24	30	11	0	18

<sup>1</sup> Pour l'amoxicilline/acide clavulanique, 2 types de disques avec différentes charges sont disponibles.

<sup>2</sup> Les participants utilisant la « high level gentamicine » n'ont pas été pris en compte lors de l'interprétation des diamètres, la « high level » gentamicine n'étant conseillée que pour les entérocoques.

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion sur disque selon ROSCO pour l'échantillon M/3753

	Nombre d'utilisateurs	Charge	Diamètre moyen	Diamètre minimum	Diamètre maximum
erythromycine	103	78	36	25	60
ciprofloxacine	90	10	6	0	30
ampicilline	83	33	20	0	30
amoxicilline+acide clavulanique	82	30/15	38	21	56
gentamicine <sup>1</sup>	54	40	35	25	60
céfotaxime	62	30	20	0	32

<sup>1</sup> Les participants utilisant la « high level gentamicine » n'ont pas été pris en compte lors de l'interprétation des diamètres, la « high level » gentamicine n'étant conseillée que pour les entérocoques.

## 4.2 Culture M/3759

228 laboratoires ont effectué des tests de sensibilité sur au moins un antibiotique. Certains laboratoires ont effectué ces tests avec plusieurs méthodes.

La plupart des laboratoires ont effectué des tests de diffusion et des déterminations de CMI. Six laboratoires ont mentionné la nécessité d'effectuer la détermination d'une CMI pour un ou plusieurs antibiotiques, mais ils ne disposent pas de cette technique dans leur laboratoire ; par conséquent, ils envoient ces souches à un autre laboratoire (de référence).

Dans le tableau 4.2.1. ci-dessous, il n'y a qu'un résultat repris par antibiotique par laboratoire. Dans la majorité des cas les résultats des tests de diffusion ont été confirmés par ceux des déterminations de CMI. ; pour trois laboratoires, qui obtenaient un résultat « R » avec les disques et un résultat « I » avec la CMI, ce dernier résultat a été retenu (pour déterminer une résistance des *pneumocoques* envers la pénicilline la détermination de CMI est la méthode la plus appropriée).

Tableau 4.2.1. Les résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/3759

	Résultat attendu	S	I	I/R	R
oxacilline		8	15	1	108
pénicilline	I	11	151	5	39
méropenem	S	104	2		5
vancomycine	S	192			
céphalosporine 3e gén					
céfotaxime	S	89	2		
ceftazidime	S	15	1		
ceftriaxone	S	48		1	
ceftizoxime	S	1			
«céphalosporine» <sup>1</sup>	S	25			1

<sup>1</sup> Un certain nombre de participants n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine testée.

Les résultats des zones d'inhibition et les résultats de la CMI avec le E-test ont déjà été discutés dans le commentaire.

## V. PARASITOLOGIE

### 5.1. Les échantillons

L'échantillon P/3628 contenait plusieurs parasites. Les parasites les plus fréquemment retrouvés sont décrits dans le chapitre 5.3. Commentaire.

L'échantillon P/3907 était supposé négatif. Malheureusement les résultats de l'enquête ont démontré que certains échantillons contenaient quand même une petite quantité de cryptosporidies. Les laboratoires qui ont déclaré leur échantillon négatif tout comme ceux qui ont découvert la présence des parasites mentionnés ci-dessus, ont donné une réponse qui peut être considérée comme correcte.

### 5.2. Les résultats

#### Echantillon P/3628

217 laboratoires ont retrouvé au total 798 parasites. Le tableau 5.1. reprend les parasites retrouvés. Le tableau 5.2. reprend le nombre de parasites retrouvés en fonction du nombre de laboratoires.

Tableau 5.1. Parasites retrouvés dans l'échantillon P/3628

Parasite	Nombre
Trichuris trichiura	188
Entamoeba histolytica <sup>1</sup>	162
Hymenolepis nana	131
Endolimax nana	102
Giardia lamblia	78
Ascaris lumbricoides	33
Blastocystis hominis	32
Entamoeba coli	16
Entamoeba hartmanni	12
Entamoeba histolytica/dispar <sup>1</sup>	10
Hymenolepis diminuta	8
Iodamoeba butschlii	7
Cryptosporidium species	5
Cyclospora species	4
Entamoeba species	2
Taenia species	1
Entamoeba gingivalis	1
Entamoeba dispar <sup>1</sup>	1
Echinococcus granulosus	1
Dientamoeba fragilis	1
Chilomastix mesnii	1
Coccidies <sup>2</sup>	1
Amibes non pathogènes <sup>3</sup>	1
<b>Total</b>	<b>798</b>

<sup>1</sup> Dix laboratoires ont répondu *Entamoeba histolytica/dispar* sans pour autant faire la différence entre les deux; 162 ont répondu *E. histolytica* et un *E. dispar*.

<sup>2</sup> Un laboratoire a mentionné "coccidies (*Cyclospora* ou *Cryptosporidium*)".

<sup>3</sup> Un laboratoire a mentionné non seulement *T. trichiura*, *H. nana*, *G. lamblia* et *E. histolytica*, mais aussi « la présence d'amibes non pathogènes ».

Tableau 5.2. Nombre de parasites retrouvés par laboratoire pour l'échantillon P/3628

Nombre de parasites retrouvés	Nombre de laboratoires
1	8
2	27
3	74
4	53
5	32
6	20
7	2
8	1

Pour les parasites retrouvés le plus fréquemment, les stades suivants du cycle évolutif ont été mentionnés :

- *A. lumbricoides*: oeuf (32) et embryophore (1)
- *B. hominis* : kyste (6), trophozoïte (3) et non précisé (23)
- *E. nana*: kyste (96), oeuf (1), oocyste (1) et non précisé (4)
- *E. histolytica*: kyste (154), trophozoïte (5), oocyste (2), oeuf (1) et non précisé (5). (5 laboratoires ont mentionné 2 stades évolutifs: kyste et trophozoïte)
- *G. lamblia*: kyste (73), oeuf (2), trophozoïte (1) et non précisé (2)
- *H. nana*: oeuf (125), kyste (4), embryophore (1) et non précisé (1)
- *T. trichiura*: oeuf (181), kyste (3), embryophore (2) et non précisé (2)

Pour quelques parasites retrouvés moins fréquemment (*E. hartmanni* et *I. butschlii*), il y a également chaque fois un laboratoire qui a mentionné 2 stades évolutifs (kyste et trophozoïte).

### **Echantillon P/3907**

209 laboratoires ont renvoyé une réponse (8 laboratoires qui ont donné une réponse pour l'échantillon P/3628 ne l'ont pas donnée pour l'échantillon P/3907) ; au total, il y a eu 227 résultats. Il est à noter que 12 laboratoires ont mentionné 2 parasites et qu'un laboratoire en a mentionné 3. En outre, il y a 4 laboratoires (dont un des 12 qui a retrouvé 2 parasites) qui mentionnent tant « absence de parasites » que un (ou 2 dans un des cas) parasite(s). Si on enlève ces 4 « absence de parasites » de la liste avec les résultats, il reste 223 résultats interprétables. Un résumé de ces résultats est repris dans le tableau 5.3.

Tableau 5.3. Parasites retrouvés dans l'échantillon P/3907

Parasites	Nombre
Absence de parasites	112
<i>Cryptosporidium</i> species	55
<i>Ascaris lumbricoides</i>	18
<i>Blastocystis hominis</i>	14
<i>Cyclospora</i> species	12
<i>Hymenolepis nana</i>	4
<i>Trichuris trichiura</i>	4
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1
<b>Total</b>	<b>223</b>

Pour *Cryptosporidium spp.* les stades évolutifs suivants ont été mentionnés: oocyste (50), kyste (4) et non précisé (1).

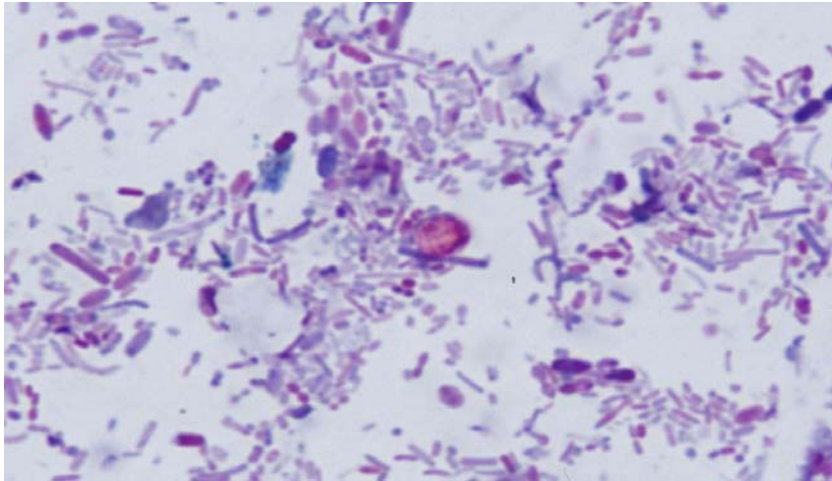


Figure 5.2.1 *Cryptosporidium* spp. (Echantillon P/3907)

### 5.3. Commentaire

#### 5.3.1. Echantillon P/3628

Cet échantillon était un mélange des différents échantillons des membres d'une même famille d'Afrique orientale. Helminthes et protozoaires sont retrouvés chez une partie considérable de la population africaine (2, 4, 6); il n'est donc pas étonnant de retrouver un grand nombre d'espèces différentes. Nous limiterons la discussion aux helminthes et protozoaires les plus fréquemment présents dans l'échantillon.

##### A. *Trichuris trichiura*

*Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides* et *Ancylostoma duodenale* ou *Necator Americanus* (deux vers apparentés avec une distribution géographique différente) sont les helminthes les plus répandus (2,4). On estime qu'au moins un milliard d'hommes sont infectés avec chacune de ces trois espèces (4). Ce sont tous les trois des vers ronds. Jusqu'à 50% et plus des enfants africains en âge scolaire sont parasités avec ces trois espèces (2). L'œuf (50-55 µm) de *Trichuris* a un aspect typique, ressemblant à un citron (figure 5.3.1). La larve sort de l'œuf dans le duodénum et migre vers le cæcum où elle se développe. Les formes adultes (4 à 5 cm pour une femelle adulte; tricocéphale ou whipworm en anglais, ressemblant à un long fouet) vivent avec la partie frontale enterrée dans la muqueuse du cæcum et du côlon. Les infections, avec un nombre modéré de *Trichuris trichiura*, sont généralement bien supportées. En cas d'infections très massives, un prolapsus rectal est possible. Des espèces

apparentées avec des oeufs analogues existent chez les animaux. Le mébendazole est toujours considéré comme traitement de choix (2,3).



Figure 5.3.1. Oeuf typique de *Trichuris trichiura* (incolore)

## B. *Entamoeba histolytica*

Plusieurs amibes, dont *Entamoeba histolytica*, peuvent parasiter l'homme. *E. histolytica* est considérée comme l'espèce la plus redoutée parce qu'elle peut envahir les tissus. Les infections à *E. histolytica* sont fréquentes dans les tropiques. Dans notre pays, la plupart des infections sont donc retrouvées chez des voyageurs venant des régions tropicales ou subtropicales. Les autres groupes à risques sont des patients d'institutions psychiatriques, homosexuels masculins (*E. histolytica* est retrouvé dans le 'gay bowel syndrome'), et patients avec une immunité diminuée comme entre autres des patients souffrant du SIDA. *E. histolytica* doit être différenciée d'*Entamoeba dispar*, une espèce morphologiquement identique, mais non-pathogène. La différence entre cette dernière espèce et *E. histolytica* peut être déterminée avec différentes techniques compliquées (profils d'iso-enzymes, PCR,...), mais celles-ci ne sont pas pratiquées en routine (1,5). Cette différenciation à l'aide de la PCR est effectuée à l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers sur des selles fraîches, congelées ou formolisées (4%). Selon ce laboratoire, la répartition en Belgique est de 98% *Entamoeba dispar* et 2% *Entamoeba histolytica*. La transmission se fait par voie faeco-orale, éventuellement indirecte par l'eau ou de la nourriture infectée.

*E. histolytica* est l'agent causal de la dysenterie amibienne. Dans cette infection, les *E. histolytica* envahissent la sous-muqueuse du côlon. Ces ulcérations sont facilement infectées par des bactéries intestinales, ce qui peut résulter dans un mégacôlon toxique. Des ulcérations chroniques peuvent évoluer vers des amoebomes qui peuvent être confondus avec des masses tumorales. Les selles contiennent des globules blancs, des globules rouges et du mucus. Dans de rares cas, une dissémination hématogène peut produire un abcès extra-intestinal, d'habitude situé dans le lobe droit du



foie mais des localisations pulmonaires et autres ont aussi été retrouvées. Un abcès du foie avec *E. histolytica* est rarement retrouvé en dehors des tropiques. On suspecte que d'autres co-facteurs jouent un rôle dans l'origine d'un tel abcès du foie. L'amibiase ne cause pas d'éosinophilie. Dans le cas de formation d'un abcès, les paramètres infectieux classiques et les résultats des tests hépatiques sont anormaux. Le diagnostic de laboratoire d'un abcès amibien se fait à l'aide d'une sérologie spécifique (effectuée à l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers). La dysenterie amibienne est diagnostiquée par un examen parasitologique sur des selles très fraîches ou sur des biopsies. Des grands trophozoïtes mobiles hématophages ( $> 20\mu\text{m}$ , formes 'magna') permettent le diagnostic. Des petits trophozoïtes (formes 'minuta'), prekystes et surtout kystes ( $10\text{-}15\ \mu\text{m}$ , figure 2 et 3) sont retrouvés chez des personnes infectées tant avec *E. histolytica* qu'avec l'espèce non-pathogène *E. dispar*. En ce qui concerne le traitement, nous vous référons au Sanford.



Figure 5.3.2. Kyste avec deux noyaux visibles d'*Entamoeba histolytica*. Les éléments typiques sont le caryosome central et la chromatine périphérique des noyaux (coloration au Lugol).



Figure 5.3.3. Kyste d'*Entamoeba histolytica* avec un bâtonnet épais. Le seul noyau visible est en dehors du foyer optique (coloration au Lugol).

**C. *Hymenolepis nana***

Voir rapport global 03/2000.



Figure 5.3.4: Oeuf typique incolore (30-50  $\mu\text{m}$ ) d'*Hymenolepis nana*. L'oncosphère hexacanthé (avec trois paires de crochets) est entourée par un embryophore qui contient deux éléments polaires d'où partent 4 à 8 filaments. Le tout est entouré d'une fine coque externe (incolore).

**D. *Endolimax nana***

Cette amibe non-pathogène est retrouvée fréquemment, également en dehors des tropiques. Avec le Lugol, les kystes (5-10  $\mu\text{m}$ ) sont brun jaunâtre et la chromatine du noyau peut être observée facilement. Les kystes plus âgés (dans des selles non fraîches) sont plus difficiles à reconnaître puisque la structure du noyau se ternit.

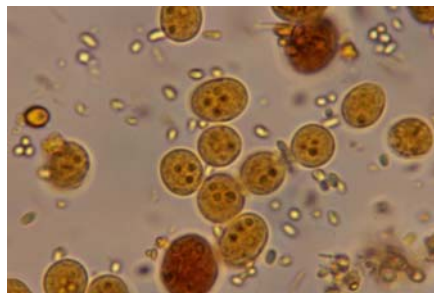


Figure 5.3.5: Les kystes d'*Endolimax nana* contiennent quatre noyaux avec une chromatine en amas. Les deux kystes plus grands et foncés sont des *Giardia lamblia* (coloration au Lugol).

M. LONTIE (MCH, Leuven)  
K. VERNELEN (WIV, Brussel)

## **REFERENCES**

1. Blessmann J., Buss H., Ton Nu P. *et al.* 2002. Real-Time PCR for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in fecal samples. *Journal of Clinical Microbiology* 40:4413-4417.
2. Gatti F., Krubwa F., Lontie M., Vandepitte J. & Thienpont D. 1972. Clinical experience with mebendazole – A new broad-spectrum anthelmintic. *Advances in Antimicrobial and Antineoplastic Chemotherapy*, 453-455.
3. Sanford J., Gilbert D., Moellering R. & Sande M. 2002. *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2002-2003*. Antimicrobial Therapy, Inc. Vermont.
4. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~parasite/estimates.html>
5. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/Default.htm>
6. <http://www.who.int/ctd/intpara/burdens.htm>

## VI. SEROLOGIE

### 6.1. VIH

#### 6.1.1. Description des échantillons

Nous avons envoyé trois plasmas inactivés et défibrinés à la thrombine:

- S/3850 : est un plasma positif
- S/3851 : est un plasma positif
- S/3852 : est un plasma négatif

#### 6.1.2. Les participants

Au total, 221 laboratoires ont pris part à cette enquête.

Plusieurs laboratoires ont effectué plus d'un test par échantillon.

Sur les deux échantillons, S/3850 et S/3851, 187 laboratoires ont effectué 1 test, 29 laboratoires ont effectué 2 tests et 5 laboratoires en ont effectué 3 ; soit au total 260 tests par échantillon.

Sur l'échantillon S/3852 252 tests ont été effectués.

195 laboratoires ont effectué 1 test, 21 laboratoires ont effectué 2 tests et 5 laboratoires en ont effectué 3 ; 2 des 21 laboratoires qui ont effectué deux tests ont répété le même test (probablement parce qu'ils doutaient du résultat).

### 6.1.2. Réactifs utilisés

Le tableau suivant reprend le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs:

Fabricant	Réactif	Echantillon S/3850	Echantillon S/3851	Echantillon S/3852
Abbott	AxSYM HIV-1/2gO	101	101	102
	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	9	9	9
	DETERMINE HIV 1/2	7	7	7
	HIV-1/2gO EIA	4	4	4
	IMx HIV-1/HIV-2 III PLUS	3	3	3
	MUREX HIV-1.2.0	5	5	5
	PRISM HIV 0 PLUS	2	2	3
	<b>Total Abbott</b>	<b>131</b>	<b>131</b>	<b>133</b>
BioMérieux	VIDAS HIV DUO	66	66	59
	VIDAS HIV p24 II	1	1	
	<b>Total BioMérieux</b>	<b>67</b>	<b>67</b>	<b>59</b>
BioRad	Access HIV 1/2 new	25	25	25
	Genscreen HIV 1/2 Version 2	1	1	1
	<b>Total BioRad</b>	<b>26</b>	<b>26</b>	<b>26</b>
Biotest	Biotest HIV Tetra kit	6	6	6
	<b>Total Biotest</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
DadeBehring	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1	1
	Enzygnost HIV integral	8	8	8
	<b>Total DadeBehring</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>9</b>
Fujirebio	Serodia HIV 1/2	1	1	1
	<b>Total Fujirebio</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
Innogenetics	Inno-Lia HIV confirmation	1	1	
	<b>Total Innogenetics</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	
Organon Teknika	Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab	2	2	2
	<b>Total Organon</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
Ortho Diagnostics	HIV1/HIV2-Ab-Capture Elisa test	2	2	2
	VITROS immunodiagnostic product anti HIV 1+2	14	14	13
	<b>Total Ortho</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>15</b>
Non spécifié	Antigen p24	1	1	1
	<b>Total non spécifié</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

### 6.1.4. Résultats

Pour les échantillons S/3850 et S/3851, nous constatons des résultats similaires. Tous les tests de screening étaient positifs. Deux laboratoires ont effectué la détermination de l'antigène p24 (ce qui n'était pas demandé); ces déterminations étaient négatives sur les deux échantillons, ce qui a été confirmé par le laboratoire de référence. Un de ces deux laboratoires a effectué en outre des tests de confirmation, qui étaient positifs pour les deux échantillons.

Seuls, quatre laboratoires n'enverraient pas ces échantillons à un laboratoire de référence ; parmi ces 4 laboratoires se trouvent les deux laboratoires qui ont effectué la détermination de l'antigène p24.

Six laboratoires ont obtenu un résultat positif pour l'échantillon S/3852 : un de ces laboratoires a même obtenu ce résultat avec deux tests différents ; deux des six laboratoires ont répété le test avec le même réactif et ont obtenu une fois un résultat positif et une fois un résultat négatif.

Trois autres laboratoires ont obtenu un résultat borderline. Un de ces 3 laboratoires obtenait un résultat borderline avec un réactif et un résultat négatif avec un autre réactif.

Donc quatre résultats faux positifs et 1 résultat borderline ont été obtenus avec le réactif AxSYM HIV 1/2 gO d'Abbott; 1 résultat faux positif a été obtenu avec le réactif apparenté HIV 1/2 gO. Une explication possible est que ces laboratoires n'ont pas suivi les directives prescrites pour cette technique avec des échantillons troubles : en effet Abbott conseille de centrifuger ces échantillons pendant 10 minutes à 10 000 g (d'ailleurs, il est conseillé d'effectuer une telle manipulation pour des échantillons décongelés).

Cinq des six laboratoires avec un résultat positif et les trois laboratoires avec un résultat borderline enverraient l'échantillon à un laboratoire de référence ; un des laboratoires qui a obtenu un résultat discordant positif/négatif ne mentionne pas si l'échantillon serait envoyé au laboratoire de référence.

A noter qu'un laboratoire a mentionné qu'il enverrait l'échantillon S/3852 au laboratoire de référence alors que le résultat obtenu est négatif.

#### **6.1.5. Commentaires**

Deux échantillons (S/3850 et S/3851) sont des échantillons confirmés positifs pour les anticorps VIH. L'antigène p24 est négatif.

Ces deux échantillons doivent être envoyés à un laboratoire de référence pour confirmation. La recherche de l'antigène p24 n'est pas un test de confirmation. En effet, l'antigène se retrouve au tout début de l'infection et encore brièvement et de façon inconstante ; et lorsque le virus se réplique intensément au stade Sida. Ceci ne se rencontre plus guère car la plupart des patients sont sous traitements antiviraux.

L'échantillon S/3852 est négatif.

Les laboratoires de référence ont trouvé cet échantillon parfaitement négatif ; et quels que soient les tests utilisés, aucun résultat n'a été trouvé « borderline ».

D. SONDAG-THULL (Centre de transfusion, Liège)