

ISP
Rue J. Wytsman, 14
B-1050 BRUXELLES

SERVICE PUBLIC FEDERAL, SANTE PUBLIQUE, SECURITE DE LA CHAINE
ALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT
COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE

SERVICE DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS

RAPPORT GLOBAL

EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE DES ANALYSES EN BIOLOGIE CLINIQUE

MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE

ENQUETE 01/2004

Microbiologie (identifications)

Scopulariopsis brevicaulis
Salmonella Cerro
Haemophilus influenzae
Streptococcus pneumoniae

Parasitologie

Hymenolepis nana
Giardia lamblia
Ascaris lumbricoides

Sérologie

HAV
HBV

Tous les rapports sont également à consulter sur notre site web :
http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/FR/Rapport_globaux_microbiologie_choix.htm

ISP-LP/01/04/Micro./Sero./Para. 55

COMITE DES EXPERTS EN MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

ISP-LP (secrétariat) : 02/642.55.21 - FAX : 02/642.56.45
(Dr. K. VERNELEN) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coordinateur) : e-mail : k.vernelen@iph.fgov.be
Dr. BODEUS Monique : 02/764.34.20 - FAX :
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59
: e-mail : geert.claeys@rug.ac.be
Dr. CROKAERT Françoise : 02/541.37.00 – FAX : 02/541.32.95
: e-mail : fcrokaer@ulb.ac.be et nathalie.cardinal@bordet.be
Apr. CRUCITTI Tania : 03/247.65.52 – FAX : 03/247.64.40
: e-mail : tcrucitti@itg.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.40.59 – FAX : 053/72.42.72
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves : 081/42.32.00 – FAX : 081/42.32.04
: e-mail : yves.degheldre@mont.ucl.ac.be
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.30
: e-mail : Anne_DEDISTE@saintpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. JADIN Jean-Marie : 064/23.40.81 – FAX : 064/23.38.47
: e-mail :
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
: e-mail : marc_lontie@mchlvwo.be
Dr. LUYASU Victor : 010/43.74.63 - FAX : 02/653.91.20
: e-mail : v.luyasu@interweb.be
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@az.vub.ac.be
Dr. VAN RANST Marc : 016/34.79.08 – FAX : 016/34.79.00
: e-mail : marc.vanranst@uz.kuleuven.ac.be
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – Fax : 016/34.79.31
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be
Dr. VERVOORT Tony : 03/247.64.36 - FAX : 03/247.64.40
: e-mail : tvervoort@poliklin.itg.be

I. REMARQUES GENERALES

Pour la première enquête du cycle 2004/1 (enquête 2004/1), le matériel suivant a été expédié le 19 janvier 2004.

1.1. Quatre échantillons pour identification.

Trois échantillons lyophilisés et un échantillon de desquamation de peau.
Pour un échantillon, les tests de sensibilité ont été demandés.

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

1.3. Deux échantillons lyophilisés de plasma pour la détermination des tests de HAV et HBV.

NOMBRE DES PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables était de :

- | | | | |
|----|--------------------------|---|-----|
| 1. | Pour les identifications | : | 207 |
| 2. | Pour la parasitologie | : | 196 |
| 3. | Pour la sérologie | : | |
| | HAV | : | 192 |
| | HBV | : | 203 |

Nous remercions le Pharmacien Biologiste Marc LONTIE pour la disposition des photographies dans ce rapport global.

II. IDENTIFICATION

2.1 Culture M/4729 *Scopulariopsis brevicaulis*

Taxonomie :

Les *Scopulariopsis sp.* appartiennent aux *Ascomycota* et rentrent dans la famille des *Microascaceae*. L'espèce la mieux connue est *Scopulariopsis brevicaulis* dont la forme sexuée est appelée *Microascus brevicaulis*.

Le fruit est sphérique, brun foncé à noir et muni d'un goulot permettant la sortie des ascospores (spores sexuées). Mais l'identification du champignon repose essentiellement sur sa forme asexuée, celle que vous avez obtenue en culture suite à l'ensemencement du matériel qui vous a été envoyé.

Identification en culture :

Scopulariopsis brevicaulis pousse relativement vite en primoculture. Au bout d'une semaine sur milieu de Sabouraud, on obtient une culture poudreuse, de couleur rose/ocre. Ce champignon pousse également sur les milieux contenant de l'actidione à 0.05%, milieux fréquemment utilisés en routine notamment pour l'isolement des dermatophytes.

Un examen direct permet de voir des spores (5-8 x 5-7 µm), hyalines, sphériques à ovoides avec une base tronquée, ressemblant à de petits lampions. Leur paroi est échinulée. Elles sont produites successivement à l'extrémité des filaments et y laissent, lorsqu'elles se détachent, une cicatrice annulaire. Le nombre de cicatrices dénombrées au bout d'un filament correspond au nombre de spores produites.

Biotope :

Les *Scopulariopsis sp.* sont des champignons exosaprophytes, c'est-à-dire qu'ils vivent librement dans l'environnement et rentrent dans la catégorie des champignons opportunistes.

Images cliniques :

S. brevicaulis est essentiellement connu comme agent d'onychomycoses diagnostiquées chez des personnes âgées et localisées au niveau du gros orteil (Baran *et al.*, Les onychomycoses : approche diagnostique. J. Mycol. Méd. 2001, 11 : 5-13). Comme facteur favorisant, on cite entre autres les problèmes vasculaires. Ce champignon ne s'attaque que rarement à la peau glabre, cette localisation étant, tout comme les rares infections sous-cutanées et profondes, rencontrées chez des patients compromis (Sellier *et al.*, Recurrent subcutaneous infection due to *S. brevicaulis* in a liver transplant recipient. CID 2000, 30 : 820-823). La littérature renseigne quelques rares cas de mycoses provoquées par d'autres espèces de *Scopulariopsis* ou par les *Microascus* correspondants (Baddley *et al.*, *Microascus cinereus* Brain Abscess in a Bone Marrow Transplant Recipient. J. Clin. Microbiol. 2000, 38 : 395-397).

Identification à l'examen direct :

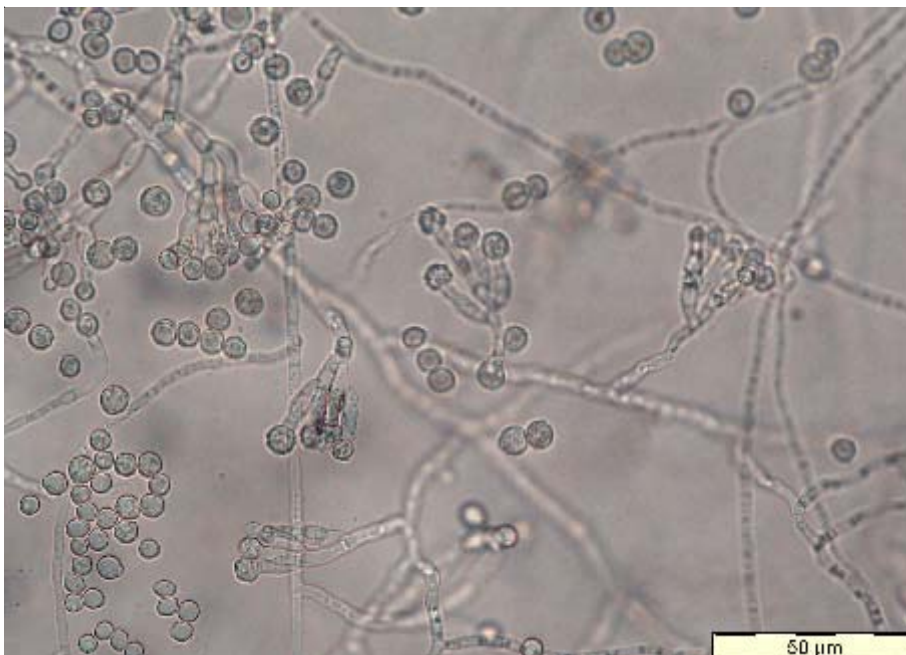
L'examen direct de squames ou de d'ongles parasités par *Scopulariopsis brevicaulis* montre la présence de spores dont la morphologie est suffisamment proche de celle des spores obtenues en culture que pour permettre le diagnostic. Le diagnostic repose donc le plus souvent sur le simple examen direct, la culture n'étant réalisée que pour confirmer le diagnostic.

Traitement :

Le traitement des onychomycoses par *Scopulariopsis brevicaulis*, d'autant plus si elles sont observées chez des personnes âgées, sera de préférence local (par ex. amorolfine). Si l'on opte pour un traitement par voie orale, les préférences vont à l'itraconazole et à la terbinafine (Gupta & Gregurek-Novak, Efficacy of itraconazole, terbinafine, fluconazole, griseofulvin and ketoconazole in the treatment of *Scopulariopsis brevicaulis* causing onychomycosis of the toes. *Dermatology* 2001, 202 : 235-238).

D. Swinne, ISP, Bruxelles

Figure 2.1. *S. brevicaulis* en culture



2.2. Culture M/4814 *Salmonella cerro*

Une enquête externe de la qualité a été menée sur cette culture afin de vérifier l'identification et la terminologie utilisée par les différents laboratoires comme lors des enquêtes 02/2000 (culture M/903), 02/2002 (culture M/3093) et 01/2003 (culture M4063).

Le germe envoyé était une *Salmonella enterica*, sous-espèce *enterica*, sérovar Cerro avec la formule antigénique suivante : 6,8,18:z₄,z₂₃:[1,5]

Pour l'utilisation des milieux d'isolement différentiel et les bases phénotypiques de l'identification, se référer respectivement aux rapports des enquêtes 02/2002 et 01/2003.

De manière générale, les laboratoires de routine identifient biochimiquement les salmonelles jusqu'au genre et confirment le diagnostic par un test sérologique (généralement sérums polyvalents ou plus rarement sérums correspondant aux sérotypes les plus fréquents : O:4,5 (B) - O:6,7,8 (C₁,C₂,C₃) - O:9 (D₁); environ 90% des souches d'origine humaine). La détermination du sérovar ou sérotype sur base du schéma de Kauffmann-White revient alors au Centre de Référence National.

Taxonomie des Salmonella

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* et contient deux espèces:

S. enterica qui se subdivise en 6 sous espèces:

- 1) *S. enterica* sous espèce *enterica* (1478 sérovars) ou sous espèce I
- 2) *S. enterica* sous espèce *salamae* (489 sérovars) ou sous espèce II
- 3) *S. enterica* sous espèce *arizonae* (94 sérovars) ou sous espèce IIIa
- 4) *S. enterica* sous espèce *diarizonae* (327 sérovars) ou sous espèce IIIb
- 5) *S. enterica* sous espèce *houtenae* (71 sérovars) ou sous espèce IV
- 6) *S. enterica* sous espèce *indica* (12 sérovars) ou sous espèce VI

S. bongori (20 serovars)

Nombre de sérovars officiellement publiés dans M.Y. Popoff. Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* (2001) 8ème édition. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*.

Identification antigénique

La détermination du sérotype des salmonelles se fait par la recherche des antigènes somatiques O, flagellaires H et de surface (Vi) selon le schéma de Kauffmann et White. L'antigène Vi est uniquement retrouvé chez Typhi, Paratyphi C et quelques rares cas de Dublin.

La grande majorité des antigènes H existent sous une forme biphasique, c'est à dire possédant deux spécificités antigéniques différentes. Certains sérovars important comme Enteritidis (1,9,12:g,m:-) sont monophasiques.

Les antigènes qui varient facilement par mutation sont placés entre crochets et ceux qui ont un déterminisme phagique ou plasmidique sont soulignés (ils peuvent être perdus ou acquis à tout moment).

Dans certains cas, le facteur O accessoire (placé entre crochet) pourra être recherché pour préciser la variété antigénique.

ex.: la présence du facteur O:5 permet de diviser le sérovar Typhimurium en Typhimurium = 1,4,[5],12:i:1,2

ou en Typhimurium var. Copenhagen = 1,4,12:i:1,2

Les groupes O les premiers individualisés furent initialement désignés par les lettres de l'alphabet. Ayant utilisés toutes les lettres, il fut nécessaire de poursuivre par des chiffres (de 51 à 67). Il est actuellement recommandé l'usage des chiffres à l'usage des lettres qui sont encore provisoirement conservées entre parenthèses. Ex O:4 (B) ; O:18 (K) (Tableau 2.2.1.).

Tableau 2.2.1. Désignation des groupes O

| Alphabétique | Actuelle | Alphabétique | Actuelle | Alphabétique | Actuelle |
|--|----------|--------------------------------|----------|--------------|----------|
| A | 2 | G ₁ -G ₂ | 13 | Q | 39 |
| B | 4 | H | 6,14 | R | 40 |
| C ₁ -C ₄ | 6,7 | I | 16 | S | 41 |
| C ₂ -C ₃ | 8 | J | 17 | T | 42 |
| D ₁ | 9 | K | 18 | U | 43 |
| D ₂ | 9,46 | L | 21 | V | 44 |
| D ₃ | 9,46,27 | M | 28 | W | 45 |
| E ₁ -E ₂ -E ₃ | 3,10 | N | 30 | X | 47 |
| E ₄ | 1,3,19 | O | 35 | Y | 48 |
| F | 11 | P | 38 | Z | 50 |

En cas de nécessité des tests biochimiques complémentaires aux agglutinations sont effectués pour différencier les différentes sous-espèces.

Résultats :

Culture M/4814 *Salmonella* Cerro (selles) - *Salmonella* I 6,8,18:z₄,z₂₃: [1,5] - groupe O18 ou anciennement K

N = 207

| | |
|---|-----|
| <u><i>Salmonella</i> species</u> | 187 |
| <u><i>Salmonella</i> species (non groupe A,B,C,D)</u> | 2 |
| <u><i>Salmonella</i> species (non groupe A,B,C,D,E)</u> | 1 |
| <u><i>Salmonella</i> species (non groupe A,B,C,D,E,G)</u> | 1 |
| <u><i>Salmonella</i> species (groupe H-S)</u> | 1 |
| <u><i>Salmonella</i> species (OMA nég, OMB nég)*</u> | 1 |
| <u><i>Salmonella enterica</i></u> | 6 |
| <i>Salmonella</i> species (groupe II) | 1 |
| <i>Salmonella</i> species (groupe D) | 2 |
| <i>Salmonella</i> Aarhus | 1 |
| <i>Salmonella</i> Arizonae | 1 |
| <i>Salmonella</i> Enteritidis | 1 |
| Pas de pathogènes | 1 |
| Pas dans le domaine d'application (réponse d'un laboratoire d'une firme) | 1 |

* OMA contient les agglutinines pour les facteurs 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 12, 15, 19, 21 et 46 correspondant aux groupes A, B, D, E, L

* OMB contient les agglutinines pour les facteurs 6, 7, 8, 11, 13, 14, 20, 22, 23, 24 correspondant aux groupes C, F, G, H

La majorité des participants (199) ont fourni une bonne réponse (réponses soulignées). Par contre, 7 laboratoires ont répondu incorrectement et un laboratoire n'a pas réalisé l'identification.

Détection d'une épidémie causée par *Salmonella Cerro* en 2002

Une augmentation anormale des salmonelles du sérovar Cerro (Groupe O:18 (K) - formule antigénique $\underline{6},\underline{8},18:z_4,z_{23}:[1,5]$) avait été détectée par le Centre National de Référence des Salmonella et Shigella à partir du mois d'avril 2002. Le pic de l'épidémie se situait au mois de juin (12 cas) et un total de 46 cas ont été répertoriés sur l'année entière (Fig. 2.2.1.). Ce sérovar est en général très peu présent parmi les isolats humains comme en témoignaient les chiffres des années précédentes; 4 isolats en 2000 et 1 en 2001 (Fig. 2.2.2.). Il est toutefois isolé à des fréquences plus importantes à partir d'autres sources que l'homme (animaux, environnement).

Les cas (N=29) des mois d'avril, mai et juin étaient répartis sur l'ensemble du pays (Fig. 3). Le sexe ratio [H/F] était de 0,35 et les cas touchaient des personnes relativement âgées de plus de 61 ans (65%) ou de petits enfants de moins de 5 ans (15%). Six des patients âgés étaient hospitalisés au moment de l'infection. Aucun décès n'a été rapporté en Belgique. Un antibiogramme avait aussi été réalisé sur des souches isolées en avril et mai (N=18). Elles étaient sensibles à tous les antibiotiques testés (excepté une résistance intermédiaire à la streptomycine chez 16 des 18 isolats).

L'épidémie touchait également nos voisins français où 22 cas ont été recensés de mai à septembre, avec un décès enregistré.

L'investigation commune a permis d'identifier l'origine de la contamination (poudre de lait pour crème pâtissière à froid). Le taux de contamination était cependant faible (détection dans 100 gr au lieu de 25 gr) ce qui explique, du moins partiellement, les catégories d'âge des personnes infectées.

Figure 2.2.1. *S. Cerro*. Courbe épidémique (N=46, 2002).

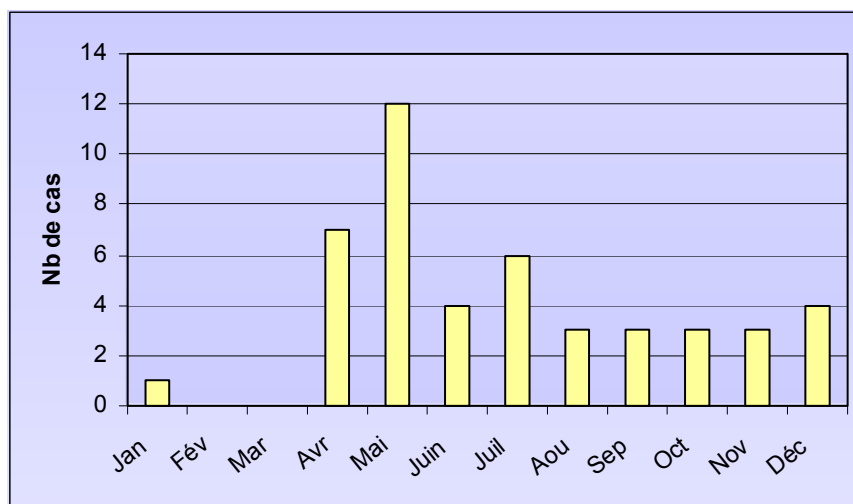


Figure 2.2.2. Salmonella Cerro. Nombre de cas détectés sur la période 1962-2002.

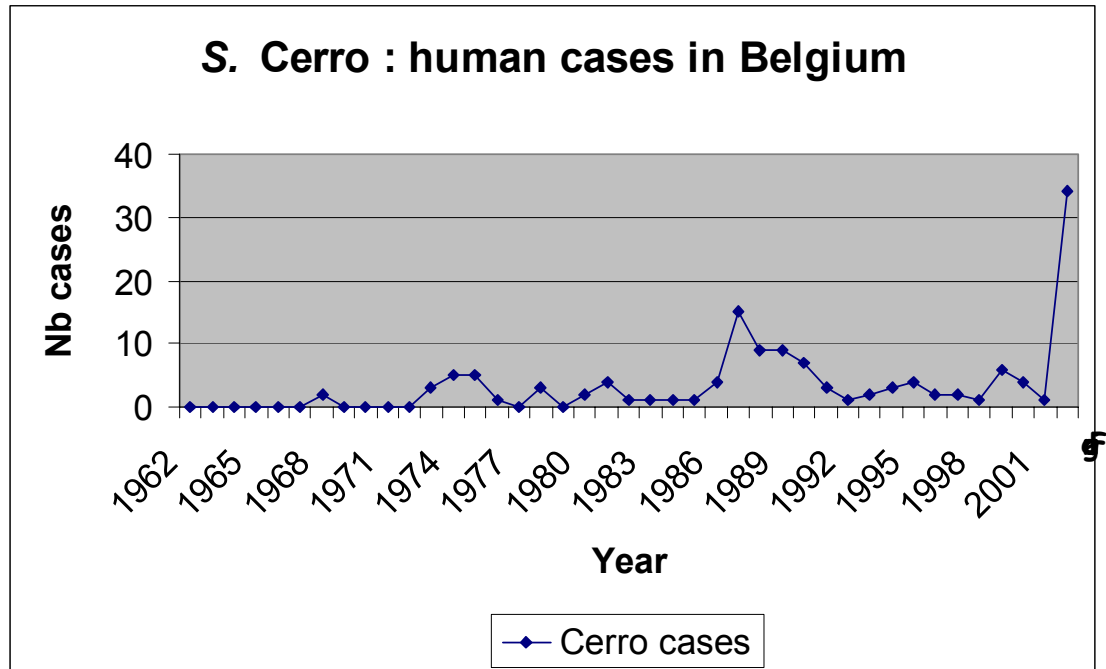
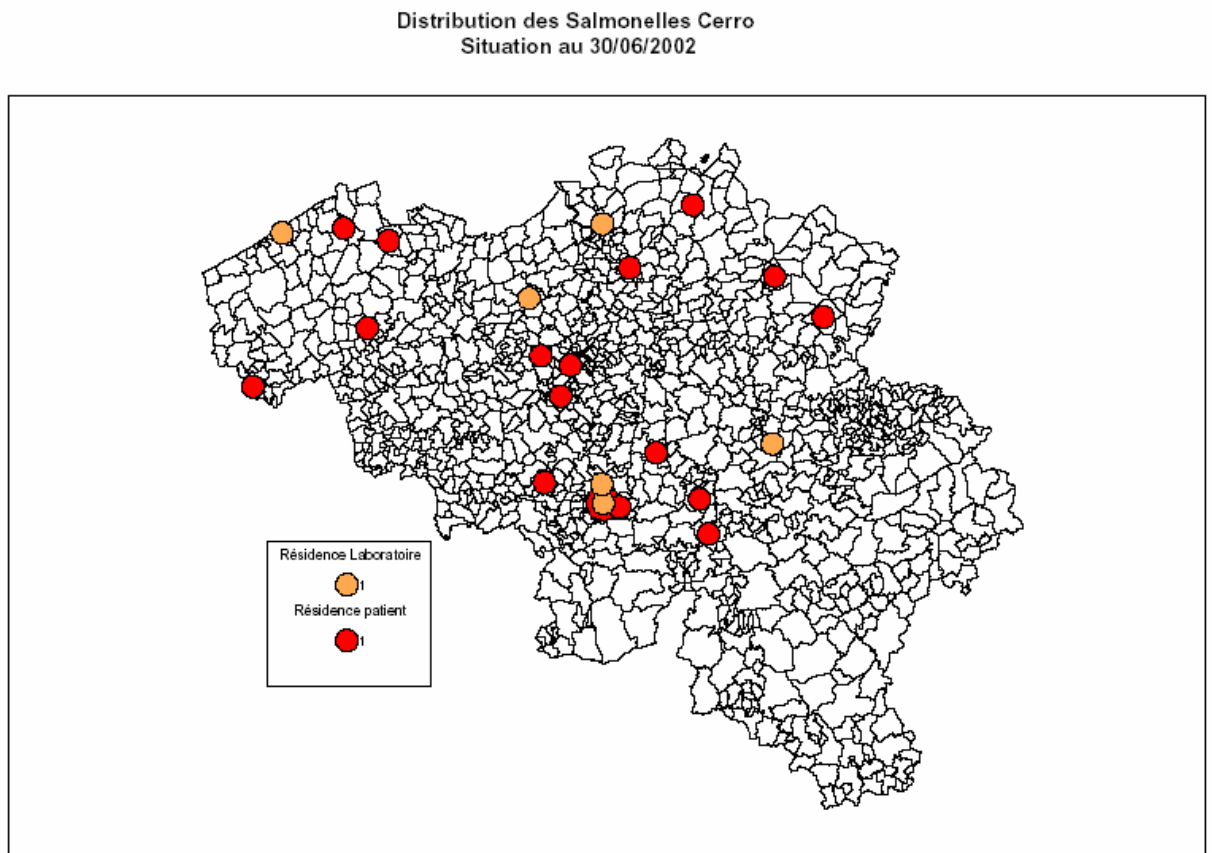


Figure 2.2.3. S. Cerro. Distribution géographique des cas au 30 juin 2002.



Recommandations du Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella*

Chaque isolement de *Salmonella* humaine doit être envoyé au Centre à l'adresse suivante :

Centre National de Référence des *Salmonella* et des *Shigella*
Section de Bactériologie
Institut Scientifique de Santé Publique
Rue J. Wytsman 14
B-1050 Bruxelles

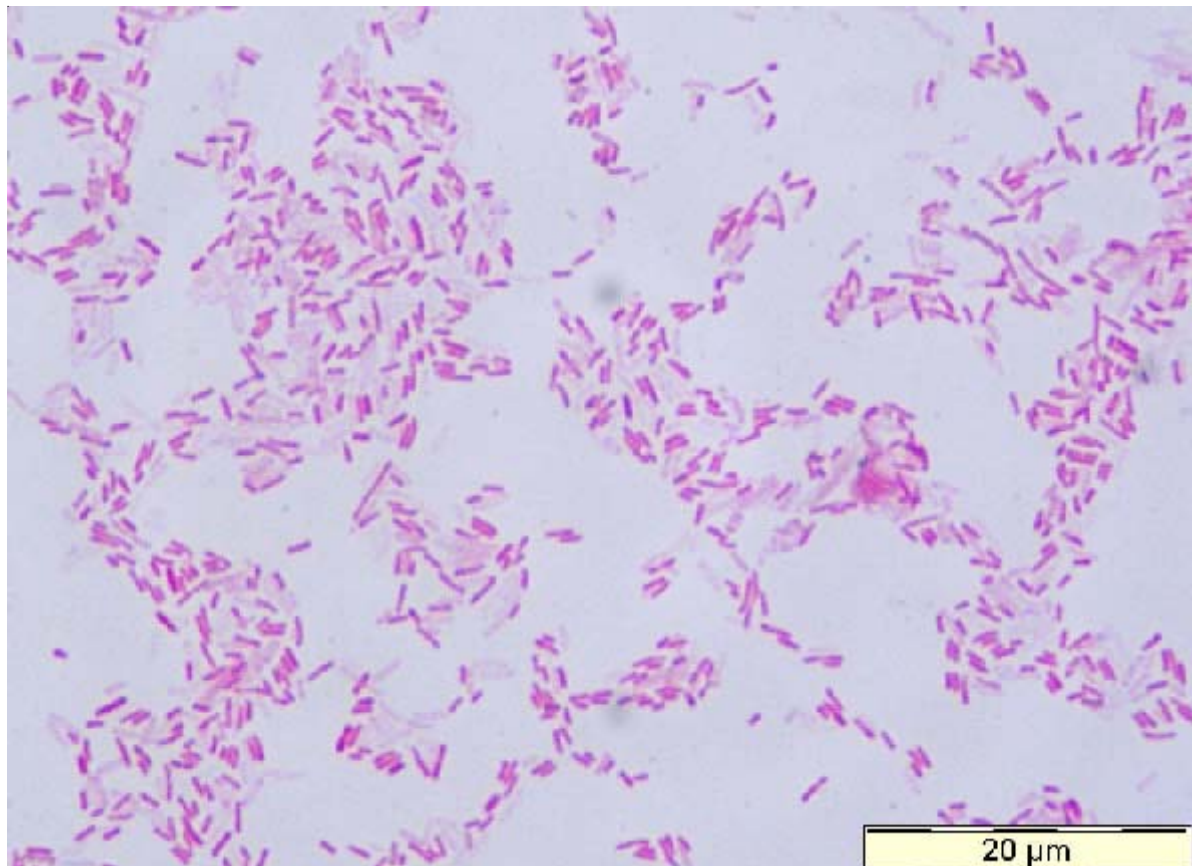
Il faut également adresser la fiche de renseignements sur la souche et l'épidémiologie. Cette fiche peut être obtenue à l'adresse :

http://www.iph.fgov.be/bacterio/documents/Form_FR_SalmShig.pdf

Pour les modalités d'envoi nous référons au rapport global 2003/1.

Dr J.-M. Collard
Direction du Centre
Chef de Section

Figure 2.2.4. *Salmonella* Cerro (échantillon M/4814)



REFERENCES

1. Kaufmann F. The bacteriology of Enterobacteriaceae. 1966. Munksgaard, Copenhagen.
2. Le Minor L. et Richard C. Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. 1993, Ed. Institut Pasteur, Paris, pp. 217.
3. Popoff M.Y. Formules antigéniques des sérovars. 2001. 8ème éd. Institut Pasteur de Paris, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*.

2.3 Culture M/4918 *Haemophilus influenzae*

Introduction et importance clinique

Le genre *Haemophilus* fait partie de la famille des *Pasteurellaceae* (Division proteobacteria, sous-division γ , sous-groupe 2). L'espèce *H.influenzae* peut produire une capsule polysaccharidique, identifiée comme un facteur de virulence primordial : parmi les six types, 95% des souches responsables d'infections invasives chez les jeunes enfants, avant l'ère vaccinale, produisaient la capsule b (1). Les infections dues aux autres espèces d'*Haemophilus* ont toujours été considérées comme peu fréquentes, bien que de nombreuses descriptions d'infections invasives puissent faire supposer que la fréquence de ces infections est sous-estimée (septicémie, endocardite, méningite, abcès cérébraux, infections des tissus mous).

Avant l'ère vaccinale, *H.influenzae* b frappait essentiellement les très jeunes enfants, à un âge d'autant plus jeune que l'incidence des maladies invasives était élevée. L'incidence en Belgique était évaluée à 44/1000.000 enfants de moins de 5 ans dans la communauté française avant la vaccination (2). De grandes variations géographiques étaient rapportées, ainsi que des différences ethniques (3). De plus, la méningite représentait 60 à 65% des infections invasives avec une mortalité restée de l'ordre de 5% malgré les progrès des traitements antibiotiques et de la réanimation et associée à une fréquence de séquelles non négligeable. Comme le rapporte Peltola, peu de vaccins ont provoqué une chute aussi impressionnante des infections invasives en un temps aussi court que les vaccins conjugués à *Haemophilus influenzae* (3). Les infections dues à ce germe sont devenues rares dans les pays qui ont généralisé les vaccins conjugués de bonne qualité et avec le schéma d'administration optimal (4, 5).

Bien que moins virulentes et faisant partie de la flore commensale des voies aériennes supérieures, les souches non typables d'*H.influenzae* sont fréquemment impliquées, au moins en co-pathogènes dans les infections de la sphère ORL, pulmonaire et oculaire et peuvent être responsables d'infections invasives, même chez l'adulte. Suite à la vaccination systématique des bébés de plus de 2 mois, on pouvait s'attendre à des modifications de la répartition des différents sérotypes au sein de la flore commensale, ainsi qu'à des modifications épidémiologiques majeures de répartition des infections à *Haemophilus influenzae* de type b, non b et non typables (6). Des études récentes démontrent un déplacement de la courbe d'incidence des infections invasives à type b vers des tranches d'âge plus avancées (6) et l'implication de souches non typables ainsi que d'autres sérotypes, particulièrement le f dans les infections invasives à *H.influenzae* (4, 7).

Avant le développement des techniques moléculaires proprement dites, il avait déjà été démontré que les souches b isolées chez les malades et les porteurs depuis plusieurs décennies à travers le monde avaient une origine clonale, alors que les souches non capsulées étaient distinctes génétiquement et beaucoup plus hétérogènes sur le plan génétique (8). Des analyses moléculaires permettent de penser que les souches non capsulées proviennent d'ancêtres capsulés (8). L'hypothèse que des souches b n'exprimant pas la capsule par modification du locus *capB* ou perte du gène *bexA* (souches b-) puissent précéder l'apparition de souches non capsulées invasives est plausible (9). La fréquence des souches b qui n'expriment pas la capsule (souches b-) ainsi que celle des autres types capsulaires et des souches non capsulées n'est actuellement pas bien établie et pourrait augmenter.

Enfin, la résistance aux antibiotiques, souvent utilisés de manière empirique dans les infections de type respiratoire doit être évaluée régulièrement, en particulier la résistance aux β -lactames, aux tétracyclines et aux macrolides.

Il paraît dès lors important que les laboratoires de Microbiologie restent capables d'isoler et d'identifier ces bactéries et de tester la sensibilité aux antibiotiques et qu'ils puissent bénéficier d'un service à caractère national servant de laboratoire de référence.

Ce rapport est centré sur *H.influenzae* .

Microbiologie

Sites d'isolement

Il n'est pas toujours aisé, à l'heure actuelle, d'attribuer un rôle pathogène à des souches isolées de sites normalement contaminés par la flore commensale, comme les voies aériennes supérieures. Il est en principe déconseillé de les y rechercher de façon systématique ou d'utiliser des milieux sélectifs en dehors d'un contexte clinique, mucoviscidose par exemple, ou épidémiologique bien précis. Les aspirations bronchiques profondes, les prélèvements non chirurgicaux de sinus ou d'oreille sont contaminés par la flore muqueuse dans laquelle il peut être normal d'isoler *H.influenzae*. Le portage de souches type b n'est par contre pas très courant, même chez l'enfant (7) et est réduit après vaccination.

Traditionnellement, la confrontation de l'examen direct et de la quantité de germes (nombre absolu et relatif) est utilisée empiriquement pour tenter d'évaluer le rôle dans le site infecté et comme critère pour décider de réaliser un antibiogramme.

Par contre, l'isolement d'un site muqueux inhabituel, comme les voies génitales ou à fortiori d'un site normalement stérile doit mener à une identification, au moins jusqu'au stade d'espèce.

Caractéristiques principales

H.influenzae est un petit bacille à Gram négatif très pléiomorphe, prenant la coloration de Gram de façon parfois capricieuse, immobile, fragile et de croissance exigeante. Il ne forme pas de spores.

Son nom provient à la fois de son exigence par rapport à des facteurs de croissance trouvés dans le sang (l'hémine ou facteur X et la nicotinamide adenine dinucléotide ou facteur V) et à la fausse attribution à l'influenza, épidémies au cours desquelles il a toutefois longtemps joué un rôle important comme *S.pneumoniae* en temps qu'agent d'infection pulmonaire secondaire.

Méthodes d'isolement

Les cultures traditionnelles se font sur des milieux enrichis : les globules rouges intacts ne fournissent pas suffisamment de facteur X pour une croissance optimale et le facteur V est très sensible à la chaleur. Le satellitisme de *H.influenzae* sur boîte au sang autour de *S.aureus*, producteur de facteur V peut néanmoins être observé.

Les milieux de choix contiennent du sang cuit (gélose chocolat) ou des produits de digestion de peptides (milieu de Fildes). Les milieux commerciaux doivent être testés avant utilisation.

La fragilité du germe et sa sensibilité aux acides impose une *mise en culture très rapide* du prélèvement et une incubation en atmosphère enrichie en CO_2 (5-10%) entre 35°C et 37°C.

Identification phénotypique

Haemophilus sp. présente une oxydase, mais pas toujours de catalase.

Le besoin des 2 facteurs X et V se détermine sur un milieu pauvre, dépourvu en facteurs V et X (TSA, Tryptic Soy Agar) ; ceci permet en général la différenciation avec *H.parainfluenzae* qui n'exige que le facteur V pour pousser et *H.influenzae* qui ne pousse qu'autour du disque imprégné par les 2 facteurs (mais le facteur X n'est pas nécessaire à *H.influenzae* dans des conditions de croissance anaérobie). Il est essentiel de réaliser une suspension de colonies suspectes dans 1 ml d'eau physiologique stérile sans que la suspension soit trop dense et en évitant d'entraîner du milieu de culture qui risquerait de fournir des facteurs V et X (0,5 McFarland). La suspension est étalée « en gazon » en surface de la gélose TSA et les disques ou comprimés fournissant les facteurs V, X et le mélange V+X sont déposés sur celle-ci en veillant à bien les espacer (il est même conseillé de pratiquer une coupure dans la gélose entre les disques, afin d'éviter toute diffusion excessive). Cette méthode est loin d'être parfaite, notamment car la conservation des disques est délicate et les milieux contiennent souvent des traces des facteurs concernés. Une étude comparant une méthode locale et huit méthodes commerciales rapporte au moins une discordance pour 187/378 souches (49.5%) (10). Kilian a préconisé de vérifier l'incapacité des souches d'*H.influenzae* (hémime-dépendante) de produire du porphobilinogène et des porphyrines lorsque ces souches sont en solution d'acide amino-lévulinique et la capacité des autres souches hémime-indépendantes de le faire. Il s'avère que les méthodes basées sur la détection des porphyrines sont les plus performantes et que des erreurs d'identification ont été décrites avec certaines galeries commerciales (10).

L'identification de la souche envoyée dans le cadre du Contrôle de Qualité Externe en Janvier 2004 (M/4918) n'a pas posé de problème majeur au niveau de l'espèce : 98,6% d'identification correcte (204/207), un score comparable à celui de 2001 (97%) (11) et 3 laboratoires ont répondu *H.parainfluenzae*.

Typage

- *Un système de biotypage* a été introduit par Kilian, basé des traits phénotypiques (production d'indole, uréase, ornithine décarboxylase), mais n'est guère utilisé en dehors des centres de référence (12). Un clone particulier, parfois dénommé *H.aegyptius* et responsable d'infections sévères et invasives avec conjonctivite purulente en Amérique latine est impossible à différencier d'*H.influenzae* par les méthodes phénotypiques et appartient au biotype III (7, 13) . En Belgique parmi les souches envoyées au laboratoire de référence en 2000, les souches *non-b* (souches possédant une autre capsule que b et non typables cumulées) appartenaient le plus souvent au biotype II (32% de la totalité des souches d'*Haemophilus* envoyées) et que près de la moitié des souches *non-b* sont dans ce biotype (32/69, 46%) et moins souvent au biotype I (13% de la totalité et 19% des souches *non-b*). Les souches b se répartissent dans les 3 premiers biotypes, par ordre décroissant dans le I (10 souches), le III (9 souches) et le II (7), donc moins dans le biotype II (7% de la totalité des souches et 23% des b). Il est intéressant aussi de constater que les rares souches typables disponibles possédant une capsule autre que b se trouvent de façon dominante dans le *biotype I* lorsqu'elles sont invasives (3/4). De même, bien que l'ensemble des souches b se répartissent dans les 3 premiers biotypes comme mentionné plus haut, elles se retrouvent surtout dans les biotype I lorsqu'elles sont invasives (7/13, 54%), et le II lorsqu'elles ne le sont pas (7/18, 39%).

Ces constatations ne se retrouvent par contre pas, dans la collection de 2000 pour les 5 souches poly-agglutinables et les 57 souches non typables ne donnant aucune réaction avec aucun des antiséras, qui se répartissent dans les 3 premiers biotypes sans apparente prédominance. Une minorité de souches de type b ou de non-b appartenaient aux IV à VI (14). La souche du Contrôle de qualité a été identifiée comme biotype II au centre de référence. Deux laboratoires sur 207 ont déterminé le biotype, un des laboratoires obtient le même résultat, biotype II et le 2^{ème} laboratoire a répondu biotype III.

- *Typage de la capsule* : le typage traditionnel consiste en une détection de la capsule par une méthode immunologique (agglutination sur lame). Les souches qui en sont dépourvues ne peuvent être typées par la technique de typage par immunsérum (NT), qu'elles en soient dépourvues par absence complète de capsule (vraies non typables) ou par absence d'expression ou de transport de la capsule en surface. Seules les méthodes moléculaires permettent de les différencier (9). De plus, certaines souches sont auto-agglutinables, certaines présentent des réactions croisées, parfois avec plusieurs antiséras et d'autres encore sont incorrectement identifiées en un sérotype discordant par rapport à la méthode moléculaire. Ces inconvénients limitent les possibilités de typage par la méthode traditionnelle. L'erreur la plus préoccupante est la détermination comme types b de souches non typables ou de capsule différente, ce qui était le cas pour 68% des 40 souches annoncées b par sérotypage dans le laboratoire de référence aux USA, ce qui risque de faire surestimer les échecs de vaccination. Le % de typage incorrect est encore plus grand et plus variable d'un laboratoire à l'autre, comparé au laboratoire de référence où la méthode est bien standardisée (15) et la qualité des lots d'antiséras peut également varier. Ces inconvénients rendent indispensable la participation des centres de référence à un programme international de qualité (ce qui est le cas en Belgique).

La souche du Contrôle de qualité est non typable par la méthode d'agglutination sur lame au centre de référence. Trois laboratoires ont tenté de typer la souche, 2 comme b et 1 comme c.

Sensibilité aux antibiotiques

La production de β -lactamase est détectée par l'hydrolyse de la nitrocéfine et l'antibiogramme de type Kirby-Bauer est réalisé sur agar HTM, comme recommandé par le NCCLS (16). Les antibiotiques suivants sont testés par le centre de référence : ampicilline, céfuroxime, ciprofloxacine, tétracycline, cotrimoxazole, azithromycine. Le chloramphénicol n'est plus testé systématiquement.

Les taux de résistance aux antibiotiques ont fortement augmenté en 30 ans, depuis l'apparition des premières souches devenues résistantes à l'ampicilline par acquisition d'une β -lactamase TEM-1, en 1972 en Europe et 1974 aux USA (7). Depuis, d'autres enzymes ont été découvertes, conférant la résistance aux pénicillines (ROB-1) et à d'autres antibiotiques. Durant la dernière décennie toutefois, la prévalence de la résistance à l'ampicilline est restée assez stable, mais avec de très importantes variations géographiques. Aux USA, de grandes études multicentriques ont été publiées : parmi 1537 souches isolées de novembre 1994 à avril 1995, 38,9% sont résistantes à l'ampicilline, 4,5% à la combinaison amoxicilline-acide clavulanique et 39 souches résistantes ou de sensibilité intermédiaire à l'ampicilline sans production de β -lactamase ont été isolées (17). En Belgique, parmi les souches envoyées au centre de référence, une diminution de la fréquence d'isolement des souches de type b est observée et la sensibilité à l'ampicilline a globalement diminué : en 1994, 28,8% des souches invasives envoyées au centre de référence et 23% des souches non invasives étaient

résistantes à l'ampicilline ; parmi les souches soumises en 2000, 24% des 100 souches soumises étaient résistantes mais seulement 7/44 souches invasives (16%) et 17/56 (30%) des souches non invasives. En 2002, 16% des 81 souches envoyées au centre de référence étaient résistantes à l'ampicilline, toutes par production de β -lactamase (9/65, 14% des souches invasives sont résistantes à l'ampicilline). Ces souches invasives ne sont plus comparables aux souches non invasives dont l'envoi au centre de référence est actuellement découragé (11/14, 79% des souches non invasives sont résistantes à l'ampicilline). Comme beaucoup de laboratoires ne testent plus que la β -lactamase, il est possible qu'ils n'envoient que les souches non invasives résistantes au laboratoire de référence pour confirmation. Parmi les 31 souches b, envoyées au centre de référence en 2000, 9 sont productrices de β -lactamase (29%) et 22 n'en produisent pas (71%) et elles sont plus souvent productrices quand elles sont non invasives 7/19 (37%) que qu'invasives 2/12 (17%). En 2002, 13 souches ont été typées comme b et 2 seulement, toutes 2 invasives, sont résistantes à l'ampicilline (15,4%).

La résistance à l'ampicilline sans production de β -lactamase, par modification des protéines de liaison à la pénicilline, demeure exceptionnelle en Belgique : 1 seule souche, intermédiaire à l'ampicilline en 2000 et aucune en 2002 (les 2 souches intermédiaires par la méthode des disques se sont révélées sensibles (0,19 mg/L par la méthode E-test)) ; il s'agissait de souches isolées d'hémocultures et non typables chez des personnes âgées.

La souche du Contrôle de qualité est sensible à l'ampicilline (diamètre de 26 mm) et ne produit pas de β -lactamase.

F. Crockaert, institut J. Bordet, Bruxelles

Figure 2.3.1. *Haemophilus influenzae* (M/4918)

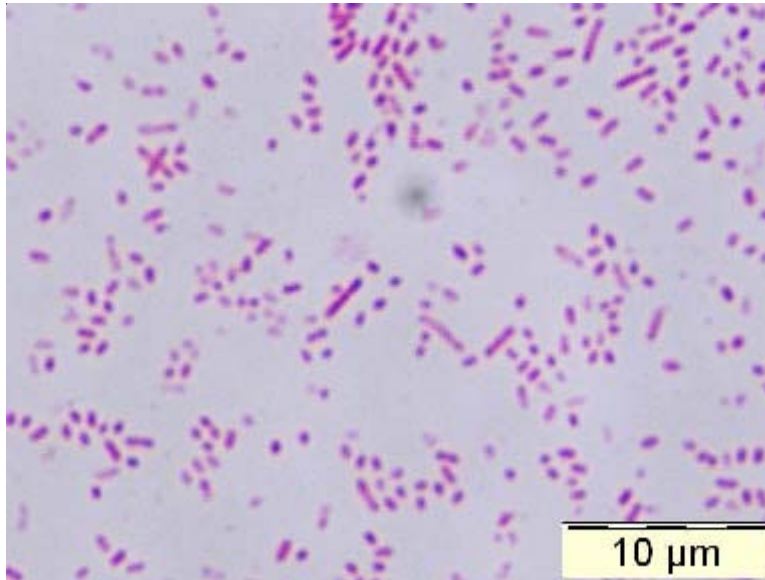
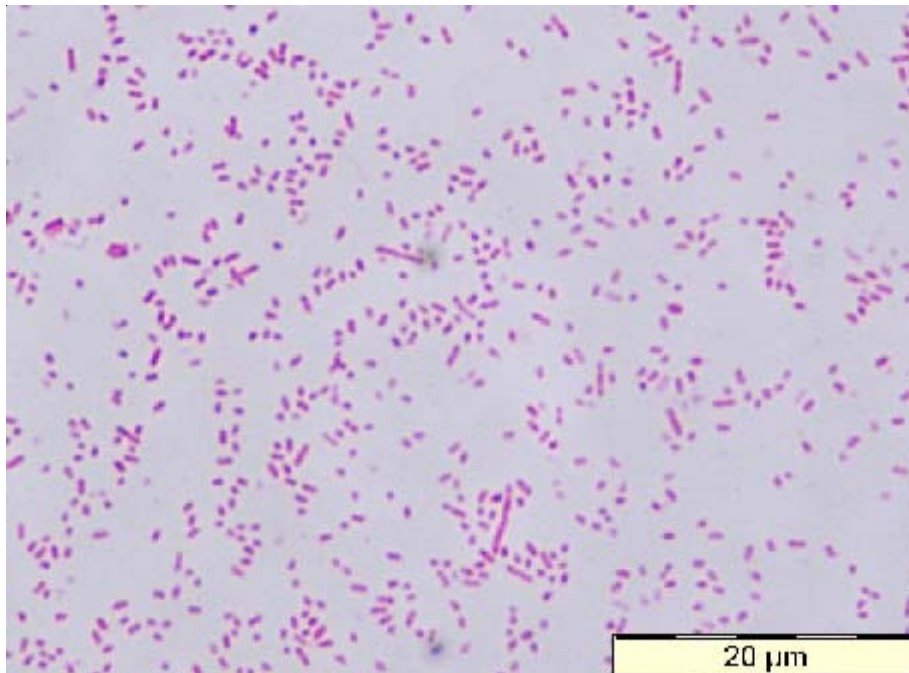


Figure 2.3.2. *Haemophilus influenzae* (M/4918)



REFERENCES

1. Pittman M. 1931. Variation and type specificity in the bacterial species *Haemophilus influenzae*. J Exp Med. 53:471-492.
2. Levy J, Devaster JM. 1996. Evaluation externe de la qualité des analyses en Biologie Clinique, enquête 01/1996.
3. Peltola H. 2000. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. Clin Microbiol Rev. 23:302-317.
4. Booy R, JS Kroll. 1997. Is *Haemophilus influenzae* finished? J Antimicrobial Chemother. 40:149-153.
5. Heath PT, Ramsay ME. 2003. *Haemophilus influenzae* type b vaccine-booster campaign. British Med J. 326:1158-1159.
6. Heath PT, Booy R, Azzopardi HJ, Slack MP, Fogarty J, Moloney AC, Ramsay ME, Moxon ER. 2001. Non-type b *Haemophilus influenzae* disease: clinical and epidemiologic characteristics in the *Haemophilus influenzae* type b vaccine era. Ped. Infect. Dis. 20(3):300-5.
7. Campos J.M. 1999. *Haemophilus*, p.604-613. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C Tenover, and R. H. Tenover (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
8. Musser JM, Granoff DM, Pattison PE, et al. 1985. A population genetic framework for the study of invasive diseases caused by serotype b strains of *Haemophilus influenzae*. Proc Natl Acad Sci U S A. 82:5078-5082.
9. Falla T.J., D.W.M. Crook, L.N. Brophy, D.Maskell, J.S. Kroll, and E.R. Moxon. PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. 1994. J. Clin. Microbiol. 32:2382-2386.
10. Munson E, M. Pfaller, F. Koontz, G. Doern. 2002. Comparison of porphyrin-based, growth factor-based, and biochemical-based testing methods for identification of *Haemophilus influenzae*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 21:196-203.
11. Lontie M. 2001. Evaluation externe de la qualité des analyses en Biologie Clinique, enquête 03/2001 ;
12. Kilian M. 1976. A taxonomic study of the genus *Haemophilus* with the proposal of a new species. J Gen Microbiol. 93:9-62.
13. Moxon ER, Muder TF. *Haemophilus influenzae*. 2000. In, Infectious Diseases and Their Etiologic Agents, Principles and Practice of Infectious Diseases (5th edition Ch 212.). Gerald L Mandell, John E Bennett, Raphael Dolin. Churchill Livingstone Inc, New York 2000.
14. Crokaert F. 2000. *Haemophilus Influenzae*, p.6-9. In Surveillance des maladies infectieuses par un réseau de Laboratoires de Microbiologie.
15. LaClaire L.L., M.L.C. Tondella, D.S. Beal, C.A. Noble, P.L. Raghunathan, N.E.Rosenstein, T.Popovic and the active bacterial core surveillance team members. 2003. Identification of *Haemophilus influenzae* serotypes by standard slide agglutination serotyping and PCR-based capsule typing; J. Clin. Microbiol. 41:393-39.
16. NCCLS. 2001. Performance standards for antimicrobial testing ;Eleventh informational supplement. M100-S11, vol. 21.
17. Doern GV, Brueggemann AB, Pierce G, et al. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae* in the United States in 1994 and 1995 and detection of β -lactamase-positive strains resistant to amoxicillin-clavulanate: Results of a national multicenter surveillance study. 1997. Antimicrob Agents Chemother. 41:292-297.

2.4. Culture M/4937 *Streptococcus pneumoniae*

Cette souche a été envoyée pour apprendre les nouveaux critères du NCCLS aux laboratoires. L'identification de cette souche n'a posé aucun problème.

Sensibilité aux antibiotiques

La résistance croissante aux antibiotiques β -lactame chez le *Streptococcus pneumoniae* est due à la transmission de matériel génétique originaire d'autres pneumocoques résistants mais également des streptocoques oraux commensales (*S. mitis...*).

La résistance à la pénicilline et aux autres antibiotiques β -lactame est basée sur un changement des « penicillin-binding-proteins » (PBPs) qui induit une diminution d'affinité pour ces antibiotiques.

S. pneumoniae a six PBPs différentes (1a, 1b, 2a, 2b, 2x et 3). Les différents antibiotiques β -lactame présentent une affinité variant pour les différentes PBPs. Un changement de la PBP 2b induit une sensibilité diminuée à la pénicilline, tandis que l'activité des céphalosporines de la troisième génération est modifiée dans un moindre degré. Les changements des PBPs 1a et 2x par contre ont une grande influence sur l'activité antibactérienne des céphalosporines.

Le laboratoire de référence national des pneumocoques suit l'évolution des sensibilités à la pénicilline, l'érythromycine, la tétracycline et l'ofloxacine. Cette surveillance est limitée à l'évaluation des souches isolées à partir des hémocultures, du liquide céphalo-rachidien, du liquide de paracentèse et d'autres substances d'origine humaines normalement stériles. Le tableau ci-dessous montre un aperçu des pourcentages de résistance durant les années précédentes.

Tableau 2.4.1. Aperçu des pourcentages de résistance des pneumocoques (1990 - 2003)

| Année | N° d'isolats | % résistant à | | | |
|-------|--------------|---------------|--------------|---------------|------------|
| | | Pénicilline G | Tétracycline | Erythromycine | Ofloxacine |
| 1990 | 540 | 4,1 | 17,0 | 17,0 | - |
| 1991 | 536 | 3,2 | 14,4 | 15,7 | - |
| 1992 | 551 | 4,0 | 15,4 | 19,2 | - |
| 1993 | 641 | 2,3 | 12,6 | 21,5 | - |
| 1994 | 751 | 7,6 | 14,9 | 22,9 | - |
| 1995 | 992 | 7,0 | 15,8 | 24,1 | 0,4 |
| 1996 | 1289 | 9,5 | 18,4 | 25,9 | 0 |
| 1997 | 1241 | 9,9 | 23,2 | 28,6 | 0,2 |
| 1998 | 1205 | 14,5 | 28 | 31 | 0,1 |
| 1999 | 1216 | 16,5 | 29,4 | 34,8 | 0,5 |
| 2000 | 1218 | 17,6 | 31,7 | 36,5 | 0,3 |
| 2001 | 1427 | 15 | 30,2 | 36,6 | 0,1 |
| 2002 | 1542 | 15,2 | 30,7 | 36,1 | 0,5 |
| 2003 | 1915 | 12,9 | 30,2 | 36,1 | 0,5 |

En 2003 le laboratoire de référence a examiné 1915 souches, dont 249 (13%) ont montré une sensibilité diminuée à la pénicilline. Les dernières années, nous constatons une diminution inexplicable du pourcentage des souches avec une sensibilité diminuée à la pénicilline. Le pourcentage était de 17,6%, 15% et 15,2% en respectivement 2000, 2001 et 2002

En 2003, 237 des 249 souches avec une sensibilité diminuée à la pénicilline avaient une valeur de la CMI entre >0.06 mg/L en ≤ 1 mg/L : elles appartenait donc à la catégorie « sensibilité intermédiaire ». Il n'y avait que 12 souches « réellement résistantes » dont dix avaient une CMI de 1,5 mg/L pour la pénicilline ; les deux autres avaient une CMI respectivement de 2 mg/L et 3 mg/L. Chez 22 de ces 249 pneumocoques nous avons trouvé une CMI pour la céfotaxime de plus que 0.5 mg/L. Pour la tétracycline et l'érythromycine les pourcentages de résistance étaient respectivement de 30,2 % et 36,1% ; ces résultats sont comparables à ceux des années précédentes. La résistance à l'ofloxacin est négligeable.

La plupart des laboratoires belges suivent les directives du NCCLS (référence 1). Pour déterminer une sensibilité diminuée à la pénicilline il est conseillé d'utiliser un disque d'oxacilline avec une charge de 1 μ g dans la technique de diffusion (test de dépistage). Le test est effectué sur une gélose Mueller Hinton avec 5% de sang de cheval, qui est incubée à 35°C sous 5 % CO₂ pendant 20 - 24 heures. Dans le cas d'une zone d'inhibition égale ou supérieure à 20 mm on peut être certain que le pneumocoque est sensible à la pénicilline et à tous les autres pénicillines, céphalosporines et carbapénèmes. Un diamètre plus petit que 20 mm laisse supposer une sensibilité diminuée mais ne permet pas de faire la différence entre une sensibilité intermédiaire ou une vraie résistance. Des techniques de diffusion fiables ne sont pas disponibles pour les autres antibiotiques β -lactame. Si le test de dépistage d'oxacilline montre un diamètre plus petit que 20 mm, une détermination de la CMI pour la pénicilline et/ou les céphalosporines de la troisième génération doit être effectuée. Le NCCLS conseille la procédure "broth dilution" en Mueller Hinton Broth avec 2 jusque 5% de sang de cheval lysé. Une autre méthode, plus conviviale, est d'utiliser le test de diffusion E qui produit également des résultats reproductibles à condition de suivre les directives.

Pour la pénicilline G et les carbapénèmes le document du NCCLS mentionne des directives uniformes pour les isolats « méningite » et « non-méningite » La publication indique que des fortes doses de pénicilline G peuvent être utilisées dans le traitement d'infections invasives, à l'exception d'une méningite, dans le cas où le pneumocoque montre une sensibilité intermédiaire à la pénicilline. Pour les céphalosporines de la troisième génération (la céfotaxime et la ceftriaxone) et pour la céfépime, on utilise des break-points différents selon la localisation de l'infection par le pneumocoque. Le raisonnement derrière cette différence en fonction de la localisation de l'infection est basé sur les données suivantes. Dans le traitement des infections méningées on utilise le dosage maximal où on obtient dans le liquide céphalo-rachidien des concentrations de 1 à 8 mg/L avec une moyenne de 1 mg/L (référence 2). Dans le plasma et la tissue pulmonaire on obtient des concentrations remarquablement plus élevées. Une dose journalière de 1 g de ceftriaxone induit une concentration pic de 200 mg/L dans le plasma et après 12 heures une concentration entre 6 et 10 mg/L. Une publication récente a également montré que les céphalosporines de troisième génération ont une même efficacité dans le traitement des infections non-méningées si les pneumocoques ont une CMI de 0,5, 1 ou 2 mg/L (référence 3).

Tableau 2.4.2. Nouveaux critères pour la CMI pour la céfotaxime, la ceftriaxone et la céfépime

| Localisation | S | I | R |
|---------------|-------|---|-----|
| Méningite | ≤ 0,5 | 1 | ≥ 2 |
| Non-méningite | ≤ 1 | 2 | ≥ 4 |

Discussion des résultats des laboratoires

Le tableau 2.4.3 ci-dessous montre un aperçu récapitulatif des résultats des méthodes de diffusion sur disque. S'il y a une différence entre la charge des disques Neosensitabs et les disques en papier les résultats sont divisés.

Tableau 2.4.3. Résultat des méthodes de diffusion sur disque

| Antibiotique | | Charge | Nombre | S | I | R |
|--------------|--------|--------|--------|----|---|-----|
| Oxacilline | | 1 | 119 | 0 | 0 | 119 |
| Pénicilline | papier | 10 | 13 | 0 | 5 | 8 |
| | Rosco | 5 | 36 | 0 | 9 | 26 |
| Méropénem | papier | 10 | 65 | 55 | 8 | 2 |
| Imipénem | papier | 10 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| | Rosco | 15 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| Vancomycine | papier | 30 | 42 | 42 | 0 | 0 |
| | Rosco | 5 | 93 | 93 | 0 | 0 |
| Céfotaxime | | 30 | 28 | 18 | 3 | 7 |
| Ceftriaxone | | 30 | 19 | 14 | 5 | 0 |

Les directives du NCCLS ne mentionnent pas de critères pour les méthodes de diffusion sur disque sauf pour le dépistage avec le disque d'oxacilline de 1 µg. Les souches avec un diamètre d'au moins 20 mm sont sensible pour la pénicilline, l'ampicilline, l'amoxicilline, la céfépime, la céfotaxime, la ceftriaxone, l'imipénem, le méropénem. Il est donc décevant de constater que plusieurs participants utilisent ces disques en papier pour tester l'activité de ces antibiotiques et qu'ils rapportent les résultats. Le document du NCCLS mentionne explicitement: "Amoxicillin, ampicillin, cefepime, cefotaxime, ceftriaxone, cefuroxime, imipenem and meropenem may be used to treat pneumococcal infections; however reliable disk diffusion susceptibility tests with these agents do not yet exists. Their in vitro activity is best determined using a MIC method." Pour les antibiotiques non β-lactame il mentionne bien des critères (tableau 2.4.4). Le guide des utilisateurs de Rosco Neosensitabs donne des critères pour les « souches non-méningite » pour les autres antibiotiques β-lactame comme l'amoxicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la céfépime, la céfotaxime, la ceftriaxone et la céfuroxime-axetil, tout comme pour les antibiotiques non β-lactame (tableau 2.4.5) (référence 4).

Tableau 2.4.4. Critères du NCCLS pour la méthode de diffusion sur disque (2003) pour le *Streptococcus pneumoniae* en mm

| Antibiotique | S | I | R |
|--|------|-------|------|
| oxacilline (1µg) | ≥ 20 | - | - |
| clindamycine (2µg) | ≥ 19 | 16-18 | ≤ 15 |
| érythromycine (15 µg) | ≥ 21 | 16-20 | ≤ 15 |
| ofloxacine (5 µg) | ≥ 16 | 13-15 | ≤ 12 |
| tétracycline (30 µg) | ≥ 23 | 19-22 | ≤ 18 |
| triméthoprim/sulphaméthoxazole (1.25/23.75 µg) | ≥ 19 | 13-18 | ≤ 15 |
| vancomycine (30 µg) | ≥ 17 | - | - |
| linézolid (30 µg) | ≥ 21 | - | - |

Tableau 2.4.5. La méthode de diffusion sur disque Neo-Sensitabs selon les critères du NCCLS pour *Streptococcus pneumoniae* en mm.

| Antibiotique | S | I | R |
|---|------|-------|------|
| oxacilline (1 µg) | ≥ 20 | ≤ 19 | ≤ 19 |
| amoxicilline (30 µg)* | ≥ 26 | 21-25 | ≤ 20 |
| amoxicilline-acide clavulanique(30 + 15 µg)* | ≥ 26 | 21-25 | ≤ 20 |
| céfotaxime (30 µg)* | ≥ 28 | 24-27 | ≤ 23 |
| céfuroxime (oral) (6 µg)* | ≥ 30 | 27-29 | ≤ 26 |
| clindamycine (25 µg) | ≥ 28 | 24-27 | ≤ 23 |
| érythromycine (78 µg) | ≥ 28 | 24-27 | ≤ 23 |
| ofloxacine (10 µg) | ≥ 20 | 17-19 | ≤ 16 |
| tétracycline (80 µg) | ≥ 26 | 23-25 | ≤ 22 |
| triméthoprim-sulphaméthoxazole (5,2 + 240 µg) | ≥ 32 | 27-31 | ≤ 26 |
| vancomycine (70 µg) | ≥ 20 | - | - |
| linézolid (30 µg) | ≥ 21 | - | - |

*critères non-méningées

Cette souche était selon le test de dépistage d'oxacilline clairement non sensible à la pénicilline. Le NCCLS conseille donc d'effectuer sur de pareilles souches la détermination de la CMI pour la pénicilline, le méropénem et la céfotaxime ou la ceftriaxone. Les souches ont été analysées préalablement par les 8 experts individuellement. Les résultats sont repris ci-dessous :

- Pénicilline: 2 x 0.75 mg/L, 5 x 1 mg/L et 1 x 2 mg/L.
Le dernier résultat a été obtenu avec le système Vitek 2 tandis que les 7 autres ont été obtenus avec le E test.
- Céfotaxime/ceftriaxone: 2 x 0.5 mg/L, 1 x 0.75 mg/L, 4 x 1 mg/L et 1 x 1,5 mg/L.
L'expert ayant utilisé l'appareil Vitek 2 a obtenu une CMI de 1 mg/L. Cette souche est donc sensible aux céphalosporines de la troisième génération selon les critères du NCCLS, puisque le pneumocoque a été isolé du liquide d'un lavage broncho-alvéolaire d'un patient avec une pneumonie foudroyante.
- Méropénem: 1 x 0.12 mg/L, 2 x 0.19 mg/L et 1 x 0.5 mg/L.

Les déterminations des CMI ont été effectuées par un grand nombre des participants; ces résultats sont présentés dans les tableaux suivants (tableaux 2.4.6. et 2.4.7.).

44 laboratoires ont obtenu une valeur CMI de > 1 mg/L avec le E test, tandis que seulement 34 laboratoires ont catégorisé la souche comme résistant à la pénicilline. 11 laboratoires ont trouvé avec le E test une CMI de > 1 mg/L pour céfotaxime/ceftriaxone, tandis que la souche a été considérée comme intermédiaire ou résistante par 24 d'entre eux. Ceci démontre bien que les nouveaux critères du NCCLS ne sont pas encore connus par une grande partie des laboratoires. Les déterminations de la CMI n'ont été effectuées par que 80 des 205 participants. Chaque laboratoire devrait néanmoins être capable d'effectuer une détermination pareille de la CMI sur les pneumocoques avec une sensibilité diminuée à la pénicilline (cfr supra).

L'analyse des résultats montre également qu'avec le système Vitek 2 des valeurs de la CMI plus élevées pour la pénicilline sont obtenues qu'avec le E test.

Tableau 2.4.6 : Résultats des valeurs CMI obtenus avec le E test pour l'échantillon M/4937 (*S. pneumoniae*)

| Antibiotique | MIC (mg/) | | | | | | | | | | Résultat | | | | |
|------------------|---------------------|---------------|--------|------|------|------|-----|---|---|---|----------|-----|----|----|---|
| | Nombre de résultats | Pas mentionné | < 0.06 | 0.06 | 0.12 | 0.25 | 0.5 | 1 | 2 | 4 | S | I/S | I | R | * |
| Oxacilline | 3 | | | | | | 1 | | | 3 | | | 1 | 3 | |
| Pénicilline | 95 | 7 | | | 6 | 38 | 43 | 1 | | | | | 59 | 34 | 2 |
| Méropénem | 20 | 1 | | 1 | 8 | 10 | | | | | 11 | | 9 | | |
| Imipénem | 1 | | | | 1 | | | | | | | | 1 | | |
| Vancomycine | 18 | | | | | 10 | 7 | 1 | | | 17 | | 1 | | |
| Céfotaxime | 33 | 2 | | | 2 | 19 | 10 | | | | 16 | 1 | 15 | 1 | |
| Ceftriaxone | 27 | 2 | | | 1 | 13 | 10 | 1 | | | 19 | | 7 | 1 | |
| Céfépime | 1 | | | | | | | 1 | | | | | | 1 | |
| "Céphalosporine" | 4 | | | | 1 | 2 | 1 | | | | 3 | | 1 | | |

* Un certain nombre de laboratoires ont effectué le E test, mais n'ont pas donné d'interprétation.

Tableau 2.4.7. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/4937 (*S.pneumoniae*).

| Antibiotique | Vitek 1 | | | | Vitek 2 | | | | |
|------------------|----------------|---|---|---|----------------|---|---|------|---------|
| | Résultat final | Dilution mentionnée le plus fréquemment | Nombre de labos ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs) | | Résultat final | Dilution mentionnée le plus fréquemment | Nombre de labos ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs) | | |
| | S | I | R | | S | I | R | | |
| Oxacilline | - | 1 | - | - | - | - | - | - | (1) |
| Pénicilline | - | 2 | - | 1 | - | 5 | 19 | ≥ 2 | 17 (24) |
| Méropénem | - | - | - | - | 8 | - | - | 0,12 | 4 (8) |
| Imipénem | - | - | - | - | 13 | - | - | 0,12 | 10 (13) |
| Vancomycine | 1 | - | - | - | 30 | - | - | ≤ 10 | 24 (30) |
| Céfotaxime | - | 1 | - | - | 7 | 6 | 1 | 1 | 9 (14) |
| Ceftriaxone | - | - | - | - | 11 | 1 | 1 | 0,5 | 9 (13) |
| "Céphalosporine" | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - (1) |

Jan Verhaegen, UZ, Gasthuisberg, Leuven

Figure 2.4.1. *Streptococcus pneumoniae* (échantillon M/4937)

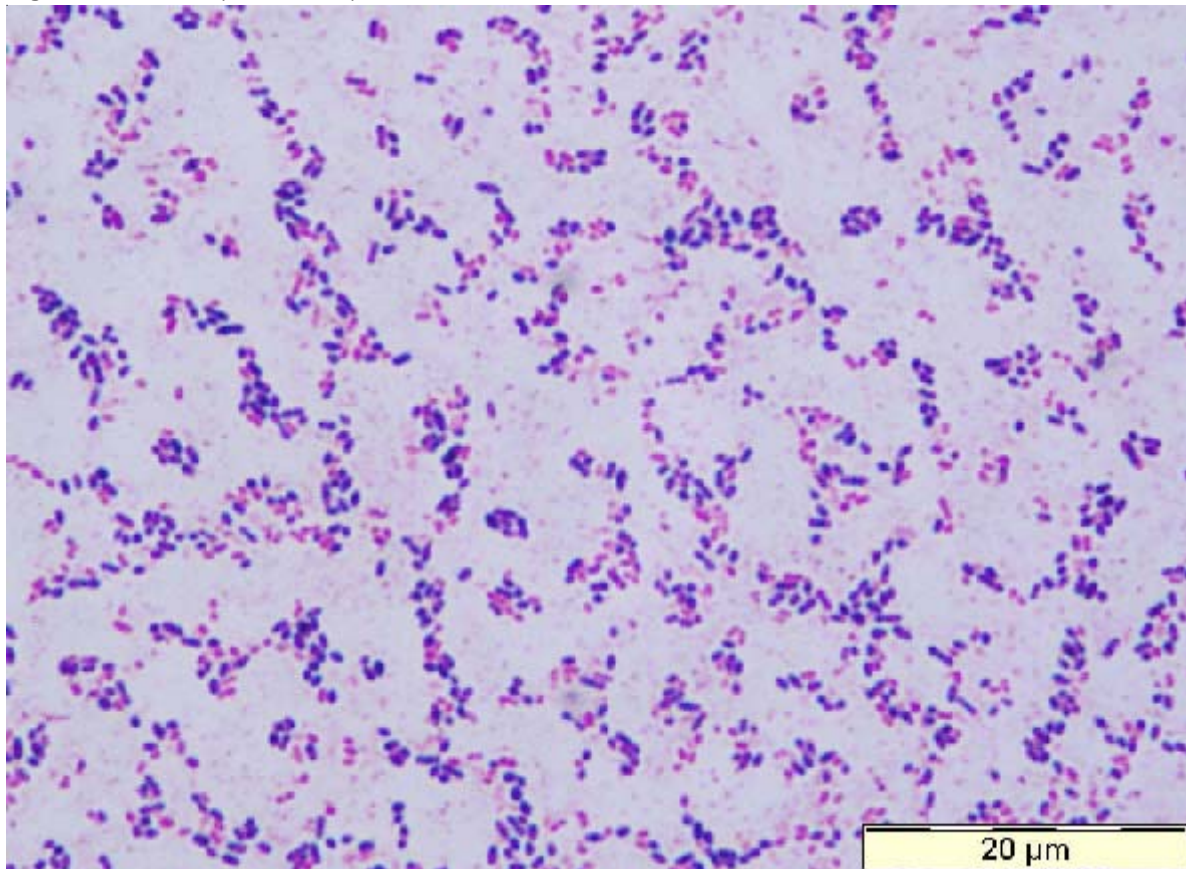
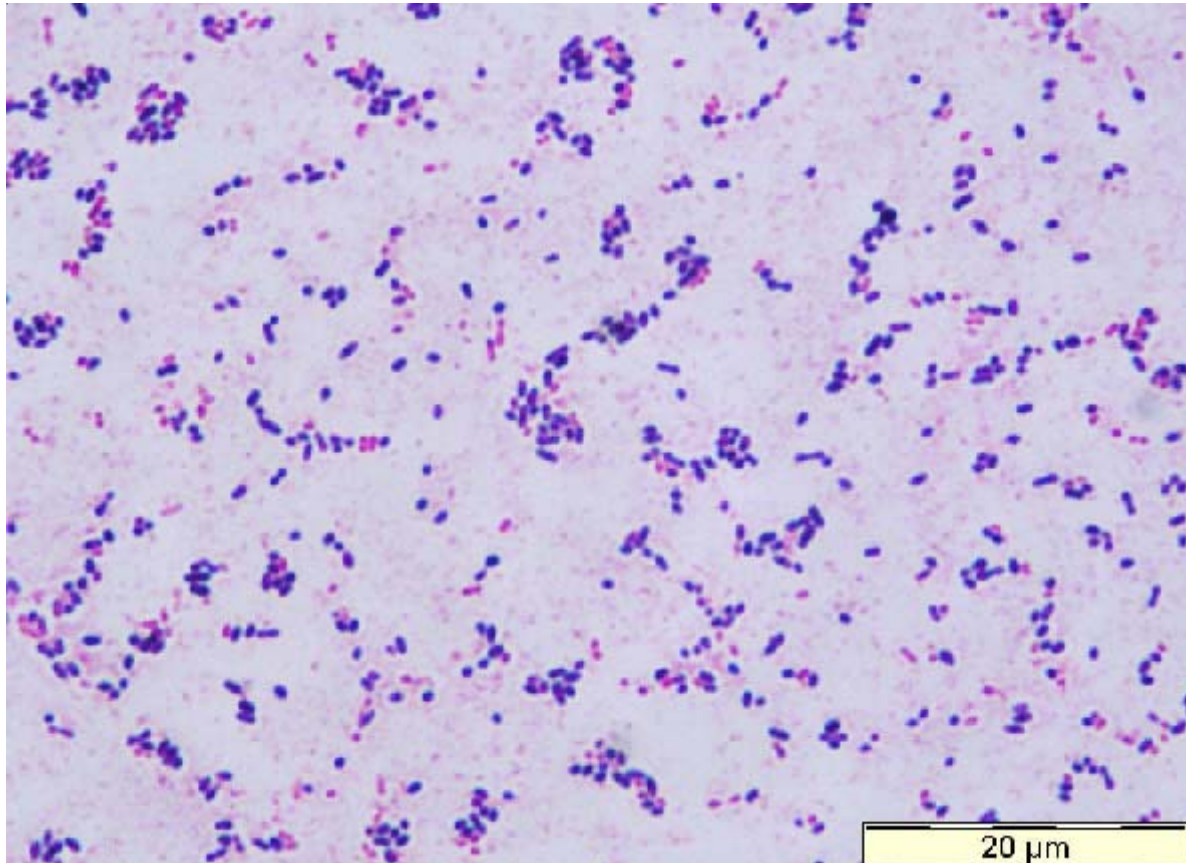


Figure 2.4.2. *Streptococcus pneumoniae* (échantillon M/4937)



REFERENCES

1. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard - Eight edition. NCCLS document M2-A8 , Volume 23 , January 2003
NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard - sixth edition, volume 23 M7-A6, January 2003
2. Changes in the NCCLS breakpoints and laboratory reporting strategies for ceftriaxone/cefotaxime and *Streptococcus pneumoniae* (Clinical Microbiology newsletter 2003, vol 25 p.
3. Pallares R et al. The effect of cephalosporin resistance on mortality in adult patients with nonmeningeal systemic pneumococcal infections. *Am J Med* 2002, 113: 120 - 126.
4. Users guide Neo-sensitabs , Susceptibility testing 16th Ed, 2003, Taastrup, Denmark

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N=207)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées;

3.1. Culture M/4729 *Scopulariopsis brevicaulis* (desquamation de peau) N = 207

| | | |
|---|----|---------|
| Scopulariopsis brevicaulis | 66 | (31,9%) |
| Scopulariopsis species | 91 | (44,0%) |
| Moisissure ¹ | 6 | (2,9%) |
| Penicillium species | 9 | |
| Trichophyton species | 5 | |
| Epidermophyton floccosum | 4 | |
| Dermatophyte | 2 | |
| Scopulariopsis candida | 2 | |
| Chrysosporium species | 1 | |
| Microsporum canis | 1 | |
| Paecilomyces species | 1 | |
| Penicillium sp./Scopulariopsis sp. | 1 | |
| Scedosporium apospermium | 1 | |
| Trichophyton mentagrophytes | 1 | |
| Trichosporon species | 1 | |
| Non pathogène | 1 | |
| N'est pas effectué dans le laboratoire ² | 7 | |
| Pas de croissance | 2 | |
| Pas de réponse | 5 | |

¹ ces laboratoires effectuent une culture mais ils envoient les moisissures après croissance à un autre laboratoire pour l'identification.

² ces laboratoires n'effectuent pas de culture de moisissure (1 laboratoire a répondu «absence de levure»).

3.2. Culture M/4814 *Salmonella Cerro* (selles) N = 207

| | | |
|---|-----|---------|
| <u>Salmonella species</u> | 187 | (90,3%) |
| <u>Salmonella enterica</u> | 6 | (2,9%) |
| <u>Salmonella species (non groupe A,B,C,D)</u> | 2 | (1,0%) |
| <u>Salmonella species (non groupe A,B,C,D,E)</u> | 1 | (0,5%) |
| <u>Salmonella species (non groupe A,B,C,D,E,G)</u> | 1 | (0,5%) |
| <u>Salmonella species (groupe H-S)</u> | 1 | (0,5%) |
| <u>Salmonella species (OMA nég, OMB nég)</u> | 1 | (0,5%) |
| Salmonella species (groupe II) | 1 | |
| Salmonella species (groupe D) | 2 | |
| Salmonella Aarhus | 1 | |
| Salmonella Arizonae | 1 | |
| Salmonella Enteritidis | 1 | |
| Pas de pathogènes | 1 | |
| Pas dans le domaine d'application (réponse d'un laboratoire d'une firme) | 1 | |

3.3. Culture M/4918 *Haemophilus influenzae* (hémoculture)
N = 207

| | | |
|--|-----|---------|
| <u>Haemophilus influenzae</u> | 199 | (96,1%) |
| <u>Haemophilus influenzae biotype II</u> | 1 | (0,5%) |
| Haemophilus influenzae sérotype b | 2 | |
| Haemophilus influenzae sérotype c | 1 | |
| Haemophilus influenzae biotype III | 1 | |
| Haemophilus parainfluenzae | 3 | |

3.4. Culture M/4937 *Streptococcus pneumoniae* (aspiration)
N = 207

| | | |
|---------------------------------|-----|---------|
| <u>Streptococcus pneumoniae</u> | 205 | (99,0%) |
| <u>Pneumocoque</u> | 1 | (0,5%) |
| <u>Diplococcus pneumoniae</u> | 1 | (0,5%) |

IV. ANTIBIOGRAMME

4.1. Culture M/4937

Nombre de participants = 205 (2 laboratoires qui ont identifié le germe, n'ont pas effectué l'antibiogramme).

Tous les laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques. Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs céphalosporines. Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes ; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat de la CMI dans le tableau suivant.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4937 (*S.pneumoniae*).

| | S | I/S | I | I/R | R | Détermination de la CMI nécessaire ¹ | Pas de résultat final ² |
|---|-----|-----|----|-----|-----|---|------------------------------------|
| Oxacilline | 0 | 0 | 5 | 1 | 124 | 1 | 50 |
| Pénicilline | 0 | 0 | 89 | 2 | 84 | 8 | 12 |
| Méropénem | 84 | 0 | 15 | 0 | 2 | 8 | 8 |
| Imipénem | 20 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 1 |
| Vancomycine | 196 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Céphalosporines 3 ^e génération | | | | | | | |
| Céfotaxime | 44 | 1 | 32 | 0 | 9 | 6 | 5 |
| Ceftriaxone | 47 | 0 | 11 | 1 | 2 | 3 | 1 |
| Ceftazidime | 1 | 0 | 1 | 0 | 7 | 3 | 0 |
| Céfépime | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Ceftizoxime | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| "Céphalosporine" ³ | 6 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |

¹ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'aide d'un test de diffusion sans donner d'interprétation définitive; ils ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire (un test dont ces laboratoires ne disposent pas).

² Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité sans donner d'interprétation définitive (dans quelques cas même le résultat brut n'a pas été mentionné).

³ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine utilisée.

Lorsque la méthode complète était reprise, nous avons déterminé le diamètre médian, minimum et maximum pour les méthodes de diffusion sur disque selon NCCLS et ROSCO (NEO-SENSITABS).

Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée ou ne mentionnent pas la charge des disques utilisés ; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires rapportent un diamètre égal à « zéro » dans le cas où il y a une croissance jusqu'au bord du disque. Il est toutefois conseillé de ne pas répondre « zéro » dans ces cas, mais de donner le diamètre du disque. Dans ce cas également ces résultats n'ont pas été pris en compte pour les calculs suivants.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon NCCLS pour l'échantillon M/4937 (*S.pneumoniae*).

| Antibiotique | Nombre d'utilisateurs ayant mentionné la charge (nombre total) | Charge | Diamètre médian | Valeurs extrêmes | Résultat (Nombre total) | | | | | | |
|------------------|--|--------|-----------------|------------------|-------------------------|-----|---|-----|----|--------------|--------------|
| | | | | | S | I/S | I | I/R | R | ¹ | ² |
| Oxacilline | 43 (55) | 1 | 6 | 9-19 | 0 | 0 | 1 | 0 | 33 | 0 | 21 |
| Pénicilline | 5 (17) | 10 | 21 | 20-22 | 0 | 0 | 4 | 1 | 8 | 2 | 2 |
| Méropénem | 12 (17) | 10 | 25 | 15-36 | 7 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 6 |
| Imipénem | 3 (4) | 10 | 33 | 32-35 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Vancomycine | 35 (43) | 30 | 22 | 17-27 | 42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Céfotaxime | 6 (8) | 30 | 25,5 | 24-26 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| Ceftriaxone | 2 (6) | 30 | 26 | 25-27 | 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Ceftazidime | 4 (4) | 30 | 13,5 | 13-17 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 |
| Céfépime | 3 (3) | 30 | 24 | 23-24 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| "Céphalosporine" | 2 (2) | 30 | 26 | 25-27 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |

¹ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'aide d'un test de diffusion sans donner d'interprétation définitive; ils ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire (un test dont ces laboratoires ne disposent pas).

² Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité sans donner d'interprétation définitive (dans quelques cas même le résultat brut n'a pas été mentionné).

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/4937 (*S.pneumoniae*).

| Antibiotique | Nombre d'utilisateurs ayant mentionné la charge (nombre total) | Charge | Diamètre médian | Valeurs extrêmes | Résultat (Nombre total) | | | | | | |
|--------------|--|--------|-----------------|------------------|-------------------------|-----|---|-----|----|--------------|--------------|
| | | | | | S | I/S | I | I/R | R | ¹ | ² |
| Oxacilline | 95 (112) | 1 | 9 | 9-12 | 0 | 0 | 1 | 1 | 83 | 1 | 29 |
| Pénicilline | 45 (46) | 5 | 19,5 | 12-25 | 0 | 0 | 9 | 0 | 27 | 2 | 8 |
| Méropénem | 65 (65) | 10 | 31 | 25-50 | 48 | 0 | 6 | 0 | 1 | 5 | 5 |
| Imipénem | 7 (8) | 15 | 42 | 34-46 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Vancomycine | 50 (94) | 5 | 22 | 17-30 | 93 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Céfotaxime | 32 (32) | 30 | 30 | 18-50 | 16 | 0 | 2 | 0 | 6 | 4 | 0 |
| Ceftriaxone | 18 (18) | 30 | 27,5 | 24-33 | 10 | 0 | 5 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Ceftazidime | 7 (7) | 30 | 20 | 16-22 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 2 | 0 |

¹ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'aide d'un test de diffusion sans donner d'interprétation définitive; ils ont mentionné que la détermination de la CMI est nécessaire (un test dont ces laboratoires ne disposent pas).

² Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité sans donner d'interprétation définitive (dans quelques cas même le résultat brut n'a pas été mentionné).

Les résultats obtenus avec le E test sont repris dans le tableau 4.1.4.

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec le E test pour l'échantillon M/4937 (*S.pneumoniae*).

| Antibiotique | MIC (mg/) | | | | | | | | | Résultat | | | | | |
|------------------|---------------------|---------------|--------|------|------|------|-----|----|---|----------|----|-----|----|----|---|
| | Nombre de résultats | Pas mentionné | < 0.06 | 0.06 | 0.12 | 0.25 | 0.5 | 1 | 2 | 4 | S | I/S | I | R | * |
| Oxacilline | 4 | | | | | | 1 | | | 3 | | | 1 | 3 | |
| Pénicilline | 95 | 7 | | | | 6 | 38 | 43 | 1 | | | | 59 | 34 | 2 |
| Méropénem | 20 | 1 | 1 | 8 | 10 | | | | | | 11 | | 9 | | |
| Imipénem | 1 | | | 1 | | | | | | | | | 1 | | |
| Vancomycine | 18 | | | | | 10 | 7 | 1 | | | 17 | | 1 | | |
| Céfotaxime | 33 | 2 | | | | 2 | 19 | 10 | | | 16 | 1 | 15 | 1 | |
| Ceftriaxone | 27 | 2 | | 1 | 13 | 10 | 1 | | | | 19 | | 7 | 1 | |
| Céfépime | 1 | | | | | | | 1 | | | | | | 1 | |
| "Céphalosporine" | 4 | | | 1 | 2 | 1 | | | | | 3 | | 1 | | |

* Un certain nombre de laboratoires ont effectué le E test, mais n'ont pas donné d'interprétation.

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.1.5.

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/4937 (*S.pneumoniae*).

| Antibiotique | Vitek 1 | | | | | | Vitek 2 | | | | | |
|------------------|----------------|---|---|---|--|----------------|---------|----|---|--|--|--|
| | Résultat final | | | Dilution mentionnée le plus fréquemment | Nombre de labs ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs) | Résultat final | | | Dilution mentionnée le plus fréquemment | Nombre de labs ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs) | | |
| | S | I | R | | | S | I | R | | | | |
| Oxacilline | - | 1 | - | - | (1) | - | - | - | - | - | | |
| Pénicilline | - | 2 | - | 1 | (2) | - | 5 | 19 | ≥ 2 | 17 (24) | | |
| Méropénem | - | - | - | - | - | 8 | - | - | 0,12 | 4 (8) | | |
| Imipénem | - | - | - | - | - | 13 | - | - | 0,12 | 10 (13) | | |
| Vancomycine | 1 | - | - | - | (1) | 30 | - | - | ≤ 10 | 24 (30) | | |
| Céfotaxime | - | 1 | - | - | (1) | 7 | 6 | 1 | 1 | 9 (14) | | |
| Ceftriaxone | - | - | - | - | - | 11 | 1 | 1 | 0,5 | 9 (13) | | |
| "Céphalosporine" | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | (1) | | |

Dans la plupart des cas la « dilution mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette dilution. Généralement pour la plupart des antibiotiques les réponses ne diffèrent pas plus d'une dilution. Uniquement pour la pénicilline, 2 laboratoires ont répondu un résultat qui diffère plus fortement de la « dilution mentionnée le plus fréquemment » (0,5 mg/l). Un des laboratoires ayant répondu « I » pour la pénicilline, a donné cette réponse sur base du résultat du E test (le résultat brut du Vitek était en effet « R »). Le laboratoire ayant répondu « R » pour la céfotaxime, a obtenu une valeur de 2 mg/l. Le laboratoire ayant répondu « I » pour la ceftriaxone et celui ayant répondu « R », ont tous les deux obtenu un résultat de 1 mg/l.

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.1.6. La plupart des laboratoires ont mentionné seulement le résultat (S, I ou R) et n'ont pas mentionnés les valeurs obtenues.

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/4937 (*S.pneumoniae*).

| Antibiotique | Résultat | | | |
|--------------|----------|----|---|---|
| | S | I | R | * |
| Oxacilline | | | 2 | 1 |
| Pénicilline | | 11 | 4 | 2 |
| Méropénem | 3 | | | |
| Vancomycine | 17 | | | |
| Céfotaxime | 3 | 9 | | 1 |

* Pour l'oxacilline un laboratoire n'a pas mentionné l'interprétation; pour la pénicilline deux laboratoires n'ont pas répondu d'interprétation. Pour la céfotaxime un laboratoire a mentionné la nécessité de déterminer la CMI.

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a déterminé la sensibilité à la pénicilline et à la ceftriaxone avec une technique de microdilution; un autre laboratoire a utilisé cette technique pour déterminer la sensibilité à une céphalosporine non précisée
- un laboratoire a déterminé la sensibilité à la pénicilline et à la ceftriaxone avec la méthode Pneumopac de Biorad
- neuf laboratoires ont fourni une réponse pour la pénicilline basé sur la résistance à l'oxacilline: 5 ont répondu «R», 4 ont répondu «I» pour la pénicilline; un laboratoire a utilisé le même raisonnement pour répondre «I» pour le méropénem

Finalement il y a 19 laboratoires qui n'ont pas mentionné la méthode utilisée pour un ou plusieurs antibiotiques.

V. PARASITOLOGIE

5.1 Les échantillons

Deux suspensions de selles formolées ont été envoyées : P/2897 et P/4903. Les échantillons étaient accompagnés des renseignements cliniques suivants :

P/2897: Une fillette de 8 ans originaire du Venezuela, en voyage dans notre pays, se plaint de diarrhée et de crampes abdominales.

P/4903: Un enfant de 4 ans à son retour d'un séjour en Afrique orientale présente de vagues plaintes abdominales.

L'échantillon P/2897 contenait des œufs de *Hymenolepis nana* et (en petit nombre) des kystes de *Giardia lamblia*.

L'échantillon P/4903 contenait des œufs (principalement non-fécondés) d'*Ascaris lumbricoides*

5.2 L'échantillon P/2897

5.2.1 Les résultats

Les 196 laboratoires ont fourni 344 réponses. 53 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 138 ont répondu la présence de 2 parasites, et 5 ont répondu la présence de 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Parasites répondus pour l'échantillon P/2897

| Parasite | Nombre |
|--------------------------------|------------|
| <i>Hymenolepis nana</i> | 159 |
| <i>Giardia lamblia</i> | 143 |
| <i>Hymenolepis diminuta</i> | 13 |
| <i>Paragonimus westermani</i> | 6 |
| <i>Enterocytozoon bieneusi</i> | 5 |
| <i>Cyclospora cayetanensis</i> | 3 |
| <i>Ascaris lumbricoides</i> | 2 |
| <i>Cryptosporidium parvum</i> | 2 |
| <i>Endolimax nana</i> | 2 |
| <i>Taenia species</i> | 2 |
| <i>Coccidia</i> | 1 |
| <i>Dypilidium caninum</i> | 1 |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | 1 |
| <i>Enteromonas hominis</i> | 1 |
| <i>Heterophyes heterophyes</i> | 1 |
| <i>Opistorchis viverrini</i> | 1 |
| <i>Taenia saginata</i> | 1 |
| Total | 344 |

Les combinaisons des parasites, répondues par les laboratoires, sont repris dans les tableaux suivants :

Tableau 5.2.2. Combinaisons de 2 parasites répondues pour l'échantillon P/2897

| Combinaisons de parasites | Nombre |
|--|------------|
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 116 |
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i> | 7 |
| <i>Enterocytozoon bieneusi</i> + <i>Paragonimus westermani</i> | 4 |
| <i>Coccidia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 1 |
| <i>Cryptosporidium parvum</i> + <i>Giardia lamblia</i> | 1 |
| <i>Cryptosporidium parvum</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 1 |
| <i>Cyclospora cayetanensis</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i> | 1 |
| <i>Cyclospora cayetanensis</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 1 |
| <i>Endolimax nana</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 1 |
| <i>Enterocytozoon bieneusi</i> + <i>Opisthorchis viverrini</i> | 1 |
| <i>Enteromonas hominis</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 1 |
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Endolimax nana</i> | 1 |
| <i>Taenia saginata</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i> | 1 |
| <i>Taenia species</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 1 |
| Total | 138 |

Tableau 5.2.3. Combinaisons de 3 parasites répondues pour l'échantillon P/2897

| Combinaisons de parasites | Nombre |
|---|----------|
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> | 1 |
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i> | 1 |
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Dipylidium caninum</i> | 1 |
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> | 1 |
| <i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i> + <i>Hymenolepis diminuta</i> | 1 |
| Total | 5 |

Le laboratoire ayant mentionné 2 fois *Giardia lamblia*, a mentionné deux stades d'évolution différents.

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Hymenolepis nana* et *Giardia lamblia* sont repris dans les tableaux suivants :

Tableau 5.2.4. Stades d'évolution d'*Hymenolepis nana* pour l'échantillon P/2897

| Stade d'évolution | Nombre de laboratoires |
|-------------------|------------------------|
| Œuf | 151 |
| Kyste | 5 |
| Oocyste | 1 |
| Non précisé | 2 |
| Total | 159 |

Tableau 5.2.5. Stades d'évolution de *Giardia lamblia* pour l'échantillon P/2897

| Stade d'évolution | Nombre de laboratoires |
|-------------------|------------------------|
| Kyste | 137 |
| Trophozoïte | 3 |
| Oocyste | 1 |
| Forme végétative | 1 |
| Non précisé | 1 |
| Total | 159 |

Nous suspectons que certains participants utilisent encore d'anciens codes. Nous voulons insister pour que tous les participants utilisent les codes les plus récents (2003). Les laboratoires ne disposant plus de ces codes peuvent les obtenir sur simple demande ; ils sont également consultables sur notre site web à la page suivante :

<http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/Documents%20Word/CODES%20PARASITOLOGIE%20FR.pdf>

5.2.2 Commentaire

Nous référons aux rapports globaux 2003/3 (*Hymenolepis nana*) et 2003/3 (*Giardia lamblia*).

5.3 L'échantillon P/4903

5.3.1 Résultats

Les 196 laboratoires ont fourni 199 réponses. 193 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 3 ont répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Parasites répondus pour l'échantillon P/4903

| Parasite | Nombre |
|-------------------------------|------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> | 173 |
| Absence de parasites | 13 |
| <i>Capillaria hepatica</i> | 7 |
| <i>Giardia lamblia</i> | 2 |
| <i>Hymenolepis nana</i> | 2 |
| <i>Blastocystis hominis</i> | 1 |
| <i>Cryptosporidium parvum</i> | 1 |
| Total | 199 |

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Ascaris lumbricoides* sont repris dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.2. Stades d'évolution d'*Ascaris lumbricoides* pour l'échantillon P/4903

| Stade d'évolution | Nombre de laboratoires |
|-------------------|------------------------|
| Œuf | 165 |
| Œuf atypique | 4 |
| Oocyste | 2 |
| Forme végétative | 1 |
| Non précisé | 1 |
| Total | 173 |

5.3.2 Commentaire

Définition

Les nématodes (vers ronds) *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, et *Ancylostoma duodenale* ou *Necator Americanus* (deux vers apparentés avec une distribution géographique différente) sont les helminthes les plus répandus (1, 4). On estime qu'au moins un milliard d'hommes sont infectés avec au moins une de ces trois espèces (4). On peut estimer qu'environ 50 % et même plus d'enfants africains scolarisés sont parasités par une de ces trois espèces (1). *A. lumbricoides* est le plus grand de ces vers ronds. Comme la plupart des nématodes, les femelles adultes (20-45 cm) sont plus grandes que les mâles (15-30 cm). Les extrémités caudales des adultes mâles ont une forme typiquement recourbée. (figure 1).

Cycle

Nous référons au rapport 1999/01 et à la référence 5.

Les œufs (jusqu'à 200.000 par femelle par jour) sont éliminés dans les selles et ne deviennent contagieux qu'après au moins deux semaines (après une maturation de quelques jours dans un milieu chaud et humide). Ces œufs sont très résistants dans l'environnement (survie jusqu'à 10 ans). Après ingestion d'un œuf, la larve qui en sort, passe à travers la paroi de l'intestin et arrive via le système portal dans les poumons. Via les alvéoles, les larves atteignent les voies respiratoires supérieures pour être dégluties et se développer jusqu'à la forme adulte dans l'intestin grêle. La migration dans les poumons peut être accompagnée de fièvre et de bronchopneumonie (syndrome de Löffler) ; une éosinophilie est souvent présente à ce stade. Les larves d'*Ascaris suum* (espèce apparentée du porc) peuvent également migrer jusque dans les poumons. Les larves de *Toxocara canis* (chien) et *T. cati* (chat) peuvent également migrer dans les tissus (larva migrans visceralis) et les yeux (*T. canis*, larva migrans ocularis).

Une parasitose faible avec *A. lumbricoides* est habituellement bien tolérée. Les infections massives peuvent causer éventuellement une obstruction intestinale avec un enchevêtrement de vers. Ces *Ascaris* sont à l'origine d'une importante perte de protéines de la nourriture (déjà pauvre en protéines) des enfants dans les pays en voie de développement. Les vers peuvent également migrer vers l'estomac pour être vomis, mais aussi vers les voies biliaires, le pancréas ou même causer un abcès sous-phrénique. La durée de vie maximale des vers adultes est de deux ans.

Diagnostic

Le diagnostic se fait par la détection des œufs dans les selles. L'œuf fécondé (55-75 sur 35-50 μm) d'*A. lumbricoides* a un aspect typique, ovale, brun (à cause de la présence de sels biliaires), entouré d'une coque mammelonnée et irrégulière et contient un zygote (figure 2). Une vue supérieure de l'œuf peut clairement montrer la coque irrégulière (figure 3). Les œufs non-fécondés sont également retrouvés fréquemment. Ceux-ci sont plus longs et plus étroits (85-95 sur 43-47 μm) (figure 4). Les œufs retrouvés en dehors de l'intestin, comme l'œuf originare d'un abcès sous-phrénique montré dans la figure 5, n'ont pas de coque externe. Le zygote rond est clairement visible. Il est possible qu'on ne retrouve pas d'œufs quand il n'y a que des vers males.

Thérapie

Le traitement de choix reste le mébendazole (découvert dans notre pays par le Dr. Vet. D. Thienpont et ses collaborateurs de Janssen-Pharmaceutica) (1, 2). Les alternatives sont l'albendazole et le pamoate de pyrantel (2).

M. Lontie, MCH Leuven et K. Vernelen, WIV Brussel

Figure 1 *A. lumbricoides*: vers adulte male à l'extrémité caudale recourbée

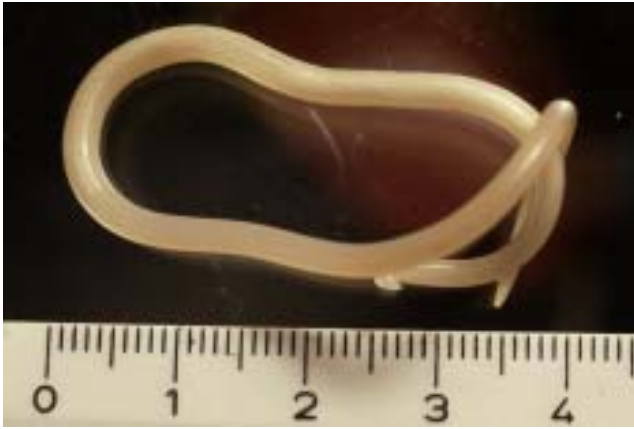


Figure 2 *A. lumbricoides*: œuf fécondé

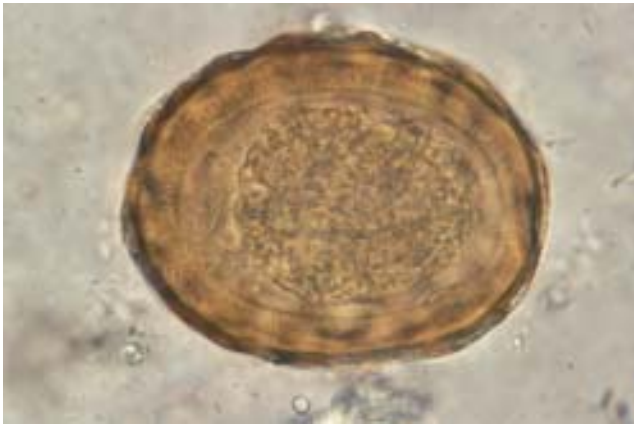


Figure 3 *A. lumbricoides*: œuf fécondé (vue supérieure)



Figure 4 a en b *A. lumbricoides* : œufs non-fécondés (échantillon P/4903)



Figure 5 *A. lumbricoides* : œuf d'un abcès sous-phrénique



REFERENCES

1. 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.
2. Sanford J., Gilbert D., Moellering R. & Sande M. 2003. *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2003-2004*. Antimicrobial Therapy, Inc. Vermont.
3. Vandepitte J. 1988. *Helminthologie médicale*. Acco, Leuven.
4. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~parasite/morbidity.html>
5. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Ascariasis.htm>

VI. SEROLOGIE

6.1. Description des échantillons

Deux échantillons lyophilisés, S/4662 et S/4663, ont été envoyés pour y effectuer des tests de HAV et HBV.

Les deux échantillons étaient accompagnés l'information clinique suivante :
«Patients souffrant de jaunisse»

L'échantillon S/4662 ne contenait pas d'anticorps anti-HAV.

L'échantillon S/4663 contenait des anticorps anti-HAV IgG mais ne contenait pas d'anticorps anti-HAV IgM.

Les deux échantillons étaient positifs pour l'AgHBs, l'Ac anti-HBc et l'Ac anti-HBe et négatifs pour l'Ac anti-HBs et l'AgHBe.

6.2. HAV

6.2.1 Les participants

Au total 192 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. La plupart des laboratoires ont déterminé tant les anticorps totaux que les IgM. Les laboratoires ayant mentionné qu'ils déterminaient les IgG, ont utilisé pour ceci les trousse destinées à la détermination des anticorps totaux ; ces laboratoires sont repris dans les tableaux ci-dessous sous l'entête « anticorps totaux ». Un laboratoire a déterminé les anticorps totaux avec deux méthodes différentes. Deux laboratoires n'ont déterminé que les anticorps totaux ; 28 laboratoires n'ont déterminé que les IgM.

6.2.2 Réactifs utilisés

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

Tableau 6.2.1 Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HAV totaux

| Fabricant | Réactif | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|---------------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSym HAVAB 2.0 | 80 | 80 |
| | IMx HAVAB | 2 | 2 |
| | HAVAB EIA | 1 | 1 |
| Beckman | Access HAV AB | 13 | 13 |
| | Synchron LXi HAV Ab | 3 | 3 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| bioMérieux | VIDAS anti-HAV total | 30 | 30 |
| Dade Behring | Enzygnost anti-HAV | 1 | 1 |
| Diasorin | ETI-AB-HAVK 3 | 7 | 7 |
| | LIAISON Anti-HAV | 4 | 4 |
| | AB-HAVK | 3 | 3 |
| | ETI-AB-HAVK PLUS | 2 | 2 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi anti-HAV Total | 1 | 1 |
| Roche | Modular anti-HAV | 8 | 8 |
| | Elecsys anti-HAV | 6 | 6 |
| Non précisé | Non précisé | 2 | 2 |
| Total | | 165 | 165 |

Tableau 6.2.2 Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HAV IgM

| Fabricant | Réactif | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|-------------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSym HAVAB 2.0 M | 92 | 92 |
| | IMx HAVAB 2.0 M | 4 | 4 |
| Bayer | Centaur HAV IgM | 2 | 2 |
| Beckman | Access HAV IgM | 11 | 11 |
| | Synchron LXi HAV IgM | 3 | 3 |
| bioMérieux | VIDAS HAV IgM | 40 | 40 |
| BioRad | HAV IgM assay | 1 | 1 |
| Diasorin | ETI-AB-IGMK-2 | 5 | 5 |
| | ETI-AB-IGMK PLUS | 3 | 3 |
| | LIAISON HAV IgM | 3 | 3 |
| | HA-IGMK | 2 | 2 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi anti-HAV IgM | 8 | 8 |
| Roche | Modular anti-HAV | 7 | 7 |
| | Elecsys anti-HAV | 7 | 7 |
| Non précisé | Non précisé | 1 | 1 |
| Total | | 190 | 190 |

6.2.3 Résultats

L'échantillon S/4662

Les anticorps totaux ont été trouvés négatifs par 162 laboratoires (le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux avec 2 méthodes différentes, les a trouvés négatifs avec les deux méthodes). Un laboratoire a obtenu un résultat borderline et un laboratoire a obtenu un résultat positif.

Tous les 190 laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvées négatives.

Un aperçu de ces résultats est présenté dans le tableau 6.2.3.

Tableau 6.2.3. Résultats (nombre de laboratoires) pour l'HAV pour l'échantillon S/4662

| | Ig totaux | IgM |
|------------|-----------|-----|
| Positif | 1 | |
| Borderline | 1 | |
| Négatif | 162 | 190 |
| Total | 164 | 190 |

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau ci-dessous

Tableau 6.2.4. L'interprétation pour l'HAV pour l'échantillon S/4662

| Interprétation | Nombre de laboratoires |
|--|------------------------|
| Sérologie négative | 178 |
| Pas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite A | 6 |
| L'interprétation ne peut pas être effectuée à base des IgM seuls | 4 |
| Sérologie négative pour les IgM | 1 |
| Infection par le virus de l'hépatite A | 1 |
| Immunité | 1 |
| Pour déterminer l'immunité: déterminer les IgG | 1 |
| Total | 192 |

Dix-sept laboratoires ayant répondu « Sérologie négative », ont donné cette réponse sur base d'une détermination des IgM seuls. Tous les laboratoires ayant répondu « Pas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite A », « L'interprétation ne peut pas être effectuée à base des IgM seules », « Sérologie négative pour les IgM », « Pour déterminer l'immunité: déterminer les IgG » et « Infection par le virus de l'hépatite A » ont également donné ces réponses sur base d'une détermination des IgM seules. Cette dernière interprétation (« Infection par le virus de l'hépatite A ») a été mentionnée par un laboratoire ayant trouvé les IgM négatives ; il peut s'agir d'une interprétation fautive des codes.

La réponse « Immunité » a été mentionnée par le laboratoire ayant trouvé les anticorps totaux positifs. Le laboratoire ayant obtenu un résultat borderline pour les anticorps totaux, a néanmoins mentionné l'interprétation « Sérologie négative ».

133 des laboratoires ayant répondu « Sérologie négative », ont mentionné une remarque. Ces remarques sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.2.5. Remarques mentionnées par les laboratoires ayant répondu «Sérologie négative» pour l'HAV pour S/4662

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|--|------------------------|
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 110 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 19 |
| Tests complémentaires | 3 |
| Etant donné que l'hépatite B est positif : diagnostic : HBV ; si ces tests avaient été négatifs, un nouveau prélèvement après 3 semaines et la détermination d'une autre cause de la jaunisse seraient à conseiller. | 1 |
| Total | 133 |

Les tests complémentaires conseillés étaient:

- HAV IgG (même si ce laboratoire a trouvé non seulement les IgM mais aussi les anticorps totaux positifs)
- sérologie de l'HBV et de l'HCV et détermination des transaminases
- sérologie de l'HBV et de l'HCV et contrôle de la sérologie de l'HAV

Il reste à mentionner que quelques laboratoires n'ayant déterminé que les IgM ont conseillé de déterminer les IgG ou les anticorps totaux afin de connaître le statut immunologique du patient et qu'un laboratoire n'ayant déterminé que les anticorps totaux (et ayant mentionné l'interprétation « Sérologie négative ») a néanmoins conseillé la détermination des IgM.

L'échantillon S/4663:

Les anticorps totaux ont été considérés positifs par 163 laboratoires (le laboratoire ayant déterminé les anticorps totaux avec 2 méthodes différentes, les a trouvés positifs avec les deux méthodes). Un laboratoire a obtenu un résultat négatif.

Tous les 190 laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatifs.

Un aperçu de ces résultats est présenté dans le tableau 6.2.6.

Tableau 6.2.6. Résultats (nombre de laboratoires) pour l'HAV pour l'échantillon S/4663

| | Ig totaux | IgM |
|------------|-----------|-----|
| Positif | 163 | |
| Borderline | | |
| Négatif | 1 | 190 |
| Total | 164 | 190 |

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau ci-dessous

Tableau 6.2.7. L'interprétation pour l'HAV pour l'échantillon S/4663

| Interprétation | Nombre de laboratoires |
|--|------------------------|
| Immunité | 160 |
| Sérologie négative | 16 |
| Pas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite A | 6 |
| L'interprétation ne peut pas être effectuée à base des IgM seuls | 4 |
| Infection par le virus de l'hépatite A | 2 |
| Sérologie négative pour les IgM | 1 |
| Pour déterminer l'immunité: déterminer les IgG | 1 |
| Immunité pour le virus de l'hépatite A par infection naturelle | 1 |
| Infection ou immunité | 1 |
| Total | 192 |

Quinze des seize laboratoires ayant répondu « Sérologie négative », ont donné cette réponse sur base d'une détermination des IgM seuls. Le 16^{ème} laboratoire ayant répondu « Sérologie négative » était le laboratoire ayant obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux. Tous les laboratoires ayant répondu « Pas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite A », « L'interprétation ne peut pas être effectuée à base des IgM seules », « Sérologie négative pour les IgM », « Pour déterminer l'immunité: déterminer les IgG » et un laboratoire ayant donné l'interprétation « Infection par le virus de l'hépatite A », ont également donné ces réponses sur base d'une détermination des IgM seules. Le laboratoire ne déterminant que les IgM et ayant donné cette dernière interprétation (« Infection par le virus de l'hépatite A ») a néanmoins obtenu un résultat négatif pour IgM; il peut s'agir d'une interprétation fautive des codes.

L'autre laboratoire ayant répondu « Infection par le virus de l'hépatite A » a trouvé les anticorps totaux positifs et les IgM négatifs.

La réponse « Infection ou immunité » a été mentionnée par un laboratoire qui ne détermine que les anticorps totaux (et les a trouvés positifs). L'interprétation « Immunité pour le virus de l'hépatite A par infection naturelle » a été mentionnée par un laboratoire ayant trouvé les anticorps totaux positifs et les IgM négatifs.

122 des laboratoires ayant répondu « Immunité », ont mentionné une remarque. Ces remarques sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.2.8. Remarques mentionnées par les laboratoires ayant répondu « Immunité » pour l'HAV pour S/4663

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 115 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 4 |
| Tests complémentaires | 3 |
| Total | 122 |

Les tests complémentaires conseillés étaient:

- sérologie de l'HBV, de l'HCV, de l'EBV et du CMV et détermination des transaminases
- sérologie de l'HBV et de l'HCV et détermination des transaminases
- sérologie de l'HBV et de l'HCV

6.2.4. Discussion des résultats de l'enquête

Dans l'ensemble les résultats sont très bons puisqu'ils sont tous concordants, excepté un résultat borderline pour l'échantillon S/4662 et des résultats tout à fait discordants fournis par un laboratoire. Dans ce cas, il s'agit peut-être d'une inversion des échantillons ou des résultats.

L'intérêt de la discussion sera donc centré sur les interprétations. D'après les renseignements cliniques fournis (ictère), la réalisation des IgM était prioritaire, ce qui a été réalisé par la grande majorité des laboratoires.

Lors d'une infection par HAV, les IgM apparaissent généralement avant le début des symptômes, atteignent un pic rapidement (1-2 sem.) puis diminuent et disparaissent en 3 à 6 mois chez la plupart des patients, parfois elles sont détectables plus longtemps. Les IgG apparaissent quasi simultanément, parfois avec un décalage d'une semaine, et persistent généralement toute la vie. La plupart des tests disponibles ne détectent pas des IgG isolées mais bien des anticorps totaux.

Pour les laboratoires qui ont réalisé les IgM et les anticorps totaux : Concernant l'échantillon S/4662, les commentaires « sérologie négative » et « pas d'infection aiguë » sont corrects. Étant donné la présence d'IgM dès le début des symptômes lors d'une infection par HAV, une confirmation n'est pas nécessaire, sauf éventuellement pour exclure une erreur de prélèvement. Concernant l'échantillon S/4663, le commentaire le plus fréquent et correct était « immunité ».

Le commentaire « Immunité par infection naturelle » n'est pas utilisable puisque la sérologie ne permet pas de faire la différence entre immunité naturelle et immunité par vaccination, contrairement à la sérologie HBV.

Pour les laboratoires qui n'ont réalisé que les IgM, le résultat négatif de celles-ci permettait d'exclure une infection récente pour les deux échantillons. Par contre le commentaire « sérologie négative » n'est pas approprié, la détection des IgG ou des anticorps totaux n'ayant pas été faite. Comme mentionné plus haut, une confirmation n'est pas nécessaire.

Pour les laboratoires ne réalisant que les anticorps totaux, un résultat négatif pour l'échantillon S/4662 permettait d'exclure une infection récente. Pour l'échantillon S/4663, le commentaire « Infection ou immunité » était correct. Avec les renseignements cliniques fournis, une recherche des IgM devait être proposée comme test complémentaire.

M.L. Delforge, ULB, Bruxelles

6.3. HBV

6.3.1 Les participants

Nous avons reçu 203 réponses (203 laboratoires ont analysé la sérologie de l'hépatite B pour l'échantillon S/4662 et 202 laboratoires pour l'échantillon S/4663).

6.3.2 Réactifs utilisés

Les tableaux 6.3.1 jusque 6.3.7 illustrent le nombre d'utilisateurs des différentes trousse pour les différents paramètres. Tous les laboratoires n'ont pas analysé tous les paramètres. Certains laboratoires ont analysé un paramètre avec plusieurs réactifs :

Tableau 6.3.1. Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBs

| Fabricant | Trousse | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|---------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSym HBsAg | 76 | 76 |
| | Architect HBsAg | 18 | 18 |
| | IMx HBsAg | 3 | 3 |
| | PRISM HBsAg | 1 | 1 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| Bayer | Centaur HBsAg | 6 | 5 |
| Beckman (Analis) | Access HBsAg | 20 | 20 |
| bioMérieux | VIDAS HBsAg | 22 | 22 |
| BioRad | Monolisa HBsAg Plus | 1 | 1 |
| Dade Behring | Enzygnost HBsAg 5.0 | 1 | 1 |
| Diasorin | ETI-MAK-4 | 9 | 9 |
| | LIAISON HBsAg | 2 | 2 |
| DPC | Immulite HBsAg | 9 | 9 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi HBsAg | 12 | 12 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| Roche | Elecsys HBsAg | 11 | 11 |
| | Modular HBsAg | 8 | 8 |
| Non précisé | Non précisé | 1 | 1 |
| Total | | 202 | 201 |

Tableau 6.3.2. Réactifs utilisés pour la confirmation de l'antigène HBs

| Fabricant | Trousse | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|-----------------------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSym HBsAg confirmatory | 4 | 3 |
| Beckman (Analis) | Access HBsAg confirmatory | 4 | 4 |
| bioMérieux | VIDAS HBsAg confirmation | 3 | 3 |
| Dade Behring | Enzygnost HBsAg confirmatory test | 1 | 1 |
| DPC | Immulite HBsAg confirmatory | 1 | 1 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi HBsAg confirmatory | 2 | 2 |
| Total | | 15 | 14 |

Tableau 6.3.3. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBs

| Fabricant | Trousse | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|-----------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSym AUSAB | 77 | 77 |
| | Architect AUSAB | 15 | 15 |
| | IMx AUSAB | 3 | 3 |
| | AUSAB EIA | 1 | 1 |
| Bayer | Centaur anti-HBs | 7 | 6 |
| Beckman (Analys) | Access HBsAb | 1 | 1 |
| bioMérieux | VIDAS anti-HBs Total | 36 | 36 |
| Dade Behring | Enzygnost anti-HBs II | 1 | 1 |
| Diasorin | ETI-AB-AUK-3 | 9 | 9 |
| | LIAISON anti-HBs | 3 | 3 |
| | AB-AUK-3 | 1 | 1 |
| DPC | Immulite anti-HBs | 12 | 12 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi anti-HBs | 12 | 12 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| Roche | Elecsys anti-HBs | 12 | 12 |
| | Modular anti-HBs | 8 | 8 |
| Non précisé | Non précisé | 1 | 1 |
| Total | | 200 | 199 |

Tableau 6.3.4. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBc totaux

| Fabricant | Trousse | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|-------------------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSYM CORE | 73 | 73 |
| | Architect CORE | 16 | 16 |
| | IMx CORE | 2 | 2 |
| Bayer | Centaur HBc total | 6 | 5 |
| Beckman (Analys) | Access HBc Ab | 18 | 17 |
| bioMérieux | VIDAS Anti HBc Total II | 26 | 26 |
| Dade Behring | Enzygnost anti HBc monoclonal | 1 | 1 |
| DiaSorin | ETI-AB-COREK-2 | 6 | 6 |
| | ETI-AB-COREK PLUS | 2 | 2 |
| | LIAISON anti-HBc | 2 | 2 |
| | AB-COREK | 1 | 1 |
| | Non précisé | 2 | 2 |
| DPC | Immulite anti-HBc | 7 | 7 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi anti-HBc | 8 | 8 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| Roche | Elecsys anti-HBc | 9 | 9 |
| | Modular anti-HBc | 8 | 8 |
| Non précisé | Non précisé | 1 | 1 |
| Total | | 189 | 187 |

Tableau 6.3.5. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBc IgM

| Fabricant | Trousse | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|-------------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSYM CORE-M | 13 | 13 |
| | Non précisé | 1 | 1 |
| Bayer | Centaur HBc IgM | 1 | 1 |
| bioMérieux | VIDAS HBc IgM II | 11 | 11 |
| DiaSorin | ETI-CORE-IGMK-2 | 1 | 1 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi anti-HBc IgM | 3 | 3 |
| Roche | Modular anti-HBc IgM | 1 | 1 |
| Total | | 31 | 31 |

Tableau 6.3.6. Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBe

| Fabricant | Trousse | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|--------------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSYM HBe 2.0 | 16 | 16 |
| bioMérieux | VIDAS HBe/Anti HBe | 10 | 10 |
| DiaSorin | ETI EBK (HBeAG/anti-HBe) | 1 | 1 |
| | EBK | 1 | 1 |
| DPC | Immulite HBe Ag | 1 | 1 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi HBeAg | 1 | 1 |
| Roche | Modular HBeAg | 2 | 2 |
| | Elecsys HBeAg | 1 | 1 |
| Non précisé | Non précisé | 2 | 2 |
| | Modular HBeAg | | |
| Total | | 35 | 35 |

Tableau 6.3.7. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBe

| Fabricant | Trousse | S/4662 | S/4663 |
|-------------------|--------------------------|--------|--------|
| Abbott | AxSYM anti-HBe | 20 | 19 |
| | Architect antiHBe | 2 | 2 |
| bioMérieux | VIDAS HBe/Anti HBe | 9 | 9 |
| DiaSorin | ETI EBK (HBeAG/anti-HBe) | 2 | 2 |
| Ortho Diagnostics | Vitros ECi anti-HBe | 2 | 2 |
| Roche | Modular anti-HBe | 2 | 2 |
| | Elecsys anti-HBe | 1 | 1 |
| Non précisé | Non précisé | 2 | 2 |
| | Modular HBeAg | | |
| Total | | 40 | 39 |

Il reste à mentionner que deux laboratoires ont déterminé les anticorps anti-HCV.

6.3.3 Résultats

6.3.3.1 L'échantillon S/4662

Les résultats réponsus par les laboratoires pour les différents paramètres sont représentés dans le tableau 6.3.8.

Tableau 6.3.8. Résultats pour l'échantillon S/4662

| | HBs Ag ¹ | HBs Ag conf | HBs Ac | HBc Ac tot ² | HBc IgM | HBe Ag | HBe Ac |
|------------|---------------------|-------------|--------|-------------------------|---------|--------|--------|
| Positif | 199 | 15 | | 187 | 2 | | 40 |
| Borderline | | | 1 | | | | |
| Négatif | | | 199 | 1 | 29 | 35 | |
| Total | 199 | 15 | 200 | 188 | 31 | 35 | 40 |

¹ Trois laboratoires ont déterminé l'antigène HBs avec 2 réactifs différents; les deux résultats étaient positifs dans les trois cas.

² Un laboratoire a déterminé les anticorps HBc avec 2 réactifs différents; les deux résultats étaient positifs.

Les interprétations proposées par les laboratoires sont représentées dans le tableau 6.3.9.

Tableau 6.3.9. Interprétations pour l'échantillon S/4662

| Interprétation | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Infection par le virus de l'hépatite B | 117 |
| Infection aiguë par le virus de l'hépatite B | 43 |
| Infection chronique par le virus de l'hépatite B | 34 |
| Immunité par infection naturelle par le virus de l'hépatite B | 3 |
| Pas d'interprétation ¹ | 2 |
| Infection par le virus de l'hépatite B en voie de guérison ou porteur chronique | 1 |
| Anti HBc positif ² | 1 |
| Infection chronique persistante ou porteur ³ | 1 |
| Compléter par tests complémentaires ⁴ | 1 |
| Total | 203 |

¹ Un de ces deux laboratoires n'a déterminé que l'antigène HBs Ag et les anticorps anti-HBs; l'autre laboratoire a déterminé l'antigène HBs et les anticorps anti-HBc; les deux laboratoires ont déclaré qu'il était impossible de fournir une interprétation adéquate sur base que de deux résultats.

² Ce laboratoire n'a déterminé que les anticorps HBc IgM.

³ Cette interprétation est basé sur les résultats suivants: Hbs Ag positif, HBs Ac négatif et HBc IgM négatif.

⁴ Ce laboratoire à déterminé HBs Ag, HBs Ac et HBc Ac et a conseillé de déterminer HBe Ag et HBe Ac.

Le laboratoire ayant obtenu un résultat négatif pour les anticorps HBc totaux, a répondu « Infection aiguë par le virus de l'hépatite B ». Un des laboratoires ayant obtenu un résultat négatif pour le HBc IgM était le laboratoire qui avait répondu «Anti HBc positif»; l'autre laboratoire ayant obtenu ce résultat (HBc IgM positif), a donné comme interprétation « Infection par le virus de l'hépatite B » (sur base des résultats suivants : HBs Ag +, HBs Ac -, HBc IgM +, HBe Ag -, HBe Ac +).

Pour les trois interprétations mentionnées le plus, nous reprenons dans les tableaux suivants les remarques des laboratoires et, au cas où ils ont conseillé d'effectuer des tests complémentaires, ces tests complémentaires.

Tableau 6.3.10. Remarques proposées pour l'échantillon S/4662 par les laboratoires ayant répondu « Infection par le virus de l'hépatite B ».

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Tests complémentaires | 68 |
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 26 |
| Pas de remarques | 11 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 6 |
| Tests complémentaires + Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 5 |
| Tests complémentaires ou Une confirmation n'est pas nécessaire ¹ | 1 |
| Total | 117 |

¹ Réponse fournie en tant que telle par un laboratoire.

Tableau 6.3.11. Aperçu des tests complémentaires proposés par les laboratoires, ayant répondu pour l'échantillon S/4662 « Infection par le virus de l'hépatite B ».

| Tests complémentaires | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| HBe Ag, HBe Ac | 22 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM | 14 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale, anamnèse + informations cliniques, suivi après 6 semaines | 3 |
| HBe Ag, HBe As, ADN virale | 3 |
| HBe Ag | 2 |
| HBe Ag, GPT | 1 |
| HBe Ag, HBc IgM | 1 |
| HBe Ag, HBc totaux, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBs Ac | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM, HAV IgM | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM, HCV, EBV, CMV | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBs Ag confirmation | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, test hépatiques | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale, transaminases | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, ADN virale | 1 |
| HBe Ac, HBc IgM, ADN virale, autres virus hépatotropiques | 1 |
| HBe Ag, HBs Ag, HBC IgM | 1 |
| HBc IgM | 7 |
| HBc IgM, ADN virale | 1 |
| HBc IgM, transaminases | 1 |
| HBs Ag confirmation | 2 |
| ADN virale | 1 |
| ADN virale, contrôle après 6 mois | 1 |
| Transaminases | 1 |
| Contrôler la sérologie antérieure ou contrôler après 6 mois | 1 |
| Contrôler après 3 mois | 1 |
| Total | 74 |

Les laboratoires conseillent surtout la détermination de l'antigène HBe (58 laboratoires).

Tableau 6.3.12. Remarques proposées pour l'échantillon S/4662 par les laboratoires ayant répondu «Infection aiguë par le virus de l'hépatite B».

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Tests complémentaires | 15 |
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 15 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 6 |
| Pas de remarques | 5 |
| Tests complémentaires + Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 2 |
| Total | 43 |

Tableau 6.3.13. Aperçu des tests complémentaires proposés par les laboratoires, ayant répondu pour l'échantillon S/4662 « Infection aiguë par le virus de l'hépatite B ».

| Tests complémentaires | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| HBe Ag, HBe Ac | 5 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM | 1 |
| HBe Ag | 1 |
| HBe Ag, ADN virale; HBs Ac et Ag après 6 mois | 1 |
| HBe Ac | 1 |
| HBe Ac, HBc IgM | 1 |
| HBc IgM | 3 |
| HBc IgM, Ag HBs confirmation | 1 |
| HBs Ag confirmation | 2 |
| Transaminases | 1 |
| Total | 17 |

Tableau 6.3.14. Remarques proposées pour l'échantillon S/4662 par les laboratoires ayant répondu « Infection chronique par le virus de l'hépatite B ».

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Tests complémentaires | 19 |
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 9 |
| Pas de remarques | 4 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 2 |
| Total | 34 |

Tableau 6.3.15. Aperçu des tests complémentaires proposés par les laboratoires, ayant répondu pour l'échantillon S/4662 « Infection aiguë par le virus de l'hépatite B ».

| Tests complémentaires | Nombre de laboratoires |
|--|------------------------|
| HBe Ag, HBe Ac | 6 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale | 2 |
| HBe Ag | 1 |
| HBe Ag, HBc IgM, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, HBc totaux | 1 |
| HBe Ac, ADN virale | 2 |
| HBs Ag confirmation | 1 |
| ADN virale | 3 |
| ADN virale, transaminases | 1 |
| Les tests complémentaires ne sont pas mentionnés | 1 |
| Total | 19 |

6.3.3.2 L'échantillon S/4663

Les résultats réponsus par les laboratoires pour les différents paramètres sont représentés dans le tableau 6.3.16.

Tableau 6.3.16. Résultats pour l'échantillon S/4663

| | HBs Ag ¹ | HBs Ag conf | HBs Ac | HBc Ac tot ² | HBc IgM | HBe Ag | HBe Ac |
|----------------|---------------------|-------------|------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Positif | 196 | 14 | | 185 | 2 | | 39 |
| Borderline | | | 1 | | | | |
| Négatif | 1 | | 198 | 1 | 29 | 35 | |
| Pas de réponse | 1 | | | | | | |
| Total | 199 | 14 | 199 | 186 | 31 | 35 | 39 |

¹ Trois laboratoires ont déterminé l'antigène HBs avec 2 réactifs différents; les deux résultats étaient positifs dans les trois cas.

² Un laboratoire a déterminé les anticorps HBc avec 2 réactifs différents; les deux résultats étaient positifs.

Les interprétations proposées par les laboratoires sont représentées dans le tableau 6.3.17.

Tableau 6.3.17. Interprétations pour l'échantillon S/4663

| Interprétation | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Infection par le virus de l'hépatite B | 112 |
| Infection aiguë par le virus de l'hépatite B | 44 |
| Infection chronique par le virus de l'hépatite B | 34 |
| Immunité par infection naturelle par le virus de l'hépatite B | 4 |
| Pas d'interprétation ¹ | 4 |
| Infection par le virus de l'hépatite B en voie de guérison ou porteur chronique | 1 |
| Anti HBc positif ² | 1 |
| Infection chronique persistante ou porteur ³ | 1 |
| Compléter par tests complémentaires ⁴ | 1 |
| Total | 202 |

¹ Deux de ces laboratoires n'ont déterminé que l'antigène HBs Ag et les anticorps anti-HBs; le troisième laboratoire a déterminé l'antigène HBs et les anticorps anti-HBc; le quatrième laboratoire a répondu que l'appareil Prism ne pouvait pas interpréter le résultat ; tous les laboratoires ont déclaré qu'il était impossible de fournir une interprétation adéquate sur base que de deux résultats.

² Ce laboratoire n'a déterminé que les anticorps HBc IgM.

³ Cette interprétation est basé sur les résultats suivants: Hbs Ag positif, HBs Ac négatif et HBc IgM négatif.

⁴ Ce laboratoire a déterminé HBs Ag, HBs Ac et HBc Ac et a conseillé de déterminer HBe Ag et HBe Ac.

Le laboratoire ayant obtenu un résultat négatif pour les anticorps HBc totaux, a répondu « Infection aiguë par le virus de l'hépatite B ». Un des laboratoires ayant obtenu un résultat négatif pour le HBc IgM était le laboratoire qui avait répondu « Anti HBc positif »; l'autre laboratoire ayant obtenu ce résultat (HBc IgM positif), a donné comme interprétation « Infection par le virus de l'hépatite B » (sur base des résultats suivants : HBs Ag +, HBs Ac -, HBc IgM +, HBe Ag -, HBe Ac +).

Le laboratoire ayant obtenu un résultat négatif pour l'antigène Hbs Ag, a proposé l'interprétation « Immunité par infection naturelle par le virus de l'hépatite B » (sur base d'un résultat positif pour les anticorps anti-HBc totaux).

Pour les trois interprétations mentionnées le plus, nous reprenons dans les tableaux suivants les remarques des laboratoires et, au cas où ils ont conseillé d'effectuer des tests complémentaires, ces tests complémentaires.

Tableau 6.3.18. Remarques proposées pour l'échantillon S/4663 par les laboratoires ayant répondu « Infection par le virus de l'hépatite B ».

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Tests complémentaires | 67 |
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 24 |
| Pas de remarques | 11 |
| Tests complémentaires + Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 5 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 4 |
| Tests complémentaires ou Une confirmation n'est pas nécessaire ¹ | 1 |
| Total | 112 |

¹ Réponse fournie en tant que telle par un laboratoire

Tableau 6.3.19. Aperçu des tests complémentaires proposés par les laboratoires, ayant répondu pour l'échantillon S/4663 « Infection par le virus de l'hépatite B ».

| Tests complémentaires | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| HBe Ag, HBe Ac | 22 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM | 14 |
| HBe Ag, HBe As, ADN virale, anamnèse + informations cliniques, suivi après 6 mois | 3 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale | 3 |
| HBe Ag | 2 |
| HBe Ag, GPT | 1 |
| HBe Ag, HBc IgM | 1 |
| HBe Ag, HBc totaux, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBs Ac | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM, HAV IgM | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM, HCV, EBV, CMV | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale, transaminases | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, ADN virale | 1 |
| HBe Ac, HBc IgM, ADN virale, autres virus hépatotroifiques | 1 |
| HBe Ag, HBs Ag, HBC IgM | 1 |
| HBc IgM | 7 |
| HBc IgM, ADN virale | 1 |
| HBc IgM, transaminases | 1 |
| HBs Ag confirmation | 2 |
| ADN virale | 2 |
| ADN virale, contrôler après 6 mois | 1 |
| Transaminases | 1 |
| Contrôler la sérologie antérieure ou contrôler après 6 mois | 1 |
| Contrôler après 3 mois | 1 |
| Total | 73 |

Les laboratoires conseillent surtout la détermination de l'antigène HBe (56 laboratoires).

Tableau 6.3.20. Remarques proposées pour l'échantillon S/4663 par les laboratoires ayant répondu «Infection aiguë par le virus de l'hépatite B».

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 15 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 15 |
| Pas de remarques | 7 |
| Tests complémentaires | 5 |
| Tests complémentaires + Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 2 |
| Total | 44 |

Tableau 6.3.21. Aperçu des tests complémentaires proposés par les laboratoires, ayant répondu pour l'échantillon S/4663 « Infection par le virus de l'hépatite B ».

| Tests complémentaires | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| HBe Ag, HBe Ac | 5 |
| HBe Ag | 1 |
| HBe Ag, HBe Ac, HBc IgM | 1 |
| HBe Ag, ADN virale; HBs Ac et Ag après 6 mois | 1 |
| HBe Ac | 1 |
| HBe Ac, HBc IgM | 1 |
| HBc IgM | 3 |
| HBc IgM, Ag HBs confirmation | 1 |
| HBs Ag confirmation | 2 |
| Transaminases | 1 |
| Total | 17 |

Tableau 6.3.22. Remarques proposées pour l'échantillon S/4663 par les laboratoires ayant répondu «Infection chronique par le virus de l'hépatite B».

| Remarques | Nombre de laboratoires |
|---|------------------------|
| Tests complémentaires | 19 |
| Une confirmation n'est pas nécessaire | 9 |
| Pas de remarques | 4 |
| Un nouveau prélèvement après 3 semaines | 2 |
| Total | 34 |

Tableau 6.3.23. Aperçu des tests complémentaires proposés par les laboratoires, ayant répondu pour l'échantillon S/4663 « Infection chronique par le virus de l'hépatite B ».

| Tests complémentaires | Nombre de laboratoires |
|--|------------------------|
| HBe Ag, HBe Ac | 6 |
| HBe Ag, HBe Ac, ADN virale | 2 |
| HBe Ag, HBc IgM, ADN virale | 1 |
| HBe Ag, HBc totaux | 1 |
| HBe Ag | 1 |
| HBe Ac, ADN virale | 2 |
| HBs Ag confirmation | 1 |
| ADN virale | 3 |
| ADN virale, transaminases | 1 |
| Les tests complémentaires ne sont pas mentionnés | 1 |
| Total | 19 |

6.3.4 Discussion des résultats de l'enquête

Le commentaire au sujet de cette enquête sera publié comme annexe dans le rapport global 2004/2.

