

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 01/2006

Microbiologie (identifications)

Leuconostoc citreum
Pseudomonas aeruginosa
Candida albicans + Candida glabrata
Staphylococcus aureus

Parasitologie

Entamoeba histolytica
Giardia lamblia
Echantillon négatif

Sérologie

Syphilis
Borrelia
Toxoplasme

Tous les rapports sont également à consulter sur notre site web :
http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_fr/rapports_annee.htm

ISP/01/06/Micro./Sero./Para. 62

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 : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59
: e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. CROKAERT Françoise : 02/541.37.00 – FAX : 02/541.32.95
: e-mail : fcrokaer@ulb.ac.be en nathalie.cardinal@bordet.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42
: e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. HAYETTE Marie-Pierre : 043/66.24.54 – FAX : 043/66.24.40
: e-mail : mphayette@chu.ulg.ac.be
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88
: e-mail : victor.luyasu@skynet.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 ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
: e-mail : mvesbroeck@itg.be
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be
Dr. WOESTYN Sophie : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
: e-mail : sophie.woestyn@scarlet.be

I. REMARQUES GENERALES

Pour la 1^{ère} enquête du cycle 2006 (enquête 2006/1), le matériel suivant a été expédié le 16 janvier 2006.

- 1.1. Quatre échantillons lyophilisés pour identification.
Pour deux échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés.
- 1.2. Deux suspensions formolées de selles pour la recherche de parasites.
- 1.3. Deux échantillons de plasma pour la recherche des anticorps de syphilis, Borrelia et Toxoplasma

NOMBRE DES PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

- | | | |
|----|--|-------|
| 1. | Pour les identifications et antibiogrammes | : 193 |
| 2. | Pour la parasitologie | : 188 |
| 3. | Pour la sérologie | |
| | Syphilis | : 181 |
| | Borrelia | : 142 |
| | Toxoplasma | : 178 |

Nous remercions Monsieur Marc Lontie (parasitologie) et Dr Bernard Bouffioux (sérologie) pour les photographies de ce rapport global.

II. IDENTIFICATIONS

2.1. Culture M/6384 était un *Leuconostoc citreum*.

Les *Leuconostoc species* appartiennent aux bactéries lactiques. Elles sont acidophiles et productrices d'acide. Elles sont présentes dans la nature, et peuvent être retrouvées sur et dans différents produits alimentaires d'origine végétale ou animale. Avec les autres bactéries lactiques elles atteignent des concentrations importantes, et les produits finaux de leur métabolisation induisent une acidification, protectrice contre les bactéries qui provoquent les caries dentaires ; elles entraînent même (consciemment ou inconsciemment) une amélioration du goût par la production de molécules aromatiques. Ces espèces sont retrouvées dans la choucroute, la charcuterie, les fromages,...

Comme les bactéries apparentées, les espèces de *Leuconostoc* sont résistantes à la vancomycine, et, dans un milieu où on utilise la vancomycine, elles ont un avantage sélectif. De cette façon elles provoquent, comme « envahisseur » tertiaire, de temps en temps des infections chez des personnes affaiblies, avec plusieurs facteurs débilissants et après différentes cures d'antibiotiques.

Infections

Elle est peu pathogène ; le petit nombre des infections décrites est donc retrouvé chez les patients avec une résistance diminuée, chez qui la microflore endogène est fortement modifiée par l'usage des antibiotiques.

Culture et identification

Les *Leuconostoc spp.* poussent facilement mais constituent un groupe de bactéries « difficiles » dans le laboratoire médico-diagnostique. Elles sont gram-positives et catalase-négatives, mais ressemblent aussi bien en morphologie qu'en caractéristiques physiologiques aux streptocoques, lactobacilles, *Pediococcus spp.*,... La détection de la résistance à la vancomycine nous rapproche déjà de l'identification correcte. Pour les personnes utilisant des techniques classiques, nous renvoyons aux manuels classiques (cfr. les références).

Heureusement et par hasard, cette souche pouvait être identifiée avec les systèmes commerciaux d'identification, ce qui explique probablement le bon résultat de la majorité des laboratoires. L'identification au niveau de l'espèce de cette souche a été confirmée avec des techniques moléculaires.

Antibiogramme

Dans le plupart des cas, il n'existe pas de techniques validées standardisées pour la détermination de la sensibilité aux antibiotiques du *Leuconostoc* et des autres bactéries particulières. Une technique de microdilution a été utilisée pour tester une série d'isolats dans un article de Swenson, Facklam et Thornsberry de 1990 (voir les références).

Dans le même article on a également effectué un antibiogramme de diffusion par disque sur MH avec 5% sang de mouton : seul un très petit nombre d'erreurs majeures et « très majeures » (« major and very major errors ») a été constaté mais le nombre d'erreurs mineures était de 20%.

Dans le même article on peut lire que dans une série de souches de *Leuconostoc* testés (43 souches), une résistance complète a été retrouvée à la vancomycine et à la teicoplanine, et qu'il n'y avait aucune résistance à l'imipénème, à la minocycline, au

chloramphénicol, à la gentamicine et à la daptomycine (et l'érythromycine), que les souches étaient modérément sensibles à la pénicilline, et que la sensibilité aux autres antibiotiques (céphalosporines de la 1^e, 2^e et 3^e génération) était variable.

Conclusion.

En pratique, comme illustré par le cas clinique, on effectuera un antibiogramme classique pour un isolat profond, si on suspecte qu'il s'agit d'un streptocoque viridans, surtout chez un patient hématologique, et, comme dans le cas présent, on s'étonnera qu'il soit résistant à la vancomycine. L'identification correcte peut être problématique mais pour cette souche, les systèmes commerciaux ont fourni heureusement (et peut être par hasard) l'identification correcte (au niveau du genre).

G. Claeys, UZ, Gand

REFERENCES

Carr FJ, D Chill, N Maida. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4):281-370 (2002)

KL. Ruoff. *Aerococcus*, *abiotrophia*, and other infrequently isolated aerobic catalase-negative, gram-positive cocci. In : *Manual of Clinical Microbiology* 8th Edition PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, MA Pfaller, RH Tenover, RH Tenover. ASM Press Washington DC. 2003.

Swenson JM, RR Facklam, C Thornsberry. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 34, 543-49, 1990.

2.2. Culture M/6437 était un *P. aeruginosa*.

Cette souche n'a posé aucun problème concernant l'identification et a ainsi été identifiée correctement par une grande majorité des laboratoires. La souche envoyée avait les caractéristiques phénotypiques classiques, telles qu'une réaction d'oxydase positive, la production de pyocyanine et de pyoverdine, la croissance à 42°C, la réduction des nitrates positive avec production d'azote. Cette souche a été isolée à partir d'une aspiration bronchique d'un patient avec une pneumonie nosocomiale. Selon des études de surveillance récentes, le *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 10% des infections nosocomiales (1). De telles infections peuvent mettre la vie en danger et le traitement est souvent difficile en raison de la sensibilité limitée aux antibiotiques. Une étude récente en Israël a mentionné comme facteurs de risque principaux: séjour dans une unité de Soins Intensifs, utilisation de techniques invasives et traitement avec céphalosporines à spectre étendu et aminoglycosides (2).

La souche envoyée était résistante à tous les antibiotiques disponibles en routine. Les valeurs CMI suivantes ont été obtenues avec l'E-test sur gélose Mueller Hinton.

	Mg/L	Interprétation CLSI
Pipéracilline-tazobactam	>256	R
Ceftazidime	192	R
Méropénème	>32	R
Céfépime	>32	R
Tobramycine	>256	R
Amikacine	24	I
Ofloxacine	>32	R
Ciprofloxacine	>32	R
Colistine	1	S

Un aperçu des différents mécanismes de résistance, qui sont rencontrés chez *Pseudomonas aeruginosa*, est donné de façon concise dans les paragraphes suivantes.

1. La résistance aux antibiotiques β -lactames

Il existe une résistance naturelle aux aminopénicillines (associées à un inhibiteur de β -lactamase ou non) et aux céphalosporines de la première et deuxième génération. La résistance acquise peut reposer sur la production de β -lactamase, l'efflux ou la déficience des porines. En fonction de l'enzyme produite, il y a plusieurs modèles de résistance possibles.

	Ticarcline	Pipéracilline-Tazobactam	Ceftazidime	Méropénème
Plasmides-Pénicillinases	R	S	S	S
BLSE	R	variable	R	S
Céphalosporinases constitutives	R	R	R	S
Métallo- β -lactamases	variable	variable	variable	R

Contrairement aux β -lactamases qui par définition ne neutralisent uniquement que les antibiotiques β -lactames, l'efflux induit d'habitude une multirésistance combinée. Ces mécanismes d'efflux sont le plus souvent d'origine chromosomique et peuvent être divisés en cinq classes (3).

Surtout la "resistance-nodulation-family" est fréquemment retrouvée chez les Gram-négatifs.

Ces mécanismes d'efflux sont composés de trois sous-unités: la pompe proprement dite dans la membrane cytoplasmique, qui, par une lipoprotéine de l'espace périplasmique (MFD membrane fusion protein), est connectée avec une protéine de la membrane extérieure (OMF outer membrane factor).

La perte des porines oprD est à plusieurs reprises décrite comme cause de la résistance aux carbapénèmes.

2. La résistance aux aminoglycosides

La résistance aux aminoglycosides peut reposer sur un des mécanismes de résistance suivants ou une combinaison de ceux-ci: l'inactivation enzymatique par la production d'enzymes qui modifient les aminoglycosides, un mécanisme d'efflux ou l'imperméabilité de la membrane extérieure par occlusion des porines. Le phénotype du *P. aeruginosa* envoyé est compatible avec la présence des AAC(6') + ANT(2'')-I comme enzymes qui inactivent les aminoglycosides, mais l'imperméabilité de la membrane extérieure reste possible.

3. La résistance aux fluoroquinolones

Il y a également trois mécanismes différents de résistance possible: l'imperméabilité de la membrane extérieure par perte de porines ou modification des lipopolysaccharides, la modification du DNA gyrase et finalement un efflux actif.

Il y a quelques années, 716 souches de 40 laboratoires d'hôpitaux belges ont été testées in vitro dans une étude multicentrique. Toutes ces souches étaient responsables d'infections nosocomiales. Elles ont été testées vis-à-vis des antibiotiques suivantes (le pourcentage de souches sensibles est mentionné entre parenthèses): ofloxacine (49.5), lévofloxacine (61.5), ciprofloxacine (71), gentamicine (67), tobramycine (79.5), amikacine (85), aztréonam (17.75), pipéracilline (76), pipéracilline-tazobactam (83), ceftazidime (59), céfépime (50.5) et méropénème (81.5) (4).

Quand un *P. aeruginosa* présentant une résistance aux antibiotiques β -lactames, aminoglycosides et fluoroquinolones disponibles est isolé à partir d'une infection nosocomiale, les polymyxines peuvent parfois être utilisées dans le traitement. Les polymyxines sont des polypeptides cycliques, découverts en 1949, dont la polymyxine B et E (= la colistine) peuvent être utilisées dans un but clinique chez l'homme. Jusque récemment la colistine est surtout connue pour des utilisations topiques (collyres, aérosol par exemple chez les patients souffrant de mucoviscidose,...) et orales (décontamination intestinale sélective, ...). Des expériences récentes d'administration parentérale ont démontrées que la colistine a également une efficacité clinique respectable avec une néphro- et neurotoxicité moindre comparées aux études plus anciennes. Le dosage classique est 4 - 6 mg/kg/j (50 000 - 75 000 IU/kg/j) en trois doses. Une modification du dosage est nécessaire en cas d'insuffisance rénale. (5).

Le CLSI ne donne pas d'information concernant la colistine. La plupart des laboratoires utilisent la diffusion par disques malgré les limitations de cette technique. On a le choix entre disques en papier avec une charge de 10 μ g colistine sulfate et ROSCO Neosensitabs avec une charge de 150 μ g. Une zone d'inhibition de ≥ 11 mm et ≥ 20 mm respectivement pour les disques en papier et les Neosensitabs correspond à la sensibilité. Quelques auteurs conseillent de confirmer le résultat de la diffusion par disque avec une méthode de dilution vu les résultats de fausse sensibilité avec la diffusion par disque (environ 3.5%) (6). Les souches avec une CMI ≤ 4 mg/L sont sensibles.

Jan Verhaegen, UZ Louvain

REFERENCES

1. NNIS. National Nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am. J. Infect. Control* 2004, 32;470-485.
2. V. Aloush, S. Navon-Venezia, Y. Seigman-Igra, S. Cabili, en Y. Carmeli. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : Risk factors and clinical impact. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Jan. 2006, 50;43-48
3. K. Poole. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004, 10;12-26.
4. J. Van Eldere. Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 51;347-352.
5. M. E. Falagas et al. Colistin : the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin. Infect. Diseases* 2005, 40 ;1333-1341.
6. A. C. Gales et al. Contemporary assessment of antibiogram susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin : review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J. Clin. Microbiol.*, Jan. 2001, 39;183-190.

2.3. Culture M/6576 *Candida albicans* + *Candida glabrata*

Deux espèces différentes de *Candida* étaient présentes dans cet échantillon, à savoir *Candida albicans* et *Candida glabrata*. Environ trois quarts des participants ont réussi à détecter ce mélange et à identifier correctement les 2 espèces. La reconnaissance d'un mélange de levures sur gélose Sabouraud ou gélose au sang à l'aide de la morphologie des colonies n'est pas toujours facile. La reconnaissance microscopique des différentes espèces de *Candida* (par exemple à l'aide du test de filamentation) n'est souvent pas possible non plus. *C. glabrata* peut être différencié microscopiquement de *C. albicans* par sa plus petite taille et par l'absence de (pseudo)hyphes. La difficulté de reconnaître différentes levures dans une culture mélangée est illustrée également lors de cette enquête: 20% des participants n'ont répondu qu'une espèce de *Candida*. Les milieux chromogènes présentent une aide importante dans la détection d'une culture où est présent un mélange de levures. De tels milieux gélosés contiennent des substrats chromogènes qui, grâce à des activités enzymatiques spécifiques par espèce, donnent lieu à des colonies dont les couleurs diffèrent selon l'espèce. Sur base de la couleur et de la morphologie des colonies, il est possible d'identifier un certain nombre d'espèces. Il est important de vérifier dans la littérature quelles espèces peuvent être identifiées de façon suffisamment fiable avec un milieu chromogène donné. D'habitude les firmes mettent à disposition des cartes de couleurs, où les différentes espèces de *Candida* sont représentées avec la couleur et la morphologie de leurs colonies. Des études ont démontré que le nombre d'espèces qui peuvent être identifiées correctement sur seule base de l'aspect macroscopique sur milieu chromogène, est limité (1). Les avantages des milieux chromogènes sont donc la reconnaissance des cultures mélangées et l'identification immédiate d'un certain nombre d'espèces de *Candida* sur le milieu primaire d'isolation. Un désavantage des milieux chromogènes est leur prix qui est considérablement supérieur à celui d'une gélose Sabouraud. On doit également vérifier si les colonies d'un milieu chromogène peuvent être utilisées directement pour l'identification biochimique et la détermination éventuelle de la sensibilité. Une étape d'ensemencement sur gélose Sabouraud peut être nécessaire.

Une identification correcte au niveau de l'espèce des levures, isolées d'un échantillon normalement stérile, est importante étant donné que l'identification de l'espèce apporte un soutien important au choix du traitement. L'identification des levures d'une hémoculture comme *Candida non-albicans* ou *Candida species* n'est donc pas acceptable. La détermination de la sensibilité des levures aux produits anti-fongiques n'est pas couramment disponible et n'a qu'une indication limitée étant donné que seules certaines espèces de *Candida* ont des caractéristiques de sensibilité typiques. *Candida krusei* est intrinsèquement résistant au fluconazole. *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis* par contre ont une sensibilité identique au fluconazole. La majorité des isolats de *Candida glabrata* appartiennent à la classe 'susceptible dose dependent' de sorte qu'il est important d'administrer une dose suffisamment élevée de fluconazole. Les laboratoires qui n'effectuent pas de fongigramme, peuvent si nécessaire envoyer leur souche à un centre de référence.

K. Lagrou, UZ, Louvain

REFERENCES

1. Freydiere AM, Guinet R, Boiron P. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med Mycol* 2001, 39: 9-33.

2.4. Culture M/6613 (*S. aureus*)

Nombre de participants = 193

Germe isolé chez un patient de 10 ans présentant depuis quelques jours une plaie à la main.

La souche a été correctement identifiée par l'ensemble des laboratoires. Sur le plan des caractères phénotypiques, elle présentait un profil caractéristique de l'espèce.

L'antibiogramme a été réalisé par diverses techniques avec des résultats variables d'un laboratoire à l'autre pour l'oxacilline, les aminoglycosides, les macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS), l'acide fusidique et la vancomycine. Certains laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques.

La détermination correcte de la sensibilité à l'oxacilline est indispensable pour guider le choix thérapeutique du clinicien. La résistance à l'oxacilline est liée à l'acquisition d'une « Penicillin Binding Protein » (PBP2a) de faible affinité aux β -lactamines. La synthèse de la PBP2a est codée par le gène *mecA* qui est intégré dans un fragment additionnel du chromosome du staphylocoque appelé Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) de taille variable comprise entre 21 et 60 kb. L'acquisition de la PBP2a confère une résistance croisée à l'ensemble des β -lactamines. Le niveau d'expression phénotypique de la résistance est variable. Cette résistance peut s'exprimer de manière homogène, c'est-à-dire l'ensemble de la population exprime la résistance, ou hétérogène, où seule une partie de la population (1 bactérie sur 10^4 à 10^7) exprime cette résistance. La détection des souches hétéro-résistantes à l'oxacilline peut poser des problèmes au laboratoire.

Selon les tests réalisés au laboratoire de référence, la souche du contrôle de qualité était résistante hétérogène à l'oxacilline (CMI = 4 mg/l). Cette résistance a été confirmée par un test positif d'agglutination avec un latex anti-PBP2a (MRSA-Screen Denka Seiken, Japon) et par la présence du gène *mecA* détectée par PCR (1).

Seulement 82% (n = 159) des laboratoires ont correctement détecté le bas niveau de résistance à l'oxacilline. Vingt-huit laboratoires (16%) ont répondu la souche sensible (erreur très majeure) et 5 n'ont pas répondu de résultat pour la méthicilline. Parmi les méthodes automatiques utilisées, 20% des utilisateurs du système Vitek 2 ou ATB ont répondu la souche sensible à l'oxacilline. Au contraire, l'ensemble des utilisateurs du système Phœnix ont correctement rapporté la souche résistante à l'oxacilline. Cette différence de performance vient essentiellement du fait que la carte d'antibiogramme du Phœnix pour les staphylocoques utilise la céfoxitine comme substrat pour tester la sensibilité à la méthicilline. Une nouvelle carte antibiogramme Vitek 2 pour les staphylocoques qui comprendra la céfoxitine sera commercialisée dans le courant de cette année par BioMérieux. Les laboratoires qui ont testé la sensibilité à la méthicilline par disque papier ou Rosco ont rapporté la souche sensible dans 12 à 17% des cas (erreur très majeure). Les résultats de l'enquête ne montrent pas de différence significative entre les résultats des utilisateurs de disques d'oxacilline ou de céfoxitine.

En 2006, le CLSI (anciennement NCCLS) recommande de tester la sensibilité à l'oxacilline à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 μ g ou d'un disque d'oxacilline 1 μ g sur une gélose Mueller-Hinton (MH) non supplémentée en NaCl, incubée à 35°C (\pm 2°C) pendant 24 heures (2). L'utilisation d'un disque de céfoxitine est plus sensible pour détecter les souches de *S. aureus* hétéro-résistantes (3). Les souches présentant un diamètre inférieur à 20 mm à la céfoxitine sont résistantes. Il faut remarquer que la Société

Française de Microbiologie recommande, pour les mêmes conditions de test, des diamètres critiques différents (4). Les souches avec un diamètre à la céfoxitine inférieur à 25 mm sont résistantes. Les souches présentant un diamètre supérieur ou égal à 27 mm sont sensibles. Les souches, en particulier celles présentant des diamètres compris entre ces bornes, peuvent également être confirmées par détection de la PBP2a par un test d'agglutination à l'aide d'un latex sensibilisé ou par PCR pour le gène *mecA* (2, 5).

Pour les autres antibiotiques testés, la vaste majorité (>95%) des laboratoires ont correctement répondu la sensibilité aux quinolones, aux macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS), et aux aminoglycosides. La résistance à l'acide fusidique a été correctement détectée par la majorité des laboratoires qui l'ont testée. Quelques laboratoires ont rapporté la souche résistante à la vancomycine (erreur majeure). La résistance aux glycopeptides et en particulier à la vancomycine reste exceptionnelle (<1%) et doit être confirmée par un laboratoire de référence. Il est important de noter que le CLSI a modifié cette année les concentrations critiques de la vancomycine ($S \leq 2 \mu\text{g/ml}$ et $R \geq 16 \mu\text{g/ml}$) (2).

Cette souche présente un antibiogramme très particulier. En effet, les souches de MRSA isolées dans nos hôpitaux sont habituellement résistantes aux quinolones (98%), à la tobramycine (44%) et à la kanamycine (38%), aux macrolides (59%) et aux lincosamides (39%) (6). Au contraire, la résistance à l'acide fusidique est rarement observée (1%) (6). La souche M6613 est résistante à l'acide fusidique. Ce type de profil de résistance, sensibilité aux quinolones et résistance à l'acide fusidique, à la tétracycline ou à la kanamycine, est typique des souches de MRSA d'origine communautaire observée en Europe.

Depuis 10 ans, des infections à MRSA ont été rapportées en Australie, aux Etats-Unis et en Europe chez des patients jeunes ne présentant pas les facteurs de risque habituel d'acquisition de MRSA (7). Ces souches de MRSA d'origine communautaire (Community-acquired methicillin-resistant *S. aureus*, CA-MRSA) ont été souvent associées à des infections cutanées et des tissus mous, et plus rarement à des ostéo-arthrites, ou à des pneumonies nécrosantes létales. Ces souches hyper-virulentes produisent une exotoxine, la leucocidine de Panton-Valentine (PVL) qui provoque une nécrose tissulaire importante avec une lyse des leucocytes. Cette toxine est rarement isolée chez le *S. aureus* (<2%) à l'exception des souches de CA-MRSA.

La plupart des souches de CA-MRSA PVL positives appartiennent à des clones épidémiques différents de ceux circulant dans nos hôpitaux (8). Les souches de CA-MRSA ont généralement un profil particulier de résistance aux antibiotiques, différent de celui des souches de MRSA circulant dans nos hôpitaux. Le principal clone épidémique européen MRSA, ST-80-SCC*mec* IV, est habituellement résistant à la kanamycine, la tétracycline et l'acide fusidique et sensible à la ciprofloxacine et aux macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) (8). Les autres clones de CA-MRSA sont généralement sensibles aux antibiotiques autres que les β -lactamines à l'exception des macrolides. Ces souches ont récemment été le plus souvent rapportées en Belgique au cours d'infections cutanées ou des tissus mous.

Afin de suivre l'évolution des infections à CA-MRSA et d'en limiter la diffusion, il est recommandé de confirmer les souches suspectes. La survenue chez un patient jeune sans facteur de risque d'une infection à MRSA avec une souche présentant un profil de

résistance typique suggère la présence d'une souche communautaire PVL positive. La confirmation et le typage peut être réalisée au laboratoire de référence des Staphylocoques - MRSA qui réalise la surveillance de ces infections en Belgique.

Olivier Denis, Claire Nonhoff et Marc J Struelens. Laboratoire de Référence des Staphylocoques et des MRSA, Hôpital Erasme, Bactériologie, Route de Lennik 808, 1070 Bruxelles

Veillez compléter le formulaire de renseignements cliniques lors de l'envoi d'une souche vers le centre de référence.

REFERENCES

1. Maes N, Magdalena J, Rottiers S, De Gheldre Y, Struelens MJ. Evaluation of a triplex polymerase chain reaction (PCR) assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase negative staphylococci (CoNS) and determine methicillin resistance from blood cultures. *J.Clin.Microbiol.* 2002;40(4):1514-7.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth informational supplement. Approved standard M5100-S15. CLSI (formerly NCCLS), Wayne, Pa; 2005.
3. Nonhoff, C., Mascart, G., Struelens, M. J., Van Den Borre, C., and Denis, O. Detection of hetero-resistant MRSA: Controlled comparison of oxacillin/cefoxitin susceptibility testing by disk diffusion, agar screen, Vitek-2 and BD Phoenix automated systems. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1-4 May 2004, Prague, Czech Republic . 2006.
4. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2005.
5. Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H. Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur.J Clin.Microbiol.Infect.Dis.* 2004;23(5):389-92.
6. Denis O, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, de Mendonca R, Rottiers S et al. National surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Belgian hospitals indicates rapid diversification of epidemic clones. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2004;48(9):3625-9.
7. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg.Infect.Dis.* 2003;9(8):978-84.
8. Denis O, Deplano A, De Beenhouwer H, Hallin M, Huysmans G, Garrino MG et al. Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harbouring Panton-Valentine leucocidin genes in Belgium. *J.Antimicrob.Chemother.* 2005;56(6):1103-6.

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N=193)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées

3.1. Culture M/6384 *Leuconostoc citreum* (hémoculture)

<u><i>Leuconostoc species</i></u>	155	(80.3%)
<u><i>Leuconostoc citreum</i></u>	17	(8.8%)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	3	
<i>Leuconostoc species</i> ou <i>Lactococcus species</i>	1	
<i>Pediococcus species</i>	3	
<i>Aerococcus viridans</i>	2	
<i>Streptococcus species</i>	2	
<i>Streptococcus</i> hémolytique groupe F	1	
<i>Streptococcus species</i> non groupable (vanco-R)	1	
<i>Streptococcus uberis</i>	1	
<i>Streptococcus (equinus) bovis</i>	1	
<i>Weisella species</i>	1	
<i>Enterococcus raffinosus</i>	1	
Coque Gram positif (envoyé au centre de référence)	1	
Echantillon envoyé à un labo spécialisé	1	
Pas de réponse	2	

3.2. Culture M/6437 *Pseudomonas aeruginosa* (expectoration)

<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	192	(99.5%)
Pas de réponse	1	

3.3. Culture M/6576 *Candida albicans* + *Candida glabrata* (hémoculture)

<u><i>Candida albicans</i> + <i>Candida glabrata</i></u>	142	(73.6%)
<u><i>Candida albicans</i> + <i>Torulopsis glabrata</i></u>	2	(1.0%)
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida non-albicans</i>	2	
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida species</i>	1	
<i>Candida albicans</i> + 2 ^e levure	1	
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida krusei</i>	1	
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida lusitaniae</i>	1	
<i>Candida albicans</i> + <i>Prototheca wickerhamii</i>	1	
<i>Candida albicans</i>	35	
<i>Candida albicans</i> /dublinskiensis	1	
<i>Candida albicans</i> groupe	1	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	
Autre levure que <i>C. albicans</i> (envoyé au centre de référence)	1	
Echantillon envoyé à un labo spécialisé	1	
Pas de réponse	2	

3.4 Culture M/6613 *Staphylococcus aureus* (pus)

Staphylococcus aureus

193 (100%)

- 94 laboratoires ont mentionné explicitement MRSA dont 8 CA-MRSA
- 2 laboratoires ont mentionné BORSA
- 1 laboratoire a mentionné MSSA

IV. ANTIBIOGRAMME

Un aperçu général des résultats par échantillon est présenté au début de la discussion de chaque échantillon. Dans le traitement ultérieur les résultats sont analysés selon les méthodes utilisées.

L'antibiogramme type a été réalisé par plusieurs experts.

4.1 Culture M/6437 (*P. aeruginosa*)

Nombre de participants = 192

Tous les laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques.

Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs quinolones. 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 le plus résistant dans le tableau suivant.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Amikacine	R	188	17	38	131	2 ^{3,4}
Tobramycine	R	139	-	-	138	1 ³
Pipéracilline-tazobactam	R	168	-	-	167	1 ³
Méropénème	R	166	-	1	165	-
Ceftazidime	R	188	-	2	186	-
Céfépime	R	169	-	-	168	1 ³
Quinolones						
Ciprofloxacine	R	152	-	1	151	-
Lévofloxacine	R	16	-	-	16	-
Moxifloxacine	R	2	-	-	2	-
Norfloxacine	R	9	-	-	9	-
Ofloxacine	R	15	-	-	15	-
«Quinolone» ¹	R	10	-	-	10	-
Colistine ²	S	31	31	-	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

² Bien que la colistine n'était pas proposée sur le formulaire de réponse, nous en présentons quand même le résultat; il s'agit de l'antibiotique qui a été mentionné comme antibiotique supplémentaire à tester par la majorité des laboratoires qui ont répondu à cette question. Elle a été testée par 31 laboratoires (dont quelques-uns des experts).

³ Un laboratoire a mentionné d'avoir obtenu 3 résultats différents avec 3 méthodes différentes pour l'amikacine (Phoenix: S; Rosco: I; E-test:R) et qu'en routine la souche serait envoyée à un centre de référence pour interprétation définitive.

⁴ Un laboratoire enverrait en routine la souche pour déterminer la sensibilité à l'amikacine, la tobramycine, la pipéracilline-tazobactam et la céfépime.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.9. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Lorsque la méthode complète était reprise, nous avons déterminé le diamètre médian, minimum et maximum pour les méthodes de diffusion par disque selon CLSI 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, les 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 CLSI pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Amikacine	37 (40)	30	10	6 - 14	-	1	39
Tobramycine	16 (18)	10	6	6 - 10	-	-	18
Pipéracilline-tazobactam	26 (32)	110	6	6 - 10	-	-	32
Méropénème	30 (36)	10	6	6 - 17	-	-	36
Ceftazidime	35 (39)	30	6	6 - 11	-	-	39
Céfépime	28 (32)	30	6	6 - 11	-	-	32
Quinolones							
Ciprofloxacine	32 (37)	5	6	6 - 10	-	-	37
Lévofloxacine	3 (4)	5	6	6 - 6	-	-	4
Norfloxacine	2 (2)	10	7	6 - 8	-	-	2
Ofloxacine	3 (3)	5	6	6 - 6	-	-	3
Colistine	- (3)	-	-	-	3	-	-

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Amikacine	57 (70)	40	17	10 - 24	9	22 ²	39
Tobramycine	38 (47)	40	9	8 - 10	-	-	47
Pipéracilline-tazobactam	50 (59)	110	9	6 - 13	-	-	59
Méropénème	46 (56)	10	10	6 - 13	-	-	56
Ceftazidime ¹	62 (73)	30	10	7 - 14	-	-	73
Céfépime	52 (61)	30	10	8 - 13	-	-	61
Quinolones							
Ciprofloxacine ¹	41 (51)	10	10	9 - 13	-	-	51
Lévofloxacine	8 (8)	5	9	9 - 9	-	-	8
Moxifloxacine	1 (2)	10	10	10 - 10	-	-	2
Norfloxacine	4 (4)	10	10	9 - 10	-	-	4
Ofloxacine	9 (10)	10	10	8 - 10	-	-	10
"Quinolone"	- (1)	-	-	-	-	-	1
Colistine	2 (10)	50	22.5	17-28	10	-	-

- ¹ En outre un laboratoire a répondu un diamètre de <9 mm. pour la ceftazidime et la ciprofloxacine
² Un laboratoire a mentionné d'avoir obtenu 3 résultats différents avec 3 méthodes différentes pour l'amikacine (Phoenix: S; Rosco: I; E-test: R) et qu'en routine la souche serait envoyée à un centre de référence pour interprétation définitive.

Les résultats obtenus avec le E test sont repris dans le tableau 4.1.4. Le nombre limité d'utilisateurs rend impossible une évaluation statistique adéquate. Pour information nous mentionnons toutefois les valeurs CMI répondues par les laboratoires pour chaque antibiotique.

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec le E test pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat			Valeurs CMI
	S	I	R	
Amikacine	-	2	3 ¹	24 (2x), 48, 64, >256
Tobramycine	-	-	2	>256 (2x)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	3	>256 (3x)
Méropénème	-	-	4	>32 (4x)
Ceftazidime	-	-	3	192, >64, >256
Céfépime	-	-	3	>32, >256 (2x)
Quinolones				
Ciprofloxacine	-	-	2	>32 (2x)
Ofloxacine	-	-	1	>32
Colistine	1	-	-	1

¹ Un laboratoire a mentionné d'avoir obtenu 3 résultats différents avec 3 méthodes différentes pour l'amikacine (Phoenix: S; Rosco: I; E-test: R) et qu'en routine la souche serait envoyée à un centre de référence pour interprétation définitive.

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/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Vitek 1				
	Résultat final			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Amikacine	-	-	3	≥ 64	2 (3)
Tobramycine	-	-	3	≥ 6	2 (3)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	3	≥ 128	2 (3)
Méropénème	-	-	3	≥ 16	2 (3)
Ceftazidime	-	1	2	16 et ≥ 32	1 et 1 (3)
Céfépime	-	-	3	≥ 32	2 (3)
Quinolones					
Ciprofloxacine	-	-	2	≥ 4	1 (2)
"Quinolone"	-	-	1	≥ 4	1 (1)

Antibiotique	Vitek 2					
	Résultat final	S	I	R	Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
Amikacine	4	11	38		≥ 64	31 (53)
Tobramycine	-	-	53		≥ 16	45 (53)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	54		≥ 128	46 (54)
Méropénème	-	1	52		≥ 16	45 (53)
Ceftazidime	-	1	53		≥ 64	38 (54)
Céfépime	-	-	54		≥ 64	46 (54)
Quinolones						
Ciprofloxacine	-	1	43		≥ 4	37 (44)
Lévofloxacine	-	-	5		≥ 8	3 (5)
Norfloxacine	-	-	2		≥ 16	2 (2)
Ofloxacine	-	-	1		≥ 8	1 (1)
"Quinolone"	-	-	6		≥ 4	5 (6)
Colistine	7	-	-		1	2 (7)

Antibiotique	Vitek 2 compact					
	Résultat final	S	I	R	Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
Amikacine	-	3	3		32 et ≥ 64	3 et 3 (6)
Tobramycine	-	-	5		≥ 16	5 (5)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	6		≥ 128	6 (6)
Méropénème	-	-	6		≥ 16	6 (6)
Ceftazidime	-	-	6		≥ 64	5 (6)
Céfépime	-	-	6		≥ 64	6 (6)
Quinolones						
Ciprofloxacine	-	-	6		≥ 4	5 (6)

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. Dans quelques cas néanmoins, une plus grande différence a été retrouvée :

- Vitek 2:
 - o pour l'amikacine 4 laboratoires ont retrouvé une dilution de 16 mg/l et 11 laboratoires ont retrouvé une dilution de 32 mg/l
 - o pour la tobramycine 1 laboratoire a retrouvé une dilution ≥ 64 mg/l
 - o pour la pipéracilline-tazobactam 1 laboratoire a retrouvé une dilution >256 mg/l
 - o pour la méropénème 1 laboratoire a retrouvé une dilution > 32 mg/l
 - o pour la ceftazidime 2 laboratoires ont retrouvé une dilution ≥ 16 mg/l et 7 laboratoires ont retrouvé une dilution de 32 mg/l
 - o pour la céfépime 1 laboratoire a retrouvé une dilution de 128 mg/l
 - o pour la ciprofloxacine 1 laboratoire a retrouvé une dilution de 8 mg/l
 - o pour la lévofloxacine 2 laboratoires ont retrouvé une dilution de 4 mg/l
 - o pour colistine 1 laboratoire a retrouvé une dilution ≤ 0.5 mg/l
- Vitek 2 compact:
 - o pour la ceftazidime 1 laboratoire a retrouvé une dilution de 32 mg/l
 - o pour la ciprofloxacine 1 laboratoire a retrouvé une dilution ≥ 16 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 mentionné les valeurs obtenues.

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Amikacine	-	3	14
Tobramycine	-	-	16
Pipéracilline-tazobactam	-	-	15
Méropénème	-	1	14
Ceftazidime	-	-	16
Céfépime	-	-	14
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	15
Norfloxacine	-	-	1
"Quinolone"	-	-	1
Colistine	7	-	-

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.1.7.

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat final			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Amikacine	6 ¹	1	1	16	7 (8)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	8	> 64/4	8 (8)
Méropénème	-	-	8	> 8	8 (8)
Ceftazidime	-	-	8	> 16	8 (8)
Céfépime	-	-	8	> 16	8 (8)
Quinolones					
Ciprofloxacine	-	-	6	> 2	6 (6)
Lévofloxacine	-	-	1	> 4	1 (1)
"Quinolone"	-	-	1	> 2	1 (1)

¹ Un laboratoire a mentionné d'avoir obtenu 3 résultats différents avec 3 méthodes différentes pour l'amikacine (Phoenix: S; Rosco: I; E-test:R) et qu'en routine la souche serait envoyée à un centre de référence pour interprétation définitive.

Une enquête, effectuée par la compagnie Becton Dickinson au sujet des résultats obtenus pour l'amikacine avec l'appareil Phoenix, a donné les résultats suivants:

«Un examen supplémentaire, effectué par le « Antibiotic Resistance Monitoring and Reference Laboratory » à Londres, a montré que la CMI pour l'amikacine chez cette souche de « *Pseudomonas aeruginosa* » est 32 µg/ml. Dans cet examen la méthode de la microdilution en bouillon, généralement accepté comme la méthode de référence, a été utilisée. Selon les directives du CLSI, décrits dans le document M100-S16, January 2006, une CMI de 32 doit être interprétée comme intermédiaire.

Comme mentionné par vous, le système Phoenix a fourni chez la plupart des utilisateurs une CMI de 16 pour l'amikacine; ceci était également le cas dans les tests que nous avons effectués. Il est connu que dans la comparaison des différentes méthodes pour détermination d'un antibiogramme avec la méthode de référence, une différence d'une dilution peut se produire et est acceptée. Il est donc très difficile d'éliminer cette variation de CMI à court terme.

Dans les études de validation du système Phoenix vis-à-vis la méthode de référence une «essential agreement» de 95% et une «categorical agreement» pour l'amikacine chez les bactéries gram négatif a été obtenu. Notre département de R&D continuera à le suivre.»

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.8. et 4.1.9. A ce jour, il n'y a pas assez d'utilisateurs de ces appareils (ou d'utilisateurs qui mentionnent le résultat quantitatif) pour effectuer un traitement statistique utile des résultats quantitatifs. Si le nombre d'utilisateurs augmentait, ce traitement pourrait être effectué.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Amikacine	-	-	4
Tobramycine	-	-	2
Pipéracilline-tazobactam	-	-	3
Méropénème	-	-	2
Ceftazidime	-	-	4
Céfépime	-	-	3
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	3
Lévofloxacine	-	-	1
Norfloxacine	-	-	2
Colistine	1	-	-

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Amikacine	-	3	4
Tobramycine	-	-	4
Pipéracilline-tazobactam	-	-	6
Méropénème	-	-	7
Ceftazidime	-	-	7
Céfépime	-	-	7
Quinolones			
Ciprofloxacine	-	-	3
Lévofloxacine	-	-	2
Ofloxacine	-	-	2
Colistine	1	-	-

Il reste à mentionner que 5 laboratoires n'ont pas mentionné la méthode utilisée pour un ou plusieurs antibiotiques.

La plupart des laboratoires n'ont pas changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Toutefois quelques laboratoires ont changé ce résultat brut, sur base ou non de règles d'expertise:

- l'amikacine:
 - o S/R -> R
 - Rosco: 1 labo
 - o I -> R
 - Rosco: 2 labos (dont 1 basé également sur les résultats d'autres techniques)
 - Sirscan: 1 labo
- la lévofloxacine:
 - o I -> R
 - Rosco: 2 labos (basé également sur les résultats d'autres techniques)

127 laboratoires ont proposé un antibiotique supplémentaire à tester; certaines ont même proposé plus d'un antibiotique ; un certain nombre ont déjà testé cet (ces) antibiotique(s) proposé(s) (et fourni la réponse).

Les propositions sont présentées dans les tableaux 4.1.10 (combinaisons des antibiotiques par laboratoire) et 4.1.11. (par antibiotique individuel).

Tableau : 4.1.10. Antibiotiques supplémentaires proposés à tester éventuellement pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*); combinaisons des antibiotiques par laboratoire.

Antibiotiques proposés	Nombre de laboratoires
Colistine	82
Colistine + aztréonam	4
Colistine + polymixine B	2
Colistine + ciprofloxacine	1
Colistine + fosfomycine	1
Colistine + gentamicine	1
Colistine + isépamicine	1
Colistine + lévofloxacine	1
Colistine + polymixines	1
Colistine + ticarcilline-acide clavulanique	1
Colistine + epsilon test métallo- β -lactamase	1
Colistine + aztréonam + imipénème	1
Colistine + imipénème + isépamicine	1
Imipénème	6
Imipénème + aztréonam	2
Aztréonam	3
Aztréonam + gentamicine	1
Aztréonam + nétilmicine	1
Cotrimoxazole	2
Polymixine B	2
Polymixines	2
Carbénicilline	1
Cefsulodine	1
Ciprofloxacine	1
Fosfomycine	1
Isépamicine	1
Moxifloxacine	1
Ticarcilline-acide clavulanique	1
Gentamicine + témocilline	1
Gentamicine + témocilline + ticarcilline-acide clavulanique	1
Suivre les directives du CLSI	1
Total	127

Remarque: les laboratoires qui ont proposé de tester des antibiotiques supplémentaires appartenant aux classes d'antibiotiques, qui avaient un représentant présenté sur le formulaire de réponse, ont dans la plupart des cas testé les antibiotiques présentés (mais pas dans tous les cas).

Tableau 4.1.11. Antibiotiques supplémentaires proposés à tester éventuellement pour l'échantillon M/6437 (*P. aeruginosa*); nombre de laboratoires par antibiotique individuel.

Antibiotiques proposés	Nombre de laboratoires
Colistine	98
Aztréonam	12
Imipénème	10
Polymixine B	4
Polymixines	3
Co-trimoxazole	2
Gentamicine	4
Ciprofloxacine	2
Fosfomycine	2
Isépamicine	3
Lévofloxacine	1
Ticarcilline-acide clavulanique	3
Nétilmicine	1
Carbénicilline	1
Cefsulodine	1
Moxifloxacine	1
Témocilline	2
Epsilon test métallo- β -lactamase	1
Suivre les directives du CLSI	1
Total	152

4.2 Culture M/6613 (*S. aureus*)

Nombre de participants = 193

Tous les laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques. Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs quinolones. 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 le plus résistant dans le tableau suivant.

Il est remarquable que 11 laboratoires n'ont testé ni la méthicilline, ni l'oxacilline, ni la céfoxitine (si la méthicilline se trouvait sur le formulaire de réponse, il est parfaitement logique que les laboratoires qui disposent des méthodes pour tester l'oxacilline et/ou la céfoxitine, aient au moins déterminé un de ces deux (ou les deux) au lieu de ou en même temps que la méthicilline). Un de ces 11 laboratoires a déterminé le PBP2a par un test d'antigène et en a conclu qu'il s'agissait d'un MRSA. Un des autres laboratoires a répondu MRSA lors de l'identification, mais sans avoir répondu un des trois antibiotiques mentionnés ci-dessous et sans avoir mentionné d'avoir effectué un test d'antigène (ou autre test) pour déterminer la présence d'un MRSA.

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné qu'en routine ils enverraient cette souche pour détection de gène *mecA* ou recherche de PVL.

Tableau 4.2.1 Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	S/I	I	I/R	R	*
Méthicilline	R	28	2	-	-	-	25	1 ⁶
Oxacilline ¹	R	155	26	-	1	-	127	1 ⁴
Céfoxitine ¹	R	33	3+1 ⁴	-	-	-	29	-
Erythromycine	S	191	184	-	4	-	2	1 ⁶
Clarithromycine ²	S	3	3	-	-	-	-	-
Clindamycine	S	188	184	-	-	-	2	2 ^{6,7}
Vancomycine	S	188	183 ⁵	-	-	-	2	3 ^{6,8,9}
Gentamicine	S	174	172	-	-	-	-	2 ^{6,10}
Acide fusidique	R	142	3	-	74	1	59	5 ^{6,9,11,12,13}
Kanamycine	S	57	45	-	6	-	3	3 ^{9,11}
Quinolones								
Ciprofloxacine	S	101	99	-	-	-	1	1 ⁶
Lévofloxacine	S	42	40	-	-	-	2	-
Méfloxacine	S	1	1	-	-	-	-	-
Moxifloxacine	S	10	10	-	-	-	-	-
Norfloxacine	S	13	13	-	-	-	-	-
Ofloxacine	S	27	27	-	-	-	-	-
"Quinolone" ³	S	10	10	-	-	-	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'oxacilline et/ou la céfoxitine au lieu de ou en même temps que la méthicilline.

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.

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

⁴ Un laboratoire a répondu « S » pour la céfoxitine mais a signalé dans une remarque: « sensibilité limitée »; ce laboratoire a également mentionné le diamètre, la dilution et le résultat brut mais pas le résultat final pour l'oxacilline mais a remarqué qu'en routine la souche serait envoyée pour déterminer s'il s'agit d'un CA-MRSA.

⁵ Un laboratoire a répondu « S » pour la vancomycine mais a mentionné dans une remarque que si l'utilisation de cet antibiotique serait nécessaire, la CMI devrait être déterminée.

⁶ Un laboratoire a mentionné les diamètres mais pas l'interprétation pour la méthicilline, l'érythromycine, la clindamycine, la vancomycine, l'acide fusidique et la ciprofloxacine.

- ⁷ Un laboratoire a mentionné le diamètre mesuré avec l'appareil Sirscan mais pas l'interprétation pour la clindamycine.
- ⁸ Un laboratoire a mentionné qu'une interprétation basée sur la méthode de diffusion par disque n'est pas valable pour la vancomycine.
- ⁹ Un laboratoire enverrait en routine la souche pour déterminer la sensibilité à la vancomycine et à la kanamycine; un autre laboratoire l'enverrait pour déterminer la sensibilité à l'acide fusidique et à la kanamycine.
- ¹⁰ Un laboratoire a mentionné le diamètre et le résultat brut mais pas le résultat final pour la gentamicine.
- ¹¹ Un laboratoire a mentionné le diamètre et le résultat brut mais pas le résultat final pour l'acide fusidique et la kanamycine.
- ¹² Un laboratoire a mentionné la dilution mais pas le résultat final pour l'acide fusidique.
- ¹³ Un laboratoire a mentionné qu'il n'existe pas de diamètres de référence pour l'acide fusidique.

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.9. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Lorsque la méthode complète était reprise, nous avons déterminé le diamètre médian, minimum et maximum pour les méthodes de diffusion par disque selon CLSI 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.

Certains laboratoires n'ont pas mentionné le diamètre pour l'oxacilline étant donné qu'ils ont détecté une « surcroissance » dans la zone autour du disque.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon CLSI pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Oxacilline ¹	22 (29)	1	7,5	6 - 27	4	-	25	-
Céfoxitine	9 (12)	30	17	12 - 21	1+1 ³	-	10	-
Erythromycine	36 (39)	15	25,5	15 - 33	38	1	-	-
Clarithromycine	3 (3)	15	28	27 - 30	3	-	-	-
Clindamycine	34 (40)	2	26	21 - 30	40	-	-	-
Vancomycine	34 (37)	30	17	14 - 24	36	-	1	-
Gentamicine	33 (37)	10	22	18 - 25	36	-	-	1 ⁴
Acide fusidique	19 (21)	10	11	8 - 15	-	1	18	2 ^{5,6}
Kanamycine	13 (15)	30	21	15 - 23	14	1	-	-
Quinolones								
Ciprofloxacine	22 (25)	5	25	21 - 30	25	-	-	-
Lévofloxacine	7 (7)	5	26	18 - 31	7	-	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	28	27 - 29	2	-	-	-
Norfloxacine ²	2 (2)	*	*	* - *	2	-	-	-
Ofloxacine	6 (6)	5	23,5	17 - 30	6	-	-	-
"Quinolone"	1 (1)	5	29	29 - 29	1	-	-	-

- ¹ Un 23^e laboratoire a obtenu 2 résultats différents avec 2 déterminations de l'antibiogramme par diffusion par disque.
- ² Les 2 laboratoires ont chacun mentionné une autre charge, rendant une évaluation adéquate impossible.
- ³ Un laboratoire a répondu « S » pour la céfoxitine (disques papier) mais a signalé dans une remarque: « sensibilité limitée »; ce laboratoire a également mentionné le diamètre (Rosco), la dilution (la Vitek 2) et le résultat brut mais pas de résultat final pour l'oxacilline mais a remarqué qu'en routine la souche serait envoyée pour déterminer s'il s'agit d'un CA-MRSA.
- ⁴ Un laboratoire a mentionné le diamètre et le résultat brut mais pas le résultat final pour la gentamicine.
- ⁵ Un laboratoire a mentionné le diamètre et le résultat brut mais pas le résultat final pour l'acide fusidique (disques papier) et la kanamycine (Rosco).
- ⁶ Un laboratoire a mentionné qu'il n'existe pas de diamètres de référence pour l'acide fusidique.

Tableau 4.2.3. Diamètres obtenus avec la méthode de diffusion par disques selon ROSCO pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)				
					S	I	I/R	R	*
Méthicilline	6 (15)	29	20	11 - 25	2	-	-	12	1 ⁴
Oxacilline	49 (58)	1	11	7 - 22	8	1	-	48	1 ⁵
Céfoxitine	11 (16)	29	21	14 - 30	2	-	-	14	-
Erythromycine ¹	62 (76)	78	30	21 - 38	73	1	-	1	1 ⁴
Clindamycine ²	63 (71)	25	34	22 - 47	68	-	-	2	1 ⁴
Vancomycine ³	(67)				64 ⁶	-	-	1	2 ^{4,7}
	36	5	17	13 - 20					
	23	70	20	16 - 27					
Gentamicine	55 (62)	40	27	20 - 34	61	-	-	-	1 ⁴
Acide fusidique	28 (40)	100	18,5	9 - 23	1	3	1	34	1 ⁴
Kanamycine	28 (36)	100	26	22 - 34	27	5	-	3	1 ⁸
Quinolones									
Ciprofloxacin ²	29 (33)	10	22	29 - 35	32	-	-	-	1 ⁴
Lévofloxacin	10 (11)	5	26,5	21 - 31	9	-	-	2	-
Moxifloxacin	2 (4)	5	24,5	21 - 28	4	-	-	-	-
Norfloxacin	3 (4)	10	22	20 - 25	4	-	-	-	-
Ofloxacin	18 (19)	10	28	18 - 33	10	-	-	-	-
"Quinolone"	1 (3)	10	28	28 - 28	3	-	-	-	-

- ¹ En outre un laboratoire a répondu un diamètre de > 30 mm. pour l'érythromycine
- ² En outre un laboratoire a répondu un diamètre de > 30 mm. pour la clindamycine et la ciprofloxacin
- ³ Il existe 2 disques différents de vancomycine avec une autre charge. Les résultats des 2 deux types de disque sont mentionnés séparément dans le tableau.
- ⁴ Un laboratoire a mentionné les diamètres mais pas l'interprétation pour la méthicilline, l'érythromycine, la clindamycine, la vancomycine, l'acide fusidique et la ciprofloxacin.
- ⁵ Un laboratoire a répondu « S » pour la céfoxitine (disques papier) mais a signalé dans une remarque: « sensibilité limitée »; ce laboratoire a également mentionné le diamètre (Rosco), la dilution (la Vitek 2) et le résultat brut mais pas de résultat final pour l'oxacilline mais a remarqué qu'en routine la souche serait envoyée pour déterminer s'il s'agit d'un CA-MRSA.
- ⁶ Un laboratoire a répondu « S » pour la vancomycine mais a mentionné dans une remarque que si l'utilisation de cet antibiotique serait nécessaire, la CMI devrait être déterminée.
- ⁷ Un laboratoire a mentionné qu'une interprétation basée sur la méthode de diffusion par disque n'est pas valable pour la vancomycine.
- ⁸ Un laboratoire a mentionné le diamètre et le résultat brut mais pas le résultat final pour l'acide fusidique (disques papier) et la kanamycine (Rosco).

Les résultats obtenus avec le E test sont repris dans le tableau 4.2.4. Même si le nombre des résultats est limité et qu'une analyse statistique n'a qu'une valeur limitée, nous avons choisi de montrer ces données, surtout pour montrer les résultats divergents de l'oxacilline et de la vancomycine.

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec le E test pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

	n res.	CMI (mg/l)									Résultat			**
		< 0.125	0.125	0.5	1	2	4	8	16	32	S	I	R	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-				
			0.5	12	2	4	8	16	32	64				
Oxacilline	5	-	-	2	-	-	1	-	1	1	1	-	3	1 ¹
Erythromycine	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
Clindamycine	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
Vancomycine	8	-	-	-	1	6	1	-	-	-	8	-	-	-
Gentamicine	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
Quinolones														
Ciprofloxacin	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Ofloxacin	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

¹ Un laboratoire a répondu la valeur de la CMI (0.75 mg/l) qu'il avait trouvée mais a mentionné que cette interprétation n'était pas retenue comme interprétation finale étant donné que la souche poussait sur milieu oxascreen.

Les résultats obtenus avec les différents appareils Vitek sont repris dans le tableau 4.2.5.

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

Antibiotique	Vitek 1				
	Résultat final	Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)		
	S	I	R		
Oxacilline	1	-	1	2	1 (2)
Erythromycine	2	-	-	≤ 0.5	1 (2)
Clindamycine	2	-	-	≤ 0.5	1 (2)
Vancomycine	2	-	-	≤ 10	1 (2)
Gentamicine	2	-	-	≤ 2	1 (2)
Acide fusidique	-	-	2	≥ 16	1 (2)
Quinolones					
Ciprofloxacin	1	-	-	-	- (1)
Norfloxacin	1	-	-	≤ 4	1 (1)

Antibiotique	Vitek 2					
	Résultat final				Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R	*		
Oxacilline	10	-	36	1 ¹	≥ 4	22 (47)
Erythromycine	54	-	-	-	≤ 0.25	46 (54)
Clindamycine	54	-	-	-	≤ 0.25	47 (54)
Vancomycine	54	-	-	-	2	26 (54)
Gentamicine	53	-	-	-	≤ 0.5	47 (53)
Acide fusidique	2	51	1	-	8	39 (54)
Kanamycine	2	-	-	-	-	- (2)
Quinolones						
Ciprofloxacin	35	-	1	-	≤ 0.5	31 (36)
Lévofloxacin	13	-	-	-	≤ 0.25	13 (13)
Moxifloxacin	4	-	-	-	≤ 0.25	4 (4)
Norfloxacin	2	-	-	-	0.5	2 (2)
"Quinolone"	4	-	-	-	≤ 0.5	3 (4)

Antibiotique	Vitek 2 compact				
	Résultat final			Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Oxacilline	3	-	3	2	3 (6)
Erythromycine	6	-	-	≤ 0.25	6 (6)
Clindamycine	6	-	-	≤ 0.25	6 (6)
Vancomycine	6	-	-	≤ 1	4 (6)
Gentamicine	5	-	-	≤ 0.5	5 (5)
Acide fusidique	-	5	-	8	5 (5)
Quinolones					
Ciprofloxacin	4	-	-	≤ 0.5	4 (4)
Ofloxacin	1	-	-	-	- (1)

- ¹ Un laboratoire a répondu « S » pour la céfoxitine (disques papier) mais a signalé dans une remarque: « sensibilité limitée »; ce laboratoire a également mentionné le diamètre (Rosco), la dilution (la Vitek 2) et le résultat brut mais pas de résultat final pour l'oxacilline mais a remarqué qu'en routine la souche serait envoyée pour déterminer s'il s'agit d'un CA-MRSA.

La société bioMérieux, contactée au sujet des problèmes rencontrés avec l'oxacilline, a examiné l'échantillon et nous a fourni la réponse suivante : « La carte AST-P536 ne détecte pas de façon fiable la résistance à l'oxacilline sur cette souche, entraînant une expertise en faveur d'une pénicillinase acquise dans ces cas. Pour améliorer les performances du système, bioMérieux a mis au point un test d'induction à la céfoxitine qui détecte ce genre de résistance. Les résultats de ce test seront rendus en +/- . Ce test devrait être disponible pour les utilisateurs VITEK 2 dès septembre 2006. »

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 de plus d'une dilution. Dans quelques cas néanmoins, une plus grande différence a été retrouvée :

- Vitek 2:
 - o pour l'oxacilline 1 laboratoire a retrouvé une dilution de 0.5 mg/l, 6 laboratoires ont retrouvé une dilution de 1 et 10 laboratoires ont retrouvé une dilution de 2 mg/l
 - o pour l'érythromycine 2 laboratoires ont retrouvé une dilution de 0.5 mg/l
 - o pour la clindamycine 1 laboratoire a retrouvé une dilution de 1 mg/l
 - o pour la vancomycine 22 laboratoires ont retrouvé une dilution ≤ 1 mg/l
 - o pour l'acide fusidique 9 laboratoires ont retrouvé une dilution de 16 mg/l
 - o pour la ciprofloxacine 1 laboratoire a retrouvé une dilution de 1 mg/l
- Vitek 2 compact:
 - o pour l'oxacilline 1 laboratoire a retrouvé une dilution de 1 mg/l et 2 laboratoires ont retrouvé une dilution ≥ 4 mg/l
 - o pour la vancomycine 2 laboratoires ont retrouvé une dilution de 2 mg/l

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.2.6. La plupart des laboratoires ont mentionné seulement le résultat (S, I ou R) et n'ont pas mentionné les valeurs obtenues.

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Oxacilline	2	-	10
Erythromycine	11	2	1
Clindamycine	14	-	-
Vancomycine	13	-	-
Gentamicine	14	-	-
Acide fusidique	-	13	1
Kanamycine			
Quinolones			
Lévofloxacine	12	-	-
Méfloxacine	1	-	-
Norfloxacine	5	-	-
"Quinolone"	1	-	-

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.2.7.

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*)

Antibiotique	Résultat final				Dilution mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette dilution (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R	*		
Oxacilline	-	-	7	-	≥ 2	7 (7)
Céfoxitine	-	-	2	-	> 8	2 (2)
Erythromycine	8	-	-	-	≤ 0.25	5 (8)
Clindamycine	8	-	-	-	≤ 0.5	8 (8)
Vancomycine	8	-	-	-	2	7 (8)
Gentamicine	8	-	-	-	≤ 1	8 (8)
Acide fusidique	-	4	2	1 ¹	≥ 8	5 (7)
Quinolones						
Ciprofloxacine	7	-	-	-	≤ 0.25	7 (7)
"Quinolone"	1	-	-	-	≤ 0.25	1 (1)

¹ Un laboratoire a mentionné la dilution mais pas le résultat final pour l'acide fusidique.

Il est à signaler que 3 laboratoires ont mentionné une dilution de 0.5 mg/l pour l'érythromycine, 1 laboratoire a mentionné une dilution de 4 mg/l pour la vancomycine et 2 laboratoires ont mentionné une dilution de 4 mg/l pour l'acide fusidique (dont le laboratoire qui n'a pas donné d'interprétation).

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.2.8. et 4.2.9. A ce jour, il n'y a pas assez d'utilisateurs de ces appareils (ou d'utilisateurs qui mentionnent le résultat quantitatif) pour effectuer un traitement statistique utile des résultats quantitatifs. Si le nombre d'utilisateurs augmentait, ce traitement pourrait être effectué.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Oxacilline	-	-	4
Erythromycine	5	-	-
Clindamycine	2	-	-
Vancomycine	4	-	-
Gentamicine	4	-	-
Acide fusidique	-	-	4
Kanamycine	3	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	4	-	-
Lévofloxacine	1	-	-
Norfloxacine	1	-	-

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/6613 (*S. aureus*).

Antibiotique	Résultat				
	S	I	I/R	R	*
Oxacilline	1	1	-	4	-
Erythromycine	7	-	-	-	-
Clindamycine	6	-	-	-	1 ¹
Vancomycine	7	-	-	-	-
Gentamicine	4	-	-	-	-
Acide fusidique	1	-	1	3	-
Kanamycine	2	-	-	1	-
Quinolones					
Ciprofloxacine	2	-	-	-	-
Lévofloxacine	2	-	-	1	-
Ofloxacine	2	-	-	-	-

¹ Un laboratoire a mentionné le diamètre mesuré avec l'appareil Sirscan mais pas l'interprétation pour la clindamycine.

Un certain nombre de laboratoires ont utilisé des milieux spécifiques pour la recherche de la résistance ou la sensibilité à la méthicilline/oxacilline et/ou à la vancomycine:

- 4 laboratoires ont obtenu un résultat « R » avec le milieu MRSA-screen
- 6 laboratoires ont utilisé le milieu MRSA-ID et ont tous obtenu un résultat « R »; néanmoins 1 laboratoire a choisi comme réponse final pour la souche M/6613 pour « S » étant donné que le laboratoire a obtenu un résultat « S » aussi bien pour la méthode de diffusion par disque que pour la méthode ATB

- 12 laboratoires ont utilisé le milieu oxascreen; 11 ont répondu « R »; 1 laboratoire ne s'est pas exprimé sur base du résultat de ce milieu mais a renvoyé au résultat de la détermination de la CMI (où le labo a obtenu un résultat « R »)
- 7 laboratoires ont obtenu un résultat « S » avec le milieu vancoscreen

Il reste à mentionner que 10 laboratoires n'ont pas mentionné la méthode utilisée pour un ou plusieurs antibiotiques.

La plupart des laboratoires n'ont pas changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Toutefois quelques laboratoires ont changé ce résultat brut, sur base ou non de règles d'expertise:

- l'oxacilline:
 - o S->R
 - Rosco: 6 labos (dont 5 basé également sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 9 labos (tous basé également sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (basé également sur les résultats d'autres techniques)
 - ATB: 1 labo
 - Phoenix: 5 labos (dont 1 basé également sur les résultats d'autres techniques)
 - Osiris: 1 labo
 - o I->R
 - Phoenix: 1 labo (basé également sur les résultats d'autres techniques)
- la méthicilline:
 - o S->R
 - Rosco: 3 labos
- la céfoxitine:
 - o I->R
 - Phoenix: 1 labo (basé également sur les résultats d'autres techniques)
- l'érythromycine:
 - o S->R
 - Rosco: 1 labo
 - o I->R
 - ATB: 1 labo
- l'acide fusidique:
 - o I->R
 - Vitek 2: 1 labo
 - ATB: 1 labo
- la kanamycine:
 - o I->R
 - Rosco: 1 labo
- la ciprofloxacine:
 - o S->R
 - Vitek 2: 1 labo
- la lévofloxacine :
 - o S->R
 - Rosco: 1 labo
 - Sirscan: 1 labo

V. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

Deux suspensions de selles formolées ont été envoyées : P/6231 et P/6695. 189 laboratoires ont participé à cette enquête.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 33%. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter un certain nombre d'erreurs : fautes de frappe, utilisation d'anciens codes, erreurs d'encodage,...

Les échantillons étaient accompagnés des renseignements cliniques suivants :

P/6231

Un homme de 32 ans a passé 3 semaines au Ruanda dans le cadre de "Médecins sans vacances".

P/6695

Une femme de 68 ans revient d'un voyage en Europe du Sud et en Afrique du Nord. Après son retour elle se présente chez son généraliste avec une diarrhée et des spasmes abdominaux.

L'échantillon P/6231 contenait des kystes de *Giardia lamblia* et d'*Entamoeba histolytica*. L'échantillon P/6695 ne contenait pas de parasites.

5.2. Les résultats

5.2.1 L'échantillon P/6231

Les 189 laboratoires ont fourni 398 réponses. 2 laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 47 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 77 ont répondu la présence de 2 parasites, 53 ont répondu la présence de 3 parasites et 9 laboratoires ont répondu la présence de 4 parasites. Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/6231

Résultat	Nombre
<i>Giardia lamblia</i>	185
<i>Entamoeba histolytica</i>	54
<i>Entamoeba histolytica</i> / <i>dispar</i> ¹	23
<i>Entamoeba dispar</i>	4
<i>Entamoeba coli</i>	25
<i>Entamoeba hartmanni</i>	17
<i>Entamoeba species</i>	12
<i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i>	50
<i>Endolimax nana</i>	14
<i>Iodamoeba butschlii</i>	4
<i>Chilomastix mesnili</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1
<i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Isospora belli</i>	1
Absence de parasites ²	2
Total	400

¹ Ces 23 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de différencier *E. histolytica* d'*E. dispar* sur base morphologique; une grande majorité d'entre eux enverraient en routine l'échantillon au centre de référence (l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers), avec ou sans la remarque que l'exécution de PCR est nécessaire.

² Probablement ces 2 laboratoires ont inversé les 2 échantillons.

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

Tableau 5.2.2. Combinaisons de 2 parasites répondus pour l'échantillon P/6231

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i>	29
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> /dispar	12
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i>	14
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba species</i>	5
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba polecki</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	8
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Endolimax nana</i>	3
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Entamoeba species</i> + <i>Entamoeba gingivalis</i>	1
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Enteromonas hominis</i>	1
Total	77

Tableau 5.2.3. Combinaisons de 3 parasites répondus pour l'échantillon P/6231

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	10
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	7
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> /dispar + <i>Blastocystis hominis</i>	4
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> /dispar + <i>Endolimax nana</i>	3
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> /dispar + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> /dispar + <i>Isospora belli</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba dispar</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba dispar</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	6
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba species</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	5
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
Total	53

Tableau 5.2.4. Combinaisons de 4 parasites répondus pour l'échantillon P/6231

Combinaisons de parasites	Nombre
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba species</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Giardia lamblia</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
Total	9

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Giardia lamblia* sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.5. Stades d'évolution de *Giardia lamblia* pour l'échantillon P/6231

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Kyste	176
Œuf	3
Oocyste	2
Trophozoïte	2
Forme végétative	1
Forme adulte	1
Total	185

Tous les laboratoires ayant répondu *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* ou *Entamoeba histolytica/dispar*, ont mentionné comme stade d'évolution « kyste ».

5.2.2 L'échantillon P/6695

Les 189 laboratoires ont fourni 191 réponses. 164 laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 23 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 2 ont répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.6. Résultats pour l'échantillon P/6695

Parasite	Nombre
Absence de parasites	164
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	3
<i>Endolimax nana</i>	3
<i>Giardia lamblia</i>	3
<i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Entamoeba histolytica</i>	2
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Entamoeba dispar</i>	1
<i>Entamoeba species</i>	1
<i>Enteromonas hominis</i>	1
<i>Heterophyes heterophyes</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1
Total	191

5.3. Commentaire sur les résultats de l'enquête 2006/1 parasitologie

P/6231

Nous référons également aux rapports globaux 2002/3 (*Entamoeba histolytica*) et 2005/3 et 2003/3 (*Giardia lamblia*).

Un homme de 32 a séjourné 3 semaines au Rwanda dans le cadre de « Médecins sans vacances ». Cet échantillon contenait un nombre assez important de kystes de *Giardia lamblia*, qui ont été retrouvés par 184 des 188 laboratoires. Même si ces kystes (figures 1 et 2) n'étaient plus aussi beaux que dans un échantillon frais, ils pouvaient être reconnus facilement. Comme souvent quand on retrouve un protozoaire, d'autres protozoaires étaient présents également. Surtout dans les régions tropicales, une petite faute dans l'hygiène faeco-orale (le plus souvent inévitable) a pour conséquence que l'on soit contaminé avec plusieurs protozoaires. Il est bien connu que ceci peut se produire même après un séjour de quelques jours. Principalement *Entamoeba* spp. (figure 3) et *Blastocystis* ont été rapportés. L'identification de l'espèce d'*Entamoeba* est principalement fondée sur la taille du kyste, l'aspect et le nombre des noyaux. Il est impossible de faire la distinction entre *Entamoeba histolytica* pathogène et *Entamoeba dispar* non-pathogène sur base morphologique. Cette distinction peut être effectuée par PCR (disponible à l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers) ou par un test ELISA. Globalement on peut conclure que l'identification des autres kystes n'était pas facile ; une des raisons en était que l'échantillon n'était plus très frais. La présence d'*E. histolytica* a été confirmée par PCR à l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers.



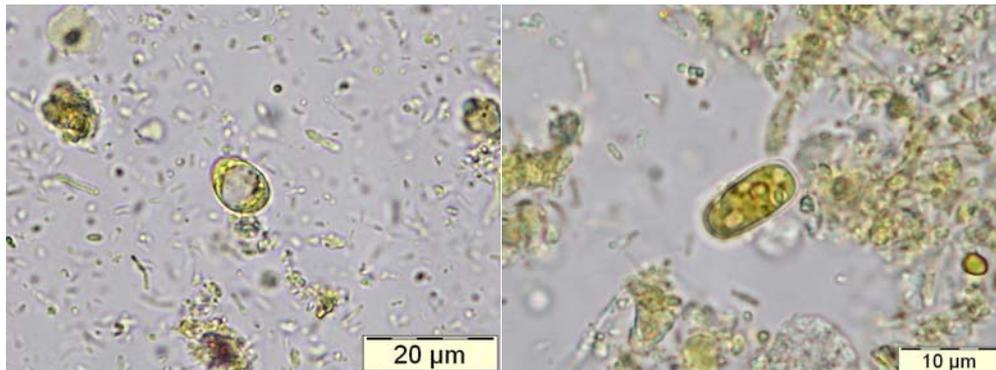
Figures 1 et 2. A gauche des kystes de *Giardia lamblia* dans l'échantillon P/6231; à droite kyste de *G. lamblia* avec 2 noyaux clairement visibles dans l'échantillon P/6231 (tous les deux colorés au Lugol).



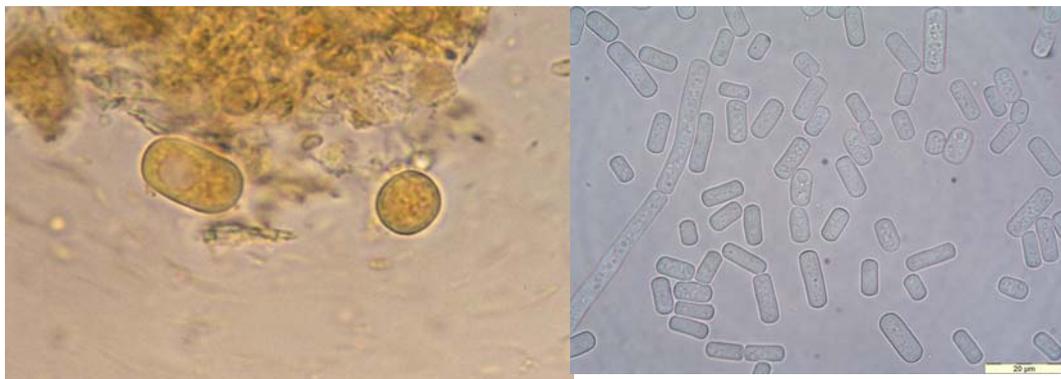
Figure 3. Kyste d'*Entamoeba histolytica-dispar* avec 1 noyau clairement visible avec caryosome central dans l'échantillon P/6231 (coloré au Lugol).

P/6695

Une femme de 68 revient d'un voyage en Europe du Sud et Afrique du Nord. Après son retour, elle se présente chez son généraliste avec de la diarrhée et des plaintes abdominales. Cet échantillon ne contenait pas d'éléments parasitaires clairement reconnaissables. Au total, 163 des 188 laboratoires ont donc répondu: « absence de parasites ». Néanmoins on pouvait retrouver des « éléments suspects » (figures 4 et 5). Il était cependant impossible d'identifier ces éléments sans équivoque. Certaines images faisaient penser aux cellules des levures *Geotrichum candidum* (figures 6 et 7) ou *Blastocystis hominis*.



Figures 4 et 5. A gauche *Blastocystis*-like body atypique (le centre ressemble plus à une ouverture qu'à une vacuole); à droite *Geotrichum*-like body (tous les deux colorés au Lugol).



Figures 6 et 7. A gauche cellules des levures *Geotrichum candidum* dans les selles (colorés au Lugol); à droite cellules des levures *Geotrichum candidum* en culture (incolore).

Différentiation d'*Entamoeba* spp.

La différenciation des différentes espèces d'*Entamoeba* et kystes apparentés est possible sur base de la taille, l'aspect des noyaux (figures 8 et 9) et du cytoplasme (figure 8) (1, 2, 3). Les kystes d'*Entamoeba hartmanni* (anciennement small race *Entamoeba histolytica*) mesurent 5-10 μm , ceux d'*E. histolytica* - *Entamoeba dispar* (qui ne peuvent être différenciés sur base morphologique) 10-20 μm , ceux d'*Entamoeba coli* 10(15)-35 μm . Le nombre de noyaux est également important: 1-4 pour *E. hartmanni*, 1-4 pour *E. histolytica* - *E. dispar*, 2-8 (16) pour *E. coli*, 1 pour *Entamoeba polecki*. Le noyau d'*Entamoeba* est caractérisé par la présence d'une chromatine périphérique et d'un caryosome, d'habitude central chez *E. histolytica* (figure 9). Les noyaux d'*Endolimax nana* et d'*Iodamoeba bütschlii* ont une chromatine en amas avec des rugosités. Il est typique pour l'*E. histolytica* - *E. dispar* que les kystes soient souvent assez laids et difficiles à reconnaître.

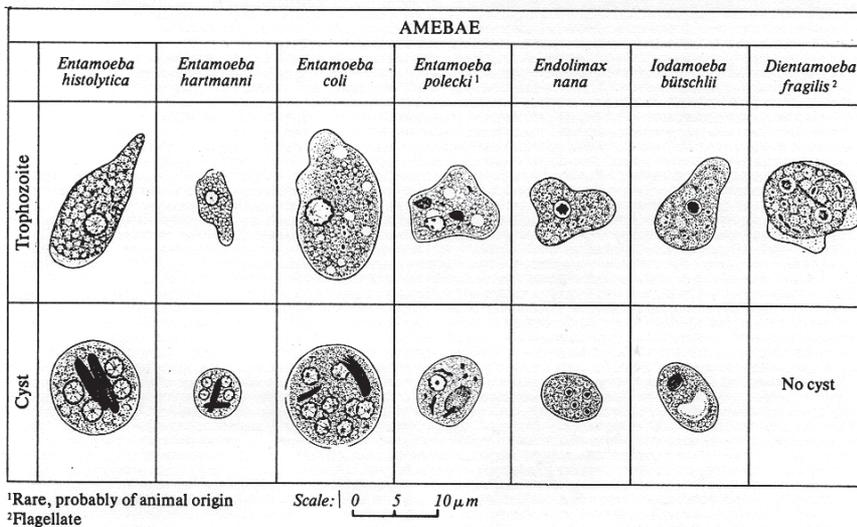


FIGURE 1 Amebae and flagellate (*Dientamoeba fragilis*) found in human stool specimens. (From reference 4.)

Figure 8. Différentiation des amibes (réf 3).

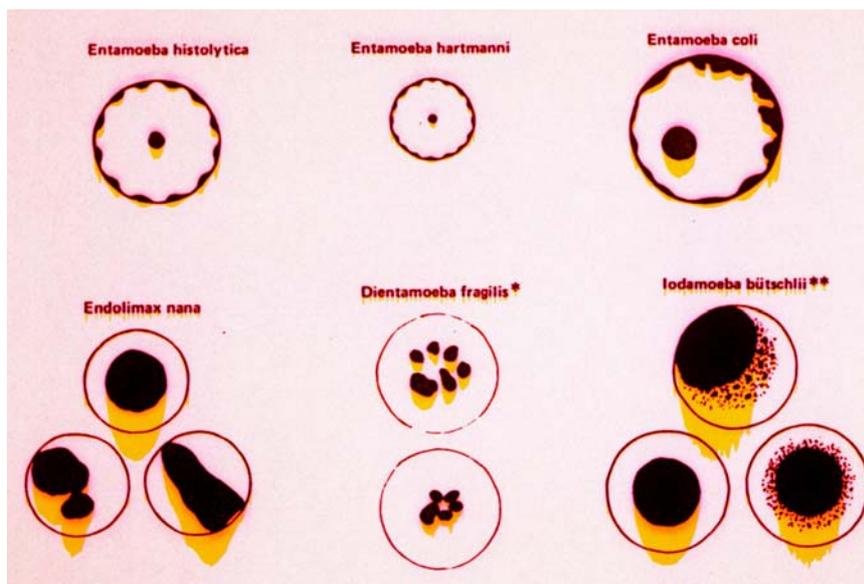


Figure 9. L'aspect des noyaux d'*Entamoeba* spp. et kystes apparentés.

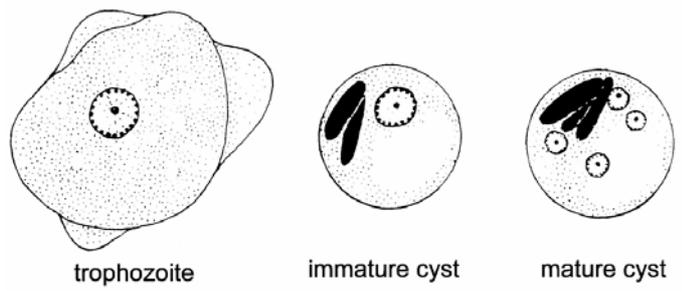


Figure 10. Trophozoïte, kyste jeune et kyste d'*E. histolytica* (réf 2).

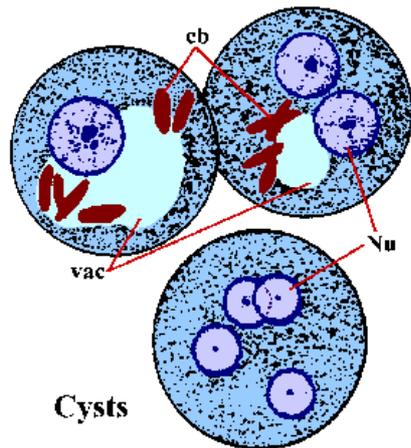


Figure 11. Kystes avec 1, 2 et 4 noyaux d'*E. histolytica* (réf 2). Les kystes jeunes (avec 1 ou 2 noyaux) ont d'habitude une vacuole (iodophile au Lugol) et des bâtonnets de chromatine.

M. Lontie, MCH, Louvain et K. Vernelen, ISP, Bruxelles

REFERENCES

1. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>
2. <http://www.tulane.edu/%7Ewiser/protozoology/>
3. Leber A.L. & Novak S.M. 2003. Intestinal and urogenital amebae, flagellates, and ciliates. p.1990-2007 *In* Manual of Clinical Microbiology, ASM Press, Washington DC.

VI. SEROLOGIE

6.1 Description des échantillons

2 échantillons ont été envoyés.

Il y avait 1 échantillon lyophilisé, S/6634, pour y effectuer la détermination des anticorps anti-syphilis et anti-Borrelia.

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante :
« Fièvre et rash »

Les résultats attendues étaient :

- pour la Syphilis: Présence d'anticorps
- pour la borreliose : Absence d'anticorps

Il y avait 1 échantillon lyophilisé, S/4173, pour y effectuer la détermination des anticorps anti-Toxoplasme.

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante :
« Une jeune femme se plaint de fatigue, des ganglions sont présents.»

Le résultat attendu était : Sérologie négative pour le Toxoplasme.

6.2 Syphilis

6.2.1. Les participants

181 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse.
Ils ont effectué 387 tests, à savoir 216 tests spécifiques (« tréponémiques ») et 171 tests aspécifiques (« non-tréponémiques »).
10 laboratoires ont effectué 1 test, 143 laboratoires ont effectué 2 tests, 23 laboratoires ont effectué 3 tests, 3 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

6.2.2. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.2.1. Réactifs utilisés dans la détermination de la sérologie de la syphilis

Fabricant	Trousse	S/6634
Abbott	Murex Syfacard-R (VDRL)	36
	Murex TPHA kit	13
	Architect Syphilis TP	3
	Murex VDRL Carbon antigen	1
	Determine Syphilis	1
Alldiag	Non précisé	2
	Non précisé	2
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	13
Biokit	RPR	9
	Syphagen TPHA	9
bioMérieux	Trepo-Spot IF	21
	RPR-nosticon II	19
	RPR Slide Test	3
	Non précisé	1
Biosystems	RPR Carbon	1
	TPHA hemagglutinine	1
Biotest	Biotest/Meddens Anti-Treponema pallidum IgM	1
	RPR Carbon	1
Cypress Diagnostics	TPHA kit	1
	Non précisé	1
	Cellognost Syphilis H Combipack	15
Dade Behring	Enzygnost Syphilis	4
	VDRL Cardiolipin Ag	2
	SypalCB	4
Diagast	Non précisé	1
	ID-Pagia	4
Diamed	ETI-Treponema Screen	6
	Liaison Treponema Screen	3
DiaSorin	Niet gepreciseerd	1
	Treponema pallidum IgG	2
Euroimmun (distributeur Biognost)	Treponema pallidum IgM	1
	Syphscreen EIA	2
Forlab	Non précisé	2
	Serodia TPPA	84
Fujirebio	Serodia TPPA auto	1

Innogenetics	Inno-Lia Syphilis	4
	Inno-TPHA	1
	Non précisé	1
Lameris	TPHA	18
	RPR	9
	Non précisé	1
Lorne laboratories (distributeur Lucron Bioproducts)	TPHA kit	1
Medigal	RPR latex	6
	RPR Carbon	2
	TPHA	1
Mikrogen	Recomblot IgG	1
	Recomwell IgG	1
	Recomwell IgM	1
New Market Laboratories ltd	TPHA 200	1
Omega	Immutrep RPR kit	9
	Immutrep TPHA kit	4
	Immutrep Carbon antigen	2
Oxoid	VDRL test kit	2
	TPHA test	1
Plasmatec (distributeurForlab)	RPR Test kit	5
	VDRL Test kit	2
	TPHA Test kit	1
	VDRL Carbon antigen	1
Radim	RPR Card Test	1
Randox	RPR Test	1
Reaction Spinreact	RPR Carbon	29
Remel	RPR Card Test	1
Servibio (distributeurBiognost)	Servitex TPHA	2
	Syphicheck 2	1
Non précisé	VDRL	3
	TPHA	2
	RPR	1
Total		387

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

Tableau 6.2.2. Aperçu global des types et des combinaisons des tests utilisés (nombre de laboratoires).

Nombre de tests	Type de tests	Nombre de laboratoires
1 test exécuté	1 x spécifique	9
	1 x aspécifique	1
2 tests exécutés	1 x spécifique+ 1 x aspécifique	141
	2 x spécifique	1
	2 x aspécifique	1
3 tests exécutés	2 x spécifique+ 1 x aspécifique	18
	1 x spécifique+ 2 x aspécifique	3
	3 x spécifique	2
4 tests exécutés	3 x spécifique+ 1 x aspécifique	3
5 tests exécutés	4 x spécifique+ 1 x aspécifique	2
Total		181

Tableau 6.2.3. Résumé des types et des combinaisons des tests utilisés (nombre de laboratoires).

Type test	Nombre de laboratoires
Un test: spécifique	9
Un test: aspécifique	1
Combinaison spécifique+ aspécifique	166
Combinaison spécifique seule	4
Combinaison aspécifique seule	1
Total	181

6.2.3. Résultats

6.2.3.1. Tests spécifiques

Six laboratoires ont déterminé les IgM spécifiques; 3 laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 1 un résultat borderline et 2 un résultat positif.

Il est à mentionner que 3 de ces laboratoires ont utilisé la combinaison des trousse Trepo-spot IF et Fluoline M à ce but ; toutefois cette combinaison n'a pas été validée par la compagnie bioMérieux. La compagnie n'a d'ailleurs pas non plus validé la combinaison Trepo-spot IF et Fluoline G.

Les résultats obtenus pour les IgG et/ou anticorps totaux spécifiques sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.4. Résultats des tests d'IgG et/ou anticorps totaux spécifiques pour la syphilis pour l'échantillon S/6634

Résultat	Nombre de laboratoires
Positif	179
Borderline	9
Négatif	20
Pas de réponse ¹	2
Total	210

¹ Ces 2 laboratoires ont répondu un résultat quantitatif mais pas l'interprétation qualitative de ce résultat

15 des 20 résultats négatifs ont été obtenus par les utilisateurs de la trousse Cellognost Syphilis H Combipack (à savoir tous les utilisateurs de cette trousse). La compagnie Dade Behring en a été avertie et examine le problème; les résultats vous seront communiqués ultérieurement.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans le tableau 6.2.5.

Tableau 6.2.5. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les IgG et/ou anticorps totaux spécifiques pour l'échantillon S/6634 pour les trousse les plus utilisées ; les résultats sont exprimés en titres.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Murex TPHA kit (titre)	9	1/160	1/8	1/640
Syphagen TPHA (titre)	8	1/160	1/80	1/320
Trepo-Spot IF (titre)	11	1/320	1/40	1/2560
Serodia TPPA (titre)	79	1/320	0	1/1280
Lameris TPHA (titre)	18	1/320	1/40	1/2560

Les 9 utilisateurs de la trousse Cellognost Syphilis H Combipack ayant répondu le titre, ont tous mentionné une valeur <1/80.

6.2.3.2. Tests aspécifiques

Les résultats obtenus pour les tests aspécifiques sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.2.6. Résultats des tests aspécifiques pour la syphilis pour l'échantillon S/6634

Résultat	Nombre
Positif	143
Borderline	7
Négatif	19
Pas de réponse ¹	2
Total	171

¹ Ces 2 laboratoires ont répondu un résultat quantitatif mais pas l'interprétation qualitative de ce résultat.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans le tableau 6.2.7.

Tableau 6.2.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests aspécifiques pour l'échantillon S/6634 pour les trousse les plus utilisées ; les résultats sont exprimés en titres.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Murex Syphacard-R (titre)	32	1/4	1/1	1/32
Macro-Vue RPR Card Test (titre)	9	1/4	1/2	1/8
Biokit RPR (titre)	7	1/2	1/1	1/4
RPR-nosticon II (titre)	15	1/2	1/1	1/4
Lameris RPR (titre)	7	1/2	0	1/8
Immutrep RPR kit (titre)	7	1/2	1/2	1/4
Reaction Spinreact RPR Carbon1 (titre)	23	1/4	0	1/8

¹ En outre un laboratoire a répondu un titre de 1/160.

6.2.3.3. Aperçu en fonction du nombre de tests effectués

Un aperçu des résultats en fonction du nombre de tests effectués est présenté dans le tableau 6.2.8.

Tableau 6.2.8. Aperçu des résultats pour l'échantillon S/6634 (syphilis).
(TS = test spécifique; TAS = test aspécifique; IGM = IgM; P = positif; N = négatif; B = borderline; PR = pas de réponse)

Nombre de tests effectués	Type tests	Résultats	Nombre de laboratoires
1	ST	P	6
		B	2
		N	1
2	AST	P	1
	ST - AST	P - P	111
		P - B	3
		P - N	10
		B - P	2
		B - B	2
		B - N	1
		N - P	7
		N - B	1
		N - N	3
		GA - GA	1
		P - N	1
		P - P	1
3	ST - ST - AST	P - P - P	12
		P - P - N	1
		P - P - GA	1
		P - N - P	1
		P - GA - N	1
		B - N - P	1
		N - N - P	1
		P - P - P	1
		P - P - N	1
		P - P - N	1
		P - P - N	1
		N - N - N	1
	ST - ST - IGM	P - P - P	1
ST - ST - ST	P - P - N	1	
	ST - AST - AST	P - P - N	1
4	ST - ST - ST - AST	P - P - P - P	1
	ST - ST - AST - IGM	P - P - P - N	2
5	ST - ST - ST - AST - IGM	P - P - P - N - P	1
		P - B - N - B - B	1
Total			181

6.2.3.4. Résultats des techniques ELISA, chemiluminescence, Inno-Lia et Western Blot

Dans les tableaux ci-dessous 6.2.9. et 6.2.10. nous présentons les résultats de ces techniques. Ils seront discutés plus amplement dans le commentaire.

Tableau 6.2.9. Résultats des techniques ELISA et chemiluminescence pour l'échantillon S/6634 (syphilis).

Technique	Procédé	Nombre de laboratoire	Résultats
Architect	Chemiluminescence totale Ig	4	4 x positif
Biotest	Elisa IgM	1	positif
Enzygnost	Elisa totale Ig	4	4 x positif
Euroimmun	Elisa IgG	2	2 x positif
	Elisa IgM	1	positif
Liaison	Chemiluminescence totale Ig	3	3 x positif

La technique PAGIA (Particle Gel ImmunoAssay) occupe une place à part puisqu'elle met en jeu des billes sensibilisées avec des antigènes recombinants TpN15, TpN17, TpN47. Après centrifugation des tubes contenant la matrice de gel, la réaction finale se traduit sous la forme d'une agglutination en présence d'un sérum positif. Les 4 laboratoires qui ont fait appel à cette technique ont tous obtenu des résultats positifs.

Tableau 6.2.10. Résultats des techniques de confirmation pour l'échantillon S/6634 (syphilis).

Technique	Procédé	Nombre de laboratoires	Résultats
Inno-Lia	Line immunoassay totale Ig	4	4 x positif
Western Blot			
Mikrogen	IgG immunoassay	1	positif
	IgM immunoassay	1	négatif

6.2.3.5. Interprétation clinique

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps (Un diagnostic de syphilis active doit être éliminé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques et du suivi sérologique) ». Quelques laboratoires ont choisi des variations de cette interprétation ou ont proposé leur propre interprétation. Sept laboratoires ont répondu « Absence d'anticorps ».

Les interprétations cliniques sont reprises dans le tableau suivant:

Tableau 6.2.11. Interprétations cliniques pour l'échantillon S/6634

Interprétation	Nombre
Présence d'anticorps (Un diagnostic de syphilis active doit être éliminé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques et du suivi sérologique)	156
Absence d'anticorps	7
Présence d'anticorps (Un diagnostic de syphilis active doit être éliminé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques et du suivi sérologique) et l'échantillon sera envoyé au centre de référence pour confirmation par FTA-Abs	1
Présence d'anticorps (Un diagnostic de syphilis active doit être éliminé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques et du suivi sérologique) et exécution des tests de confirmation (fluorescence, titre de TPHA et éventuellement LIA Innogenetics)	1
Présence d'anticorps: syphilis traitée (Un diagnostic de syphilis active doit être éliminé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques et du suivi sérologique)	1
Syphilis traitée ou latente	1
Infection vécue	1
Diagnostic de syphilis sur base de 3 tests: 2 spécifique (TPPA), 1 RPR fort positif	1
Des examens supplémentaires sont effectués dans l'Institut de Médecine Tropicale en cas d'un résultat positif: FTA, titre de TPHA, Inno-Lia et VDRL	1
Des tests supplémentaires sont nécessaires pour obtenir une conclusion ¹	4
Réaction faiblement positive; échantillon de contrôle nécessaire	1
Probablement «biologiquement faux positif». Echantillon de contrôle nécessaire (après 2 semaines par exemple). Condition clinique? Anamnèse?	1
Autres interprétations; non précisés	2
Pas de réponse	3
Total	181

¹ Certains de ces laboratoires ont mentionné que les résultats des différents tests effectués étaient discordants.

Les laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps », ont obtenu les résultats suivants:

- 1 laboratoire: TPHA négatif
- 3 laboratoires: TPHA et RPR négatif
- 1 laboratoire: TPHA négatif et RPR faiblement positif (ce laboratoire a remarqué qu'une RPR positivité de 1/8 est non attribuable à une infection syphilitique)
- 1 laboratoire: TPHA, VDRL et RPR négatifs
- 1 laboratoire: TPHA et FTA-Abs négatifs et RPR faiblement positif

Trois laboratoires ayant répondu « Présence d'anticorps (Un diagnostic de syphilis active doit être éliminé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques et du suivi sérologique) », ont mentionné qu'un test de confirmation (FTA) serait souhaitable; un laboratoire a mentionné qu'un suivi sérologique serait souhaitable.

6.2.4. Discussion des résultats de l'enquête

Introduction

Le contexte clinique infectieux du patient suggéré par la fièvre, a fait l'objet d'une mise au point comprenant :

- Une sérologie syphilitique de routine qui s'est révélée positive
- Un interrogatoire orienté vers une recherche d'un comportement à risque, d'une éventuelle source de contamination, d'une date pour cette contamination, d'un traitement anti-syphilitique antérieur, et de toute autre forme d'infections sexuellement transmissibles
- Un bilan clinique approfondi
- Des examens complémentaires sur le plan cardiaque et radiologique

L'ensemble des données a permis de statuer en faveur d'une infection syphilitique certes, mais non impliquée dans l'émergence du syndrome d'hypertermie-frissons. Bien connue du patient et traitée plusieurs années auparavant par une cure de pénicilline, la syphilis se trouvait en phase de latence tardive dévoilée seule par la sérologie positive.

Performance des techniques

Hormis quelques cas, l'ensemble des techniques non spécifiques et des techniques spécifiques de *Treponema pallidum* se sont révélées positives. En l'absence de sérologie antérieure, les titres obtenus n'ont pu être évalués sur le plan de leur évolution comme étant stables, augmentés ou diminués.

A propos du VDRL, un laboratoire l'a utilisé comme technique unique du diagnostic de la syphilis. Un autre laboratoire a fait usage de 2 VDRL de marques différentes dans le but probable d'augmenter la performance des résultats. Il nous faut rappeler que le VDRL ne détecte que des anticorps non spécifiques et qu'il est impératif de l'associer à une technique de recherche d'anticorps spécifiques. Cette exigence a déjà été formulée dans nos précédents rapports de contrôle de qualité, enquête No 3 1997, et enquête No 2 2004.

De la même manière, la technique ELISA IgM ne peut être utilisée seule en première ligne. Elle doit au minimum être associée à un ELISA IgG. L'intérêt de l'isotype IgM ELISA dans la pratique courante vous est présenté au chapitre suivant.

Dans leur grande majorité, les utilisateurs de la technique Cellognost Syphilis H Combipack ont rapporté des résultats erronés qui sont négatifs. Cette technique fait donc l'objet d'une révision.

Techniques ELISA et Chemiluminescence

Le tableau 6.2.9. vous montre la répartition des laboratoires qui ont pratiqué ces deux techniques ainsi que les résultats obtenus. Les anticorps Ig totaux ainsi que les anticorps IgG et IgM spécifiques sont tous positifs.

Cinétique des anticorps IgM par ELISA ou chemiluminescence

Ces anticorps apparaissent dès la 2^e semaine si le patient n'a pas été soumis au préalable à un traitement spécifique. Ils peuvent persister pendant des années à des taux faibles. En dépit de leur robustesse et de leur performance analytique en termes de sensibilité et de spécificité, les techniques ELISA IgM et chemiluminescence IgM ne sont indiquées, jusqu'à nouvel ordre, que pour le diagnostic de la syphilis congénitale par mise en évidence et confirmation des anticorps IgM chez le nouveau-né. Pour les fabricants des réactifs, les IgM seraient aussi utiles pour d'autres applications cliniques.

Cinétique des anticorps IgG par ELISA ou chemiluminescence

Les anticorps IgG apparaissent généralement dès la 4^e semaine après la contamination et persistent pendant des années.

Techniques de Western blot et d'Inno-Lia

Ces 2 techniques ont été utilisées dans le cadre de ce contrôle de qualité.

- La technique de Western blot, de marque Mikrogen, est basée sur les protéines recombinantes spécifiques suivantes : Tp47, TmpA, Tp37, Tp17, Tp15. Les anticorps IgG ont été positifs et les anticorps IgM négatifs. Ce résultat d'IgM négatif est compatible avec le diagnostic de syphilis au stade de latence tardive chez un patient qui a déjà subi un traitement antibiotique spécifique quelques années auparavant et qui n'a pas eu de recontaminations.
- La technique INNO-LIA utilise les protéines recombinantes Tp47, Tp17, Tp15 et une protéine synthétique spécifique TmpA. Les résultats fournis par les 4 utilisateurs de cette technique ont été positifs. Cette technique ne fait pas de distinction entre anticorps IgG et IgM et les résultats sont exprimés sous forme de score.

Ces deux techniques présentent la caractéristique d'être positives au stade précoce du chancre, période pendant laquelle la majorité des techniques sérologiques sont encore négatives. Etant donné leur grande sensibilité et leur grande spécificité liées à chacune des protéines immunodominantes qui les constituent, ces 2 techniques sont considérées comme techniques de référence et de confirmation.

Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats est inséparable du contexte clinique. Les éléments cliniques doivent être portés à la connaissance du biologiste et à fortiori lorsque les résultats sont positifs. C'est pourquoi nous développons dans le présent rapport un résumé des différents stades de la syphilis naturelle et en parallèle, l'évolution de la réponse immunitaire humorale. Celle-ci est caractérisée par la production d'anticorps spécifiques et non spécifiques. Toutefois, nous nous limiterons aux techniques standards les plus utilisées par les laboratoires, à savoir le VDRL/RPR et le TPHA tout en montrant l'évolution comparative du Western Blot.

**COMMENT INTERPRETER LES RESULTATS D'UNE SEROLOGIE
SYPHILITIQUE CHEZ L'ADULTE EN L'ABSENCE D'ANTIBIOTHERAPIE**

STADE PRIMAIRE CONTAGIEUX

CHRONOLOGIE DES EVENEMENTS	MANIFESTATIONS CLINIQUES	SEROLOGIE	REMARQUES	
<p>Temps 0 Contamination</p> <p>2^e jour ↓ 3^e jour 4^e jour ↓ 20^e jour ↓</p>	<p>Septicémie</p> <p>Incubation</p>	<p>Diffusion des tréponèmes</p> <p>dans tout l'organisme</p>	<p>Sérologie courante toujours négative durant les 20 premiers jours. A contrôler après 3 semaines.</p> <p>Western blot (WB)</p> <p>IgG +</p> <p>IgM ++</p>	<p>Examen du chancre :</p> <ul style="list-style-type: none"> - à frais, en microscopie à fond noir - après coloration - en IF directe ou indirecte - PCR
<p>21^e jour</p>	<p>Chancre</p>	<p>CHANCRE :</p>		
<p>22^e jour ↓ 30^e jour</p>	<p>La présence isolée du chancre définit la période primaire précoce.</p> <p>Incubation et diffusion des tréponèmes</p>	<p>Localisation</p> <ul style="list-style-type: none"> - organes génitaux externes chez l'homme, externes et internes chez la femme - chancres bucco-pharyngés - chancres ano-rectaux - chancre du doigt, mamelon, pubis 	<p>FTA abs +</p> <p>TPHA : + ± 80</p> <p>VDRL/RPR : (-)</p> <p>WB IgG : ++</p> <p>WB IgM : ++</p>	<p>Le seul mérite du test d'immunofluorescence FTA abs est sa positivité précoce. Technique en voie de disparition en raison des difficultés de standardisation et d'automatisation.</p>
<p>31^e jour ↓ 60^e à 90^e jour</p>	<p>La présence de lésions secondaires en présence ou non du chancre définit la période secondaire</p> <p>Incubation et diffusion des tréponèmes</p>	<p>Caractéristiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - indolore - base indurée - se cicatrise spontanément sans laisser de traces entre 1 à 8 semaines - s'accompagne d'adénopathie régionale 	<p>FTA abs : +</p> <p>TPHA : > 320</p> <p>VDRL/ RPR : > 8</p> <p>WB IgG : ++</p> <p>WB IgM : +++</p>	

STADE SECONDAIRE CONTAGIEUX

CHRONOLOGIE DES EVENEMENTS	MANIFESTATIONS CLINIQUES	SEROLOGIE	REMARQUES
<p>Les limites entre période primaire et période secondaire sont peu tranchées. Les deux périodes peuvent partager des lésions communes. Les manifestations secondaires se déclarent endéans les 3 mois après le début d'infection.</p>	<p>Les tréponèmes circulent dans le sang → différents systèmes sont touchés</p> <p>Roséole</p> <p>Eruptions maculeuses (fleur de pêché)</p> <p>Syphilides</p> <ul style="list-style-type: none"> - collerettes de Bielt - pigmentées, circinées, psoriasiformes - papulosquameuses <p>Roséole secondaire</p> <p>Atteintes muqueuses (indolores et guérissent spontanément)</p> <ul style="list-style-type: none"> - lèvres - commissures labiales - faces internes des joues - amygdales - région génito-anales <p>Méningite</p> <p>Atteinte rénale</p> <p>Protéinurie, glomérulonéphrite par dépôt d'immun-complexes</p> <p>Atteinte osseuse</p> <p>Ostéite avec périostite sur les os longs, crâne et côtes</p> <p>Manifestations diverses</p> <ul style="list-style-type: none"> - fièvre - céphalées - asthénie - polyadénopathies - atteinte hépatique - alopécies en clairières - alopécies des sourcils - arthralgies 	<p>TPHA +++</p> <p>>2.560</p> <p>VDRL/ RPR +++</p> <p>>16</p> <p>WB IgG +++</p> <p>WB IgM +++</p>	<p>Les lésions des muqueuses et cutanées sont caractérisées par leur contagiosité extrême</p>

STADE DE LATENCE

CHRONOLOGIE DES EVENEMENTS	MANIFESTATIONS CLINIQUES	SEROLOGIE	REMARQUES
<p>Ce stade commence dès la disparition spontanée ou par traitement de la dernière lésion secondaire. Voir commentaires en bas de ce tableau</p>	<p>Cliniquement asymptomatique</p>	<p><u>Latence précoce</u> : résultats comparables à phase secondaire</p> <p><u>Latence tardive</u>: TPHA +++ > 1.280</p> <p>VDRL/ RPR +++ >8 Les titres peuvent, même sans traitement, diminuer et même se négativer</p> <p>WB IgG +++</p> <p>WB IgM (-)</p>	<p>L'interrogatoire, l'examen clinique, le bilan des traitements antérieurs, et diverses investigations permettront de définir le stade de latence</p>

La période de latence se subdivise en 2 parties : une période de latence précoce et une période de latence tardive. Les 12 premiers mois qui suivent la disparition des lésions du stade secondaire correspondent à la latence précoce. Le patient est alors à risque de récurrence de manifestations syphilitiques dans 25% des cas. La période qui suit est appelée latence tardive. Si la transmission sexuelle est peu probable en période de latence tardive, en revanche l'échappement de tréponèmes à partir de réservoirs - tels que les ganglions- et leur apparition intermittente dans le sang peut être à l'origine de l'atteinte du fœtus pendant la grossesse. La période de latence tardive prend fin lorsque apparaissent les lésions du stade tertiaire.

PERIODE TERTIAIRE OU SYPHILIS SYMPTOMATIQUE TARDIVE

CHRONOLOGIE DES EVENEMENTS	MANIFESTATIONS CLINIQUES	SEROLOGIE	REMARQUES
<p>Ce stade survient de 5 à 15 ans parfois de 10 à 20 ans après le début de la maladie</p>	<p>Lésions tégumentaires</p> <ul style="list-style-type: none"> - gommés cutanées - sous-cutanées - nodulaires <p>Lésions muqueuses</p> <ul style="list-style-type: none"> - bouche - palais - pharynx - cloison nasale <p>Lésions viscérales, surtout cardio-vasculaires</p> <ul style="list-style-type: none"> - aortite - sténose coronarienne - anévrisme de l'aorte - néphrite - hépatique : foie ficelé (cirrhose) <p>Manifestations nerveuses variées</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Paralyse générale très grave → état de démence 2. Tabes <ul style="list-style-type: none"> - ataxie - troubles visuels - signe d'Argyll – Robertson + - surdité - diplopie - plaintes urinaires <p>Lésions de l'appareil locomoteur</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Lésions osseuses épaississement du périoste (tibia en lame de sabre) 2. Lésions des articulations, des bourses séreuses et des gaines tendineuses 	<p>TPHA +++ > 10.240</p> <p>VDRL/ RPR +++ >32</p> <p>WB IgG +++</p> <p>WB IgM (-) ou ±</p>	<p>La sévérité des lésions cliniques est liée à la destruction et à la sclérose tissulaire</p> <p>En cas d'atteintes neurologiques, rechercher les anticorps dans le LCR</p>

INFLUENCE DU TRAITEMENT SUR LA SEROLOGIE

PHASE PRIMAIRE DU CHANCRE

Au stade précoce du chancre, un traitement antibiotique bien conduit arrête l'évolution de la maladie. Dans la majorité des cas, les anticorps ne seront détectables ni avant ni après traitement.

PHASE TARDIVE DU CHANCRE

Ici, la sérologie est souvent positive avant traitement.

Après traitement, le VDRL/RPR peut se négativer endéans l'année, chez la majorité des patients, tandis que le TPHA restera positif.

PHASE SECONDAIRE, LATENTE ET TERTIAIRE

La sérologie restera positive après traitement. Les titres obtenus ne seront généralement pas indicatifs de l'efficacité du traitement par les antibiotiques. Toutefois, pour le VDRL/RPR, on observe généralement une diminution significative, d'au moins 4 fois le titre de départ, voire une négatation après 1 ou 2 ans si l'infection se trouvait en phase secondaire ou en phase de latence précoce. On estime à 40% le pourcentage de négatation du VDRL/RPR au cours de la première année, et à 75% au cours de la deuxième année après un traitement spécifique. On peut aussi observer une négatation spontanée sans traitement.

Dans les autres cas, la sérologie VDRL/RPR restera positive toute la vie.

VRAIE ET FAUSSE POSITIVITE DU VDRL DANS D'AUTRES PATHOLOGIES

Le VDRL peut se positiver dans certaines tréponématoses voisines de la syphilis telles que le pian, le pinta et le bégel. Il s'agit de vrais positifs. Il est utile de reconnaître les antécédents de telles maladies chez les ressortissants d'Afrique noire ou d'Amérique du Sud par la présence d'anciennes lésions cicatricielles plus ou moins typiques : nodules en placard, gommés sous-cutanées indolores au niveau des membres inférieurs par exemple. Un certain nombre d'états pathologiques peuvent être responsables de fausses positivités. Certains sont transitoires, liés à des infections bactériennes ou virales aiguës ou parasitaires, entraînant un accroissement de la destruction des noyaux cellulaires, à des vaccinations, à une immunothérapie ou à la grossesse.

Les fausses réactions positives chroniques persistent au-delà de 9 mois, généralement plusieurs années ou parfois la vie entière. Elles peuvent être observées au cours des maladies auto-immunes ou d'autres affections chroniques dont elles sont révélatrices : lupus érythémateux, maladies de collagène par exemple. Le VDRL peut aussi se révéler positif chez des patients HIV exempts d'infection syphilitique.

Dr. Victor Luyasu, médecin biologiste, parasitologue,
Clinique St-Pierre, Ottignies - Louvain-la Neuve



Figure 6.2.1. Syphilis primaire



Figure 6.2.2. Syphilis secondaire



Figure 6.2.3. Syphilis secondaire

Remerciements

Nous remercions le Docteur Bernard Bouffioux, dermatologue, Clinique St-Pierre d'Ottignies, pour nous avoir cédé ces images de lésions syphilitiques.

REFERENCES

1. PARIS-HAMELIN A, VAISMAN A, DEREGNAUCOURT J. - Actualités 1986 sur la syphilis. *Le Biologiste*. 1986 ; 163 :135-47.
2. PRADINAUD R, NGUEMBY-MBINA C, NDIAYE. - Les traitements antibactériens de première intention dans les maladies sexuellement transmissibles. *Méd Mal Infect*. 1986 ; 2:124-8.
3. BAKER-ZANDER S, RODDY R, HANDSFIELD P, LUKEHART S. - IgG and IgM antibody reactivity to antigens of *Treponema pallidum* after treatment of syphilis. *Sexually Transmitted Diseases* 1986; 4:214-20.
4. *Manual of Laboratory immunology*, Lea and Febiger, second edition, Philadelphia - London 1991, p. 199-201
5. YOUNG H, MOYES A, McMILLAN A, PATTERSON J. - Enzyme immunoassay for anti-treponemal IgG: screening or confirmatory test? *J Clin Pathol*. 1992; 45:37-41.
6. YOUNG H. - Syphilis : new diagnostic directions. *International J STD AIDS*. 1992; 3:391-413.
7. BIANCHI A, SEDNAOUI P, POITEVIN M, ALONSO JM. - Diagnostic biologique de la syphilis et des tréponématoses endémiques. Une nécessaire actualisation des connaissances. *Méd Mal Infect*. 1995 ; 25:1107-14.
8. YOUNG H. - Syphilis serology. *Dermatol Clin*. 1998; 4:691-8.
9. EBEL A, BACHELART L, ALONSO JM. - Evaluation of a new competitive immunoassay (BioElisa Syphilis) for screening *Treponema pallidum* antibodies at various stages of syphilis. *J Clin Microbiol*. 1998; 2:358-61.
10. WICHER K, HOROWITZ HW, WICHER V. - Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. *Microbes Infect*. 1999; 12:1035-49.
11. SINGH AE, ROMANOWSKI B. - Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev*. 1999; 2:187-209.
12. SCHMIDT BL, EDJLALIPOUR M, LUGER A. - Comparative evaluation of nine different enzyme-linked immunosorbent assays for determination of antibodies against *Treponema pallidum* in patients with primary syphilis. *J Clin Microbiol*. 2000; 3:1279-82.
13. SAMBRI V, MARANGONI A, EYER C, et al. - Western Immunoblotting with five *Treponema pallidum* recombinant antigens for serological diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001; 3:534-9.
14. HAGEDORN HJ, KRAMINER-HAGEDORN A, DE BOSSCHERE K et al.- Evaluation of INNO-LIA assay as a confirmatory test for syphilis. *J Clin Microbiol*. 2002; 3:973-8.
15. HOOK EW, PEELING RW. - Syphilis control, a continuing challenge. *N Eng J M*. 2004; 2:122-4
16. GEUSAU A, KITTLER H, HEIN U, DANGL-ERLACHE, STINGL G, TSCHACHLER E. B - Biological false-positive tests comprise a high proportion of Venereal Disease Research Laboratory reactions in an analysis of 300,000 sera. *Int J STD AIDS*. 2005; 11:722-6.

- 17 LAFOND RE, LUKEHART SA. - Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 1:29-49.
- 18 MATTHYSSEN P, VAN WIJNGAERDEN E, LAGROU K, PEETERMANS W. - Syphilis. *Tijdschr. Voor Geneeskunde* 2006; 5:339-47

6.3 Borréliose

6.3.1. Information concernant l'échantillon envoyé

L'échantillon S/6634 a été envoyé pour détermination des anticorps anti-Borrelia d'un point de vue didactique. L'échantillon était négatif pour les anticorps anti-Borrelia (prouvé par des membres du comité d'experts à l'aide des techniques de blot), mais contenait des anticorps anti-syphilis. Le but de cet EEQ était de déterminer s'il existe des réactions croisées avec ces anticorps anti-syphilis dans l'utilisation de certaines trousse. Le but était également de familiariser les laboratoires avec l'existence de ces réactions croisées.

6.3.2. Les participants

142 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 219 tests.

79 laboratoires ont effectué 1 test, 52 laboratoires ont effectué 2 tests, 9 laboratoires ont effectué 3 tests, un laboratoire a effectué 4 tests et un laboratoire a effectué 5 tests.

Les tests effectués peuvent être groupés comme suit :

- anticorps totaux (une trousse qui détermine l'ensemble des anticorps) :
 - détermination «générale» des anticorps polyvalents
 - détermination des anticorps spécifiques à la protéine C6
- IgG:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA,...
 - déterminations «blot» (immunoblot, dot blot, western blot)
- IgM:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA,...
 - déterminations «blot» (immunoblot, dot blot, western blot)

(NB. Dans le traitement suivant les techniques ELISA, EIA, IFA, ELFA, ... ont été groupées sous le nom « non-blot » afin de faciliter la lecture).

La distribution de ces tests est comme suit :

- ac tot: 88
 - «générale»: 82
 - anti-C6: 6
- IgG: 66
 - «non-blot»: 58
 - blot: 8
- IgM: 65
 - «non-blot»: 58
 - blot: 7

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau 6.3.1.

Tableau 6.3.1. Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées (échantillon S/6634).

Nombre de tests	Type de trousse	Type de technique	S/6634
1 test	Ac. tot.	générale anti-C6	74 5
2 tests	IgG et IgM	nonblot - nonblot blot - blot	51 1
3 tests	Ac. tot. et IgG et IgM	générale - nonblot - nonblot générale - blot - blot	3 4
	IgG et IgG et IgM	antiC6 - nonblot - nonblot blot - nonblot - nonblot	1 1
4 tests	IgG et IgG et IgM et IgM	nonblot - blot - nonblot - blot	1
5 tests	Ac. tot. et IgG et IgG et IgM et IgM	générale - nonblot - blot - nonblot - blot	1

6.3.3. Réactifs utilisés

6.3.3.1. Pour les anticorps totaux (toutes méthodes confondues)

Tableau 6.3.2.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps totaux anti-Borrelia.

Fabricant	Trousse	S/6634
bioMérieux	VIDAS Lyme	78
	Lyme Spot IF	1
Immunitics (distributeur Lucron)	C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA	6
Virion/Serion (distributeur Labconsult)	Rapid Scope Borrelia IgG/IgM	3
Total		88

6.3.3.2. Pour les IgG (toutes méthodes confondues)

Un certain nombre de trousse mentionnent le nom IgG+IgM; néanmoins elles permettent de déterminer IgG et IgM séparément. Ces trousse sont donc reprises sous les chapitres IgG et IgM

Tableau 6.3.3.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgG anti-Borrelia

Fabricant	Trousse	S/6634
Abbott	IMx Lyme IgG	1
Alphadia	Vir Elisa anti-Borrelia IgG/IgM	1
Dade Behring	Enzygnost Borreliosis	11
Dako	IDEIA Borrelia burgdorferi, IgG	2
Diasorin	Liaison Borrelia IgG	23
	Borrelia burgdorferi IgG Elisa	2
Euroimmun (distributeur Biognost)	Borrelia burgdorferi IgG Elisa	15
	Euroline WB IgG	6
Genbio (BMD)	Dot Blot Borrelia IgG	1
Meridian	EU Lyme IgG Western Blot	1
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomWell Borrelia IgG	2
Virion/Serion (distributeur Labconsult)	Borrelia burgdorferi IgG Elisa	1
Total		66

6.3.3.3. Pour les IgM (our les IgM (toutes méthodes confondue)

Tableau 6.3.4.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-Borrelia

Fabricant	Trousse	S/6634
Abbott	IMx Lyme IgM	1
Alphadia	Vir Elisa anti-Borrelia IgG/IgM	1
Dade Behring	Enzygnost Borreliosis	11
Dako	IDEIA Borrelia burgdorferi, IgM	2
Diasorin	Liaison Borrelia IgM	23
	Borrelia burgdorferi IgM Elisa	2
Euroimmun (distributeur Biognost)	Borrelia burgdorferi IgM Elisa	15
	Western Blot IgM	6
Genbio (BMD)	Dot Blot Borrelia IgM	1
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomWell Borrelia IgM	2
Virion/Serion (distributeur Labconsult)	Borrelia burgdorferi IgM Elisa	1
Total		65

6.3.4. Résultats

6.3.4.1. Anticorps totaux

6.3.4.1.1. Général

Un aperçu des résultats est présenté dans le tableau 6.3.5. Il est à noter que, à deux laboratoires près (qui n'ont répondu que le résultat quantitatif mais n'ont pas fourni d'interprétation qualitative), tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif ou borderline. Etant donné que les résultats des tests de dépistage individuels (IgG et/ou IgM) et surtout des tests de blot (aussi bien ceux effectués préalablement par certains des experts et ceux effectués lors de l'enquête) ont montré que l'échantillon était négatif pour les anticorps anti-Borrelia, nous pouvons conclure qu'il s'agit des réactions croisées avec les anticorps anti-syphilis; les compagnies concernées bioMérieux et Virion/Serion ont été contactées à ce sujet.

Pour la trousse Rapid Scope Borrelia burgdorferi IgG/IgM, la compagnie Virion/Serion a fourni la réponse suivante:

"With other methods the sample was negative. However we declare the Rapid Test as screening method and therefore it is not such astonishing that the sample is positive with this test. We really do not want to miss a patient and cross reactions with Treponema pallidum are well known for Borrelia diagnostic."

Dans le futur la firme mentionnera explicitement la réaction croisée avec le tréponème pâle dans le mode d'emploi.

Pour la trousse Vidas Lyme IgG and IgM, la compagnie bioMérieux a répondu que dans le mode d'emploi ils conseillent les utilisateurs de contrôler chaque résultat positif par une recherche de la syphilis :

« Les résultats positifs obtenus avec le test VIDAS Lyme IgG and IgM doivent être considérés avec la plus grande prudence. Des cas de réactions croisées ont été fréquemment rencontrés dans la sérologie des infections à *B. burgdoferi* principalement chez les patients syphilitiques. Les symptômes cliniques, les données épidémiologiques, les résultats d'autres tests (RPR, VDRL, TPHA entre autres) doivent être pris en considération au moment de l'interprétation des résultats du test VIDAS Lyme IgG and IgM».

Tableau 6.3.5. Les résultats de la détermination des anticorps totaux « généraux » anti-Borrelia (S/6634)

Résultat	Nombre de labos
Positif	41
Borderline	39
Pas d'interprétation	2
Total	82

Pour la trousse la plus utilisée (VIDAS Lyme) nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont présentés dans le tableau 6.3.6.

Tableau 6.3.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps totaux (généraux) pour l'échantillon S/6634 pour la trousse la plus utilisée (VIDAS Lyme).

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum
VIDAS Lyme (indice)	76	1.02	0.75	1.52

6.3.4.1.2. Anti-C6

5 des 6 laboratoires ayant effectué ce test ont obtenu un résultat négatif. Un laboratoire a obtenu un résultat positif.

6.3.4.2. IgG

6.3.4.2.1. Détermination «non-blot»

Un aperçu des résultats est présenté dans le tableau 6.3.7.

Tableau 6.3.7. Les résultats de la détermination des anticorps «nonblot» Borrelia IgG (S/6634)

Résultat	Nombre de labos
Négatif	55
Positif	2
Borderline	1
Total	58

L'évaluation quantitative n'a pas été réalisée étant donné l'intérêt limité pour les résultats négatifs.

6.3.4.2.2. Détermination «blot»

7 des 8 laboratoires ayant effectué ce test ont obtenu un résultat négatif. Un laboratoire a obtenu un résultat positif.

6.3.4.3. IgM

6.3.4.3.1. Détermination «non-blot»

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif. L'évaluation quantitative n'a pas été réalisée étant donné l'intérêt limité pour les résultats négatifs.

6.3.4.3.2. Détermination «blot»

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

6.3.4.4. Appréciation des résultats en fonction de tests effectués

Les tableaux 6.3.8. jusque 6.3.12. donnent un aperçu des résultats en fonction de tests effectués par les laboratoires. (Explication des abréviations : « gén » : anticorps généraux (polyvalents); « aC6 » : anticorps anti-C6 ; « b » : blot ; « nb » : nonblot).

Tableau 6.3.8. Résultats pour l'échantillon S/6634 pour les laboratoires ayant effectués 1 test

Technique	Résultat			
	Positif	Borderline	Négatif	Pas d'inter.
Ac. tot. (gén)	36	36	-	2
Ac. tot. (aC6)	1	-	4	-

Tableau 6.3.9. Résultats pour l'échantillon S/6634 pour les laboratoires ayant effectués 2 tests.

Technique	Résultat		
	Pos/nég	Border/nég.	Nég/nég.
IgG (nb) - IgM (nb)	2	1	48
IgG (b) - IgM (b)	-	-	1

Tableau 6.3.10. Résultats pour l'échantillon S/6634 pour les laboratoires ayant effectués 3 tests.

Technique	Résultat			
	pos/pos/nég	pos/nég/nég	border/nég/nég	nég/nég/nég
Ac. tot. (alg) - IgG (nb) - IgM (nb)	-	1	2	-
Ac. tot. (alg) - IgG (b) - IgM (b)	1	2	1	-
Ac. tot. (aC6) - IgG (nb) - IgM (nb)	-	-	-	1
IgG (b) - IgG (nb) - IgM (nb)	-	-	-	1

Tableau 6.3.11. Résultats pour l'échantillon S/6634 pour les laboratoires ayant effectués 4 tests.

Technique	Résultat
	Neg/neg/neg/neg
IgG (nb) - IgG (b) - IgM (nb) - IgM (b)	1

Tableau 6.3.12. Résultats pour l'échantillon S/6634 pour les laboratoires ayant effectués 5 tests.

Technique	Résultat
	Pos/neg/neg/neg/neg
Tot.As. (alg) - IgG (nb) - IgG (b) - IgM (nb) - IgM (b)	1

6.3.4.5. Interprétation

6.3.4.5.1. Interprétation proprement dite

Les interprétations ont été influencées par les résultats des tests effectués. Les laboratoires ayant obtenu les résultats (corrects) négatifs avec un ou plusieurs tests, ont répondu « Absence d'anticorps ». La majorité des laboratoires ayant obtenu un résultat positif (en majorité les laboratoires ayant effectué des tests d'anticorps totaux), ont répondu « Présence d'anticorps ». Néanmoins, neuf des laboratoires ayant obtenu un résultat positif pour le test d'anticorps totaux ont répondu « Absence d'anticorps » ; dans la remarque la plupart d'entre eux ont conseillé d'effectuer un contrôle (par Western Blot ou sur un échantillon de suivi) ou ont mentionné que la positivité pouvait être expliquée par la présence d'anticorps anti-syphilis. Dix laboratoires n'ont pas voulu s'exprimer sur la présence ou absence des anticorps mais ont mentionné dans la remarque la nécessité d'effectuer un contrôle (cfr. chapitre 6.3.4.5.4.). D'autres laboratoires ont répondu « douteux » et ont également mentionné la nécessité d'effectuer un contrôle.

Tableaul 6.3.13. Interprétation pour l'échantillon S/6634.

Interprétation	Nombre de laboratoires
Absence d'anticorps	73
Présence d'anticorps	53
Pas de conclusion; renvoi à la remarque	10
Résultat douteux	5
Pas de réponse	1
Total	142

6.3.4.5.2. Remarques pour « Absence »

Une série de remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps » vous est présentée dans le tableau 6.3.14.

Tableau 6.3.14. Remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps » pour l'échantillon S/6634.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Western Blot n'est pas nécessaire	32
Pas de remarque	23
Le laboratoire a déjà effectué un Western Blot	8
Le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé ¹	6
Réaction croisée avec la syphilis	2
Une confirmation par Western Blot est nécessaire	1
L'expérience dans le laboratoire de référence a montré que la trousse Vidas est assez sensible et que tous les échantillons douteux donnent des résultats négatifs dans le Western Blot. Un WB n'est donc plus effectué.	1
Total	73

¹ Un certain nombre de ces laboratoires ont mentionné que le prélèvement d'un échantillon de suivi dépend de la persistance des symptômes. L'intervalle varie entre 2 et 4 semaines.

6.3.4.5.3. Remarques pour « Présence »

Une série de remarques pour l'interprétation « Présence d'anticorps » vous est présentée dans le tableau 6.3.15.

Tableau 6.3.15. Remarques pour l'interprétation « Présence d'anticorps » pour l'échantillon S/6634.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Western Blot est nécessaire	31
Le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé ¹	5
Une confirmation par Western Blot n'est pas nécessaire	4
Une confirmation par Western Blot est nécessaire et Une réaction croisée avec la syphilis est possible	4
Pas de remarque	2
Une confirmation par Western Blot est nécessaire et Le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé	1
Une confirmation par Western Blot est nécessaire quoique la clinique ne laisse pas supposer une borréliose	1
Une réaction croisée avec la syphilis est possible	1
Une confirmation par détermination des anti-C6 est conseillée	1
Comparer avec la clinique	1
Confirmation du résultat dans la zone grise PEUT être intéressante	1
Dépistage de borréliose faiblement positif chez un patient avec une image clinique atypique et pas d'anamnèse de morsure de tique. Une réaction faussement positive doit d'abord être exclue (entre autre interférence par l'EBV ou la syphilis). Une valeur résiduelle après une infection de <i>Borrelia</i> dans le passé est également une possibilité. Si, après une évaluation diagnostique approfondie avec l'exclusion d'autres infections, la supposition tentative de la borréliose persiste, des tests supplémentaires tels qu l'Elisa C6 et/ou l'immunoblot peuvent être effectués sur cet échantillon ou sur un échantillon de suivi, après concertation avec le biologiste.	1
Total	53

¹ Un certain nombre de ces laboratoires ont mentionné que le prélèvement d'un échantillon de suivi dépend de la persistance des symptômes. L'intervalle varie entre 2 et 4 semaines.

6.3.4.5.4. Remarques par les laboratoires ne fournissant pas de conclusion

Une série de remarques formulées par les laboratoires qui n'ont pas donné de conclusion vous est présentée dans le tableau 6.3.16.

Tableau 6.3.16. Remarques par les laboratoires ne fournissant pas de conclusion pour l'échantillon S/6634.

Remarque	Nombre de laboratoires
Le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé	3
Une confirmation par Western Blot est nécessaire	2
Une confirmation par Western Blot est nécessaire et Une réaction croisée avec la syphilis est possible	2
Envoi à un centre de référence	2
Une confirmation par Western Blot est nécessaire et Le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé	1
Total	10

6.3.4.5.5. Remarque en cas de « résultat douteux »

Un aperçu des remarques pour l'interprétation « Résultat douteux » est présenté dans le tableau 6.3.17

Tableau 6.3.17. Remarques pour l'interprétation « Résultat douteux » pour l'échantillon S/6634.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Western Blot est nécessaire	2
Une confirmation par Western Blot est nécessaire et Le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé	2
Envoi à un centre de référence et Le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé	1
Total	5

6.3.4. Discussion des résultats de l'enquête

Devant la complexité du tableau clinique de la maladie de Lyme, le clinicien a parfois tendance à considérer une sérologie positive comme un critère de choix pour le diagnostic clinique, voire un élément décisionnel important pour l'instauration d'un traitement antibiotique. Il est donc essentiel que le résultat du laboratoire soit au préalable validé afin qu'il offre toutes les garanties de fiabilité dans l'utilisation « clinique » au sein d'un arbre décisionnel.

Cette validation se fait sous la forme d'un processus de confirmation, comme le précisent le CDC américain et l'EUCALB européen.

En effet, tout résultat positif obtenu avec une technique de première ligne doit être confirmé par une technique de Western blot ou d'immunoblot, présentant un haut degré de spécificité.

Dans le cadre du contrôle de qualité Borréliose qui nous préoccupe, les anticorps IgG et IgM ont été trouvés négatifs par la majorité des utilisateurs. L'ensemble des techniques est surtout représenté par des méthodes de 3^e génération comportant dans leur panel antigénique un antigène recombinant supplémentaire dénommé VLsE.

Autre protéine recombinante utilisée seule comme antigène du kit : l'IR6 ou C6 dont les résultats ont été trouvés négatifs par 5 utilisateurs sur 6.

En revanche, les techniques basées sur le principe du screening polyvalent se sont révélées positives. Conséquence probable d'une réaction croisée avec les anticorps anti-*Treponema pallidum* spécifiques présents dans le sérum. D'où la nécessité pour leurs utilisateurs de se conformer aux recommandations internationales.

Pour d'autres commentaires, veuillez consulter le rapport Borréliose 2005/1 sur le site http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_2005.htm

Dr. Victor Luyasu, Clinique St-Pierre, Ottignies - Louvain-la-neuve

6.4 Toxoplasme

6.4.1. Les participants

178 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 374 tests.

166 laboratoires ont effectué 2 tests, 7 laboratoires ont effectué 3 tests, 4 ont effectué 4 tests et 1 laboratoire a effectué 5 tests.

- 177 laboratoires ont effectué au moins une détermination des IgG; 172 labos ont effectué une détermination, 5 laboratoires ont effectué 2 déterminations; au total 182 déterminations des IgG ont donc été effectuées.
- 178 laboratoires ont effectué au moins une détermination des IgM; 170 labos ont effectué une détermination, 8 laboratoires ont effectué 2 déterminations; au total 186 déterminations des IgM ont donc été effectuées.
- 5 laboratoires ont effectué une détermination des IgA.
- 1 laboratoire a effectué le test de la lyse de Toxoplasma.

Tableau 6.4.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Types de tests	Nombre de labos
2 tests	IgG + IgM	165
	test de la lyse de Toxoplasma + IgM	1
3 tests	IgG + IgM + IgM	3
	IgA + IgG + IgM	4
4 tests	IgG + IgG + IgM + IgM	4
5 tests	IgA + IgG + IgG + IgM + IgM	1
Total		178

6.4.2. Réactifs utilisés

6.4.2.1 IgG

Tableau 6.4.2 Réactifs utilisés pour la détermination des IgG anti-Toxoplasme.

Fabricant	Trousse	S/4173
Abbott	AxSYM Toxo IgG	69
	IMx Toxo IgG	1
Bayer	Advia Centaur IgG	13
Beckman (distributeur Analis)	Access Toxo IgG	28
	LXi Toxo IgG	1
bioMérieux	VIDAS Toxo IgG II	34
	Toxo-Spot IF	3
Biorad	Platelia Toxo IgG	1
Dade Behring	Enzygnost Toxoplasmosis IgG	1
Diamedix	Toxoplasma IgG	1
DiaSorin	Liaison Toxo IgG	19
	ETI-TOXOK-G Plus	3
DPC	Immulite Toxoplasma IgG	6
Mikrogen	Recomwell Toxo IgG	1
Non précisé	Non précisé	1
Total		182

6.4.2.2 IgM

Tableau 6.4.3 Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-Toxoplasme.

Fabricant	Trousse	S/4173
Abbott	AxSYM Toxo IgM	68
	IMx Toxo IgM	1
Bayer	Advia Centaur IgM	13
Beckman (distributeur Analis)	Access Toxo IgM	27
	LXi Toxo IgM	1
bioMérieux	VIDAS Toxo IgM	38
	Toxo-Spot IF ¹	3
Biorad	Platelia Toxo IgM	1
Biotest	Biotest/Meddens Anti-Toxoplasma IgM ELISA	1
	Enzygnost Toxoplasmosis IgM	1
Dade Behring	Enzygnost Toxoplasmosis IgM	1
Diamedix	Toxoplasma IgM	1
DiaSorin	Liaison Toxo IgM	19
	ETI-TOXOK-M Reverse Plus	5
DPC	Immulite Toxoplasma IgM	5
Mikrogen	Recomwell Toxo IgM	1
Non précisé	Non précisé	1
Total		186

¹ Il est à mentionner que la compagnie bioMérieux n'a validé la trousse Toxo-Spot IF que pour le dosage des immunoglobulines totaux et des IgG et ne l'a pas validé pour les IgM.

6.4.2.3 IgA

Tableau 6.4.4 Réactifs utilisés pour la détermination des IgA anti-Toxoplasme.

Fabricant	Trousse	S/4173
Biorad	Platelia Toxo IgA	2
DiaSorin	ETI-TOXOK-A Reverse Plus	2
Mikrogen	Recomline Toxo IgA	1
Total		5

6.4.2.4 Pour le test de la lyse de Toxoplasma

Le laboratoire ayant effectué ce test a utilisé une méthode maison.

6.4.3. Résultats

6.4.3.1 IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour toutes les déterminations des IgG qu'ils ont effectué.

L'évaluation quantitative n'a pas été réalisée étant donné l'intérêt limité pour les résultats négatifs.

6.4.3.2 IgM

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour toutes les déterminations des IgM qu'ils ont effectué.

L'évaluation quantitative n'a pas été réalisée étant donné l'intérêt limité pour les résultats négatifs.

6.4.3.3 IgA

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

6.4.3.4 Le test de la lyse de toxoplasma

Le laboratoire ayant effectué ce test, l'a trouvé négatif.

6.4.3.5 Interprétation

Tous les laboratoires ont donné l'interprétation « Sérologie négative pour le Toxoplasme ».

Deux laboratoires ont néanmoins mentionné dans une remarque qu'ils conseilleraient d'effectuer quelques

tests supplémentaires: tests d'hématologie, enzymes hépatiques, sérologie d'EBV et de CMV; un des deux laboratoires a également proposé d'effectuer un nouveau prélèvement après 2 semaines.

6.4.4. Discussion des résultats de l'enquête

L'information clinique suivante a été fourni: « Une jeune femme se plaint de fatigue, des ganglions sont présents.»

Discussion

L'échantillon envoyé était négatif pour les IgG et IgM anti-Toxoplasme. Le but était de contrôler si des interférences dans les essais des IgG et/ou IgM pouvaient être démontrées. On s'attend plus à des réactions faussement positives dans les essais des IgM que dans ceux des IgG.

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, aussi bien pour les IgG que pour les IgM.

Pour l'interprétation, tous les laboratoires étaient d'accord qu'il s'agissait d'une sérologie négative pour la toxoplasmose.

Anne Naessens, AZ VUB, Bruxelles