

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 02/2007

Microbiologie

Pseudomonas aeruginosa, métallo- β -lactamase (VIM-1)
Pseudomonas aeruginosa, métallo- β -lactamase (SPM-1)
Salmonella diarizonae
Candida krusei
Candida albicans

Parasitologie

Entamoeba coli
Hymenolepis nana

Sérologie

Hépatite A
Hépatite B
Syphilis

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/02/07/Micro./Sero./Para. 67

COMITE DES EXPERTS EN MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

ISP (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. 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
Pharm. 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@uzbrussel.be
Dr. PIERARD Denis : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : denis.pierard@uzbrussel.be
Dr. REYNDERS Marijke : 02/535.45.35 – FAX : 02/535.46.56
: e-mail : marijke_reynders@stpierre-bru.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@skynet.be

I. REMARQUES GENERALES

Pour la 2^e enquête du cycle 2007 (enquête 2007/2), le matériel suivant a été expédié le 23 avril 2007

- 1.1. Un échantillon clinique et 3 échantillons lyophilisés pour identification.
Pour 2 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 la syphilis, de l'hépatite A et de la sérologie de l'hépatite B.

NOMBRE DES PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

- | | | | |
|----|--------------------------------------------|---|-----|
| 1. | Pour les identifications et antibiogrammes | : | 184 |
| 2. | Pour la parasitologie | : | 180 |
| 3. | Pour la sérologie | | |
| | Hépatite A | : | 175 |
| | Hépatite B | : | 183 |
| | Syphilis | : | 174 |

Nous remercions Marc Lontie pour les photographies de ce rapport global.

II. IDENTIFICATIONS

2.1. Culture M/7147 (*Salmonella diarizonae*)

La souche provenait d'un enfant âgé de 14 jours qui a présenté un épisode de diarrhée de quelques jours qui s'est résolu sous enterol® sans prise d'antibiotiques. L'anamnèse a révélé la présence de nombreux serpents dans la maison. Sur base d'entérites et autres symptomatologies à *S. diarizonae* observées chez les enfants il est conseillé d'écarter les reptiles des jeunes enfants et des personnes immunodéprimées.

(voir <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/00vol26/rm2603fb.html>)

Une enquête externe de la qualité a été menée sur cette culture afin de vérifier l'identification et la terminologie utilisée par les différents laboratoires pour les Salmonelles, comme lors des enquêtes 02/2000 (culture M/903), 02/2002 (culture M/3093), 01/2003 (culture M/4063) et 01/2004 (culture M/4814).

Le germe envoyé était une *Salmonella enterica*, sous-espèce *diarizonae* (IIIb) avec la formule antigénique suivante : 61:i:z₅₃

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

De manière générale, les laboratoires de routine identifient biochimiquement les salmonelles jusqu'au genre (voire espèce) et confirment le diagnostic par un test sérologique (généralement sérums omnivalents/polyvalents ou plus rarement sérums correspondant aux sérotypes les plus fréquents : O:4 (B) - O:6,7, et O6,8 (C1, et C2-C3) - O:9 (D1); environ 90% des souches d'origine humaine).

La présomption d'une *Salmonella* Typhi peut se faire par la recherche de l'antigène de surface Vi. *S. Typhi* et *S. Paratyphi A* possèdent aussi des caractères biochimiques particuliers :

le sérovar Typhi ne décarboxyle pas l'ornithine, ne pousse pas sur milieu au citrate de Simmons, est agazogène et ne produit que des traces de H₂S ; le sérovar Paratyphi A ne produit pas de H₂S, ne décarboxyle pas la lysine et ne pousse pas sur milieu au citrate de Simmons.

En 2006, le CNR Salmonella a identifié 19 *S. Typhi* et 16 *S. Paratyphi A*

La souche envoyée agglutinait avec les sérums omnivalents (Anti-Salmonella A - 67, Sifin et Dade Behring) et certains sérums polyvalents contenant le O61 (exemples : le OME de BioRad, le OMG du Statens Serum Institute mais pas le Omni-O de BioRad Groupes A à 60).

La détermination du sérovar ou sérotype sur base du schéma de Kauffmann-White revient alors au Centre National de Référence.

La confirmation de l'identification d'une *Salmonella* peut aussi être réalisée au moyen d'une réaction PCR spécifique. Selon la littérature scientifique, un grand panel de gènes, ainsi que d'amorces, peuvent être utilisés pour l'amplification spécifique pour la détection des *Salmonella*.

Selon Ziemer et Steadham¹, parmi 9 sets d'amorces testées sur 52 souches de *Salmonella*, 5 souches de genres proches et 45 bactéries intestinales, 3 sets d'amorces se sont révélés optimaux pour l'application de l'amplification spécifique de *Salmonella* dans des échantillons fécaux: sets d'amorces pour le gène de l'enterotoxine (*stn*), de l'ADNr 16S, et dans une moindre mesure pour l'opéron responsable du transport de l'histine (*his*). Des amorces pour le gène de virulence *hilA* et le gène d'invasion *invA* sont aussi souvent utilisées pour une confirmation d'identification. Toutefois, la réaction d'amplification sur *hilA* est négative pour *Salmonella bongori* et la réaction sur *invA* donne deux bandes avec *Salmonella enterica* subsp. II. Ces amorces donnent aussi des résultats moins spécifiques sur les 45 bactéries intestinales testées par Ziemer et Steadham.

Taxonomie des Salmonella

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

S. enterica qui se subdivise en 6 sous-espèces:

- 1) *S. enterica* sous espèce *enterica* (1504 sérovars) ou sous espèce I
- 2) *S. enterica* sous espèce *salamae* (502 sérovars) ou sous espèce II
- 3) *S. enterica* sous espèce *arizonae* (95 sérovars) ou sous espèce IIIa
- 4) *S. enterica* sous espèce *diarizonae* (333 sérovars) ou sous espèce IIIb
- 5) *S. enterica* sous espèce *houtenae* (72 sérovars) ou sous espèce IV
- 6) *S. enterica* sous espèce *indica* (13 sérovars) ou sous espèce VI

S. bongori (22 sérovars)

Nombre de sérovars officiellement publiés dans « Popoff M.Y. (2001). Formules antigéniques des sérovars. 8^{ème} éd. Institut Pasteur de Paris, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* »: +

"Popoff, M.Y. J. Bockemühl, L.L. Gheesling. 2003. Supplement 2001 (no. 45) to the Kauffmann-White scheme. Res. Microbiol. 154:173-174."

"Popoff, M.Y. J. Bockemühl, L.L. Gheesling. 2004. Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. Res. Microbiol. 155:568-570."

Ces sous-espèces peuvent être différenciées sur base de réactions biochimiques (Tableau 2.1). *S. enterica* sous espèce *diarizonae* peut être différencié de la sous espèce *arizonae* par la fermentation du galacturonate, ou la recherche de la γ -glutamyltransferase et de la β -glucuronidase.

Tableau 2.1 Caractères différentiels des espèces et sous-espèces de *Salmonella*

Espèce	<i>S. enterica</i>						<i>S. bongori</i>
	<i>enterica</i> I	<i>salamae</i> II	<i>arizonae</i> IIIa	<i>diarizonae</i> IIIb	<i>houtenae</i> IV	<i>indica</i> VI	V
Caractères							
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	d	+
Malonate	-	+	+	+	-	-	-
Gélatinase	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Culture avec KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+)-tartrate ^(a)	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonate	-	+	-	+	+	+	+
γ-glutamyltransferase	+(*)	+	-	+	+	+	+
β-glucuronidase	d	d	-	+	-	d	-
Mucate	+	+	+	- (70%)	-	+	+
Salicine	-	-	-	-	+	-	-
Lactose	-	-	- (75%)	+(75%)	-	d	-
Lyse par phage O1	+	+	-	+	-	+	d
Habitat	Animaux à sang chaud		Animaux à sang froid et environnement				

(a) = d-tartrate

(*) = Typhimurium d , Dublin -.

+ = 90% ou plus de réactions positives

- = 90% ou plus de réactions négatives

d = différentes réactions en fonction des différents sérovars

En plus de cette subdivision en espèces et en sous-espèces, 2541 sérotypes ont été officiellement décrits. Ceux-ci résultent des multiples combinaisons des antigènes somatiques O, de nature polysaccharidique, des antigènes flagellaires H, de nature protéique et, enfin, capsulaires (Vi). Les déterminants génétiques de ces facteurs sont suffisamment stables pour réaliser des enquêtes épidémiologiques fiables. Le type de classement en fonction des antigènes O et H porte le nom de schéma de Kauffmann-White.

Identification antigénique

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

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

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

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

ex.: la présence du facteur O:5 permet de diviser le sérovar Typhimurium

en Typhimurium = 1,4,[5],12:i:1,2

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

Les groupes O les premiers individualisés furent initialement désignés par les lettres de l'alphabet. Ayant utilisés toutes les lettres, il fut nécessaire de poursuivre par des chiffres (de 51 à 67). Il est actuellement recommandé l'usage des chiffres à l'usage des lettres qui sont encore provisoirement conservées entre parenthèses. Ex O:4 (B) ; O:18 (K) (Tableau 2.2).

Tableau 2.2 Désignation des groupes O

Alphabétique	Actuelle	Alphabétique	Actuelle	Alphabétique	Actuelle
A	2	G1-G2	13	Q	39
B	4	H	6,14	R	40
C ₁ -C ₄	6,7	I	16	S	41
C ₂ -C ₃	8	J	17	T	42
D ₁	9	K	18	U	43
D ₂	9,46	L	21	V	44
D ₃	9,46,27	M	28	W	45
E ₁ -E ₂ -E ₃	3,10	N	30	X	47
E ₄	1,3,19	O	35	Y	48
F	11	P	38	Z	50

En cas de nécessité des tests biochimiques complémentaires aux agglutinations sont effectués pour différencier les différentes sous-espèces (Voir Tableau 2.1).

Les sérotypes de salmonelles peuvent aussi être classés en fonction de l'espèce animale cible. Certains sont exclusivement adaptés à l'homme ; il s'agit de *Salmonella* Typhi, Paratyphi et Sendai, agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Toute une série de sérotypes peuvent être restreints à certaines espèces animales.

Citons : Choleraesuis, Typhisuis chez le porc, Abortusequi chez le cheval, Abortusovis chez le mouton, et Gallinarum (Pullorum), spécifiques de la volaille, ... Toutefois, la plupart des sérotypes de salmonelles peuvent traverser la barrière d'espèce. Ils sont présents chez beaucoup d'espèces animales, généralement à l'état latent ou provoquant une maladie subclinique, et peuvent atteindre l'homme, soit par voie alimentaire, ce qui est la voie la plus commune, soit par contacts directs ou indirects. Toute salmonelle, à de rares exceptions près, peut être potentiellement dangereuse pour l'homme (gastro-entérites chez les patients immunocompétents, possibilité d'infection systémique chez les humains au statut immunitaire diminué, voire méningite chez certains enfants en contact avec des reptiles²).

Les rongeurs et les insectes peuvent être une source de *Salmonella* dans un élevage, tout comme les animaux à sang-froid. Ces sont principalement les reptiles qui peuvent être porteurs asymptomatiques mais il faut aussi considérer les amphibiens³. Notons toutefois que certains sérotypes de la sous-espèce *enterica* peuvent être retrouvés chez des reptiles (Typhimurium, Pomona, Oranienburg, Tennessee, Teitelkebir, ...)⁴.

Résultats :

Culture M/7147 *Salmonella enterica*, sous-espèce *diarizonae* (IIIb) avec la formule antigénique suivante : 6:1:i:z₅₃

La terminologie *Salmonella choleraesuis* n'est plus usitée (cf chapitre taxonomie et Brenner *et al.* *Salmonella* nomenclature. J Clin Microbiol. 2000 Jul;38(7):2465-7, Tindall *et al.*, Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. Int. J. Syst. Evol. Microbio. 2005, 55 :521-524.). Choleraesuis est un sérotype à part entière (formule : 6,7:c:1,5 ; H₂S-) de *S. enterica* sous-espèce *enterica* ou sous espèce I.

L'orientation d'une souche sur base d'un test OPNG négatif exclut les sous-espèces *arizonae* et *diarizonae*. La connaissance d'un contact entre le patient et des animaux à sang froid devrait éviter cette exclusion. Chez la sous-espèce *diarizonae* un certain nombre de sérovars sont lactose +, comme dans certaines souches de la sous-espèce *enterica* isolées de poudre de lait.

Culture M/7148

<i>Salmonella arizonae</i>	51
Arizona	2
<i>Salmonella (di)arizonae</i>	1
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>arizonae</i>	48
<i>Salmonella enterica</i> ssp. III (<i>arizonae</i>)	1
<i>Salmonella enterica</i> ssp. IIIa (<i>arizonae</i>)	2
<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>arizonae</i>	1
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>diarizonae</i>	2
<i>Salmonella enterica</i>	1
<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp. <i>arizonae</i>	32
<i>Salmonella choleraesuis</i>	1
<i>Salmonella cholerae</i> ssp. <i>arizonae</i>	1
<i>Salmonella</i> species	35
<i>Salmonella</i> species F-67	2
<i>Salmonella</i> species E	1
Flore intestinale normale	1
Pas de germes pathogènes	1
Envoyé à un laboratoire spécialisé	1

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

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

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

- Il faut également adresser la fiche de renseignements sur la souche et l'épidémiologie (peut être obtenue à l'adresse http://www.iph.fgov.be/bacterio/documents/Form_FR_SalmShig.pdf). Outre les données sur le patient, le tableau clinique et l'indication d'un retour de voyage à l'étranger (avec mention du ou des pays visités) sont importants.
Les caractères antigéniques déjà recherchés doivent être aussi mentionnés.
- En cas d'épidémie ou de toxi-infection alimentaire collective (TIAC), seulement quelques souches provenant de malades différents doivent être envoyées en indiquant qu'il s'agit d'une épidémie et en mentionnant le nombre total de cas recensés.
- Les cas de fièvres typhoïdes, paratyphoïdes et TIAC sont à déclaration obligatoire (médecins inspecteurs des Communautés).
- L'acheminement des cultures se fera en tube droit et vissé sur milieu de conservation et l'emballage sera conforme à la réglementation internationale.
- Des géloses nutritives, containers et étiquettes 'Port payé par le destinataire' sont disponibles sur demande.

Dr. J.-M. Collard (Direction du Centre, Chef de Section) et Dr. S. Bertrand (Centre National de Référence, Direction du Programme Epidémiologie Moléculaire)
ISP, Bruxelles

REFERENCES

1. Ziemer, C.J., Steadham, S.R. 2003. Evaluation of the specificity of *Salmonella* PCR primers using various intestinal bacterial species. *Let. Appl. Microbiol.* 37 :463-469
2. Wybo et al. 2004. *Salmonella enterica* subspecies *houtenae* serotype 44:z4,z23:- as a rare cause of meningitis. *Acta Clin. Belg.* 59-3:232-234.
3. Centers for Disease Control and Prevention. 2003. Reptile-associated salmonellosis - selected states. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 52:1206-1209.
4. Bauwens et al. 2006. Isolation of *Salmonella* from environmental samples collected in the reptile department of Antwerp Zoo using different selective methods. *J. Appl. Microbiol.* 101(2):284-289.
5. Bredart S, Wastelin M, Collard JM, Coppee M, Bodart E. Pet turtle and septicemia: what is the relationship? *Rev Med Liege.* 2007 Jul-Aug;62(7-8):496-7. French.

2.2. Culture M/7252 *Candida albicans* + *Candida krusei*

Comme dans la première enquête de 2006, cet échantillon d' « hémoculture » contenait 2 espèces de *Candida*. La réponse correcte était *Candida albicans* + *Candida krusei* ou *Candida albicans* + *Candida krusei/inconspicua*. La réponse *Candida albicans* + *Candida non-albicans* est également acceptable à condition que les laboratoires qui rapportent ce résultat envoient la levure non-*albicans* à un centre (de référence) pour l'identification au niveau de l'espèce. Une petite minorité des laboratoires (6,5%) n'a répondu qu'une espèce de *Candida* (soit *Candida albicans*, n=6; soit *Candida krusei*, n=5; soit *Candida species*, n=1). Ce résultat est nettement meilleur que les 20% des laboratoires qui en 2006 n'arrivaient pas à détecter un mélange d'espèces de *Candida*. Pour la discussion de la problématique de la reconnaissance des mélanges de levures ainsi que de l'utilité des milieux chromogènes, nous référons au rapport global 2006/1.

Candida krusei peut être identifiée sur base des caractéristiques phénotypiques suivantes. Les colonies ont un aspect macroscopique typique: elles sont plates, sèches et de couleur blanche à crème. Sous le microscope nous remarquons, entre autres en cas de croissance sur le cornmeal-tween 80 agar, la présence de pseudohyphes ou vrais hyphes et l'absence de chlamydospores. Les agrégats et les chaînes des blastoconidies allongés le long des pseudohyphes donnent un aspect typique (figure 1). Les caractéristiques supplémentaires de *Candida krusei* sont la possibilité de former un « film montant » sur une paroi en verre (figure 2), la fermentation de glucose et l'assimilation de N-acetylglucosamine. Il existe cependant des souches de *Candida krusei* qui ne produisent pas d'hyphes ou pseudohyphes et n'assimilent pas le N-acetylglucosamine et qui n'ont donc pas le phénotype caractéristique. En pratique la distinction entre *Candida krusei* et *Candida inconspicua*, qui lui ressemble très fort phénotypiquement, peut poser des problèmes, comme le montre cette enquête. Les colonies de *Candida inconspicua* sont typiquement molles et lisses. Les blastoconidies sont petites et ovales. Cette levure ne produit pas d'hyphes sur le cornmeal-tween 80 agar et ne sait pas fermenter le glucose ou assimiler le N-acetylglucosamine. Les techniques moléculaires sont utilisées de plus en plus souvent pour les levures cliniquement significatives qui ne peuvent être identifiées à l'aide des galeries commerciales.

Candida krusei est une levure qui est intrinsèquement résistante au fluconazol, tandis que cet antifongique est le premier choix dans le traitement des infections causées par *Candida albicans*. L'identification de ce mélange comme *Candida albicans* aboutira en pratique à un choix de thérapie fautive. Nous voulons donc accentuer une fois de plus l'importance d'une identification correcte de l'espèce des levures isolées à partir d'un site normalement stérile.

K. Lagrou, UZ, Leuven

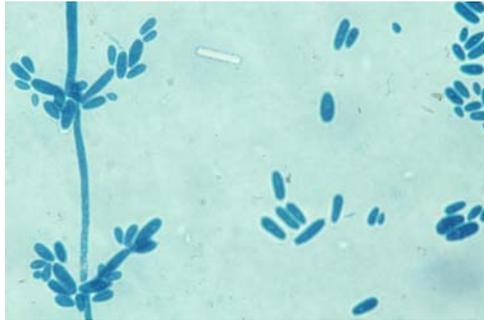


Figure 1. Aspect microscopique de *Candida krusei* en cas de croissance sur cornmeal-tween 80 agar.



Figure 2. Croissance de *Candida krusei* sous forme de « film montant » sur la paroi en verre d'un tube de bouillon.

2.3. Cultures M/7295 et M/7298 *Pseudomonas aeruginosa*

La souche **M/7295** était une souche de *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistante et résistante à tous les antibiotiques incluant les carbapénèmes à l'exception de la colistine. Cette souche produisait une carbapénémase de type métallo- β -lactamase appartenant au type VIM-1 (Verona IMipenemase).

La souche **M/7298** était aussi une souche de *P. aeruginosa* multi-résistante qui produisait une métallo- β -lactamase de type SPM-1 (Sao Paulo Métallo- β -lactamase).

Les métallo- β -lactamases (MBL) sont des carbapénémases appartenant à la classe B de Ambler. Ces enzymes ont une activité catalytique forte sur les carbapénèmes (imipenem et méropénem) et elles hydrolysent l'ensemble des beta-lactamines à l'exception de l'aztréonam. La première enzyme de ce type (IMP-1, IMipénemase) fut rapportée pour la première fois au Japon vers la fin des années 1980. On connaît actuellement quatre groupes de carbapénémases acquises: IMP, VIM, SPM, et GIM. Les groupes IMP (18 variants) et VIM (13 variants) sont les deux plus importants et ont pour la plupart été identifiés chez *P. aeruginosa*.

Les quatre groupes de carbapénémases de type MBL sont peu reliés entre eux (20-30% d'identité entre eux au niveau de la structure des acides aminés) et sont également très différents des MBLs naturelles exprimées dans certaines espèces telles que *Stenotrophomonas maltophilia* et *Chryseobacterium* spp. L'activité de ces enzymes est liée à la présence d'un ou de deux ions zinc dans leur site actif (au lieu d'un résidu sérine pour les autres classes de β -lactamases). Les carbapénémases de type B sont inhibées par l'addition de chélateurs d'ions divalent tels l'EDTA mais elles sont insensibles aux inhibiteurs classiques des autres beta-lactamases (clavulanate, tazobactam).

Les gènes codant pour ces enzymes sont plasmidiques ou chromosomiques; situés dans des transposons et le plus souvent associés à des intégrons de classe 1. Les souches produisant des carbapénémases de type MBL sont très fréquemment résistantes à d'autres classes d'antibiotiques (en particulier aux aminosides et aux quinolones) car elles hébergent habituellement d'autres gènes de résistance le plus souvent co-localisés sur les mêmes intégrons. Ces souches présentent quasi toujours un haut niveau de résistance à l'imipénem et au méropénem (CMI > 256 μ g/ml; croissance contact contre le disque).

Cette particularité est importante à souligner car d'autres mécanismes de résistance non enzymatique aux carbapénèmes (impermeabilité membranaire par modification de la porine OprD2, surexpression des pompes à efflux MexAB-OprM) sont plus fréquemment observés chez *P. aeruginosa* et ceux-ci présentent habituellement des niveaux plus bas de résistance et/ou une dissociation de résistance entre l'imipénem et le méropénem (cf. Table 2.3.1).

Tableau 2.3.1 Schéma d'interprétation des phénotypes de résistance aux β -lactamines chez *P. aeruginosa*

Phénotype	TIC	TCC	PTZ	CAZ	FEP	AZT	IMP	MER
Type sauvage	S	S	S	S	S	S	S	S
Pénicillinase	R	I/R	I/R	S	I/S	S	S	S
Céphalosporinase	I/R	R	I/R	I/R	S/I/R	I/R	S	S
Efflux actif (MexAB-OprM)	I/R	I/R	S	S	I/S	I/R	S	I/S
Perte de la porine D2	S	S	S	S	S	S	I/R	S/I
BLSE	R	R	S/I	R	R	R	S	S
Carbapénèmase	R	R	I/R	R	R	S/I	R	R

S : sensibilité normale ; I : intermédiaire ; R : résistant ; les catégories S/I ou I/R traduisent la variabilité des phénotypiques selon les souches.

Depuis quelques années on observe une prévalence croissante des MBL dans le monde, surtout les types IMP et VIM (en particulier VIM-2 dans la plupart des pays du Sud de l'Europe : Italie, Grèce, France, Portugal). En Belgique la prévalence exacte des MBL n'est pas connue mais plusieurs cas d'épidémies intra- et inter-hospitalières avec des souches de type VIM-2 ont été rapportées depuis 2005 à Bruxelles et en région Wallonne (A. Deplano *et al.*, Eurosurveillance 2007). Compte tenu de la gravité de ces épidémies, de leur diffusion rapide et des moyens thérapeutiques limités vis-à-vis de ces souches, il est très important de les reconnaître rapidement et de prendre toutes les mesures d'hygiène nécessaires pour contrôler efficacement leur diffusion.

Les deux souches envoyées présentaient un profil de multi-résistance affectant l'ensemble des β -lactamines ainsi que les aminoglycosides et les fluoroquinolones (non testées dans cette évaluation) tout à fait typique d'un mécanisme de résistance acquise de type MBL. Une résistance de haut niveau était observée tant pour l'imipénem que pour le méropénem (CMI > 256 μ g/ml) et l'interprétation des résultats pour ces agents ne posait dès lors aucun problème.

Il est frappant de constater que seuls quelques participants ont souligné le caractère « MBL » de ces deux souches et/ou on suggéré l'envoi de ces souches pour confirmation de cette résistance dans un laboratoire spécialisé.

Un screening de détection de la production d'une MBL peut être facilement effectué à l'aide de tests phénotypiques recherchant la présence d'une synergie entre l'imipénem et l'EDTA. Plusieurs tests sont disponibles dans le commerce: le double E-Test® Imipénem /Imipénem EDTA (positif lorsque le ratio des CMI Imipénem vs Imipénem /EDTA est ≥ 8), ainsi que des disques combinés (imipénem vs imipénem /EDTA) commercialisés par la firme ROSCO® (positifs lorsque la différence de diamètre observée entre la combinaison imipénem /EDTA est ≥ 6 mm à celui observé pour l'imipénem seul. A noter qu'une synergie doit aussi être observée les deux disques étant posé sur la gélose à une distance de 15 mm bord à bord.

Globalement, les tests de screening proposés ont une excellente sensibilité pour détecter la présence de MBL chez *P. aeruginosa* en particulier (les β -lactamases de type VIM et IMP) mais ils manquent de spécificité (existence de résultats faussement positifs dans 20-30% des cas en moyenne).

Ces tests ne sont bien validés que pour la détection de MBL chez *P. aeruginosa* et pas chez les autres espèces bactériennes. Il ne doivent être effectués que sur des souches de *P. aeruginosa* multi-résistantes (β -lactamines, aminoglycosides et fluoroquinolones) et qui présentent un haut niveau de résistance à l'imipénem et au méropénem (CMI > 256 μ g/ml) car des pseudo- synergies sont parfois observées en cas de résistance par imperméabilité membranaire, l'EDTA ayant un effet déstabilisateur sur les LPS des parois bactériennes.

La confirmation de la présence d'une carbapénèmase de type MBL doit dans tous les cas être réalisée par des tests génotypiques basés sur la détection des gènes acquis des principales MBL (VIM, IMP, SPM, GIM) par PCR suivi de la détermination précise de leur séquence. Ces tests sont disponibles en Belgique dans plusieurs laboratoires universitaires.

Un autre point important à relever concerne plus particulièrement la souche M/7298 qui présentait une résistance « limite » vis-à-vis de l'association piperacilline-tazobactam (CMI 128/4 µg/ml). Cette souche a été rapportée en résultat brut comme sensible à cet antibiotique (CMI= 64 µg/ml) par environ un tiers des participants utilisateurs de la méthode d'antibiogramme VITEK2 ou VITEK2 compact tandis que les laboratoires utilisant les méthodes de diffusion en gélose (disque papier ou tablettes ROSCO®) ont très majoritairement catégorisé la souche comme résistante.

Plusieurs remarques doivent être faites par rapport à cette observation: le CLSI ne propose qu'un seuil de catégorisation pour distinguer les souches sensibles (CMI ≤ 64/4 µg/ml) des souches résistantes (CMI ≥ 128/4 µg/ml) et il n'existe pas de catégorie intermédiaire.

Comme le niveau de sensibilité naturelle des souches de *P. aeruginosa* aux antibiotiques (notamment aux beta-lactamines) est souvent proche des seuils limites fixés, des variations méthodologiques (taille de l'inoculum, durée d'incubation, culture en milieu solide Vs. milieu liquide) peuvent influencer le résultat final.

Plusieurs études comparatives récentes ont montré que les systèmes automatisés généraient une proportion relativement élevée de résultats faussement sensibles chez *P. aeruginosa* (erreurs très majeures: 20-30% vis-à-vis des uréido-pénicillines) (H. Sader *et al.* JCM 2006; S. Juretschko *et al.*, JCM 2007) ainsi qu'un nombre élevé d'erreurs mineures ou majeures (fausses résistances) vis-à-vis de la céfépime et de l'aztréonam variant de 8 à plus de 30% (Sader *et al.*, JCM 2006 ; V. Saegeman *et al.*, Acta Clin Belg 2004) par rapport aux méthodes de références (dilution en agar ou microdilution en milieu liquide).

Il semble actuellement bien établi qu'il existe un risque important d'erreurs de résultats d'antibiogramme de *P. aeruginosa* vis-à-vis des beta-lactamines dans leur ensemble et que les algorithmes interprétatifs des automates vis-à-vis de ces antibiotiques doivent faire l'objet d'une révision.

En conséquence, il est fortement recommandé de considérer avec la plus grande prudence les résultats d'antibiogramme des systèmes automatisés pour les beta-lactamines chez *P. aeruginosa* et de les confirmer par une autre méthode (diffusion des disques en gélose, CMI par E test).

En ce qui concerne la colistine (= polymyxine E), la majorité des laboratoires ont correctement répondu les deux souches envoyées comme sensibles. Le regain d'intérêt pour cet ancien antibiotique est justifié à cause de son efficacité clinique sur des souches de *P. aeruginosa* multi-résistantes. La colistine constitue une dernière ligne thérapeutique vis-à-vis des souches de *P. aeruginosa* productrices de MBL vis-à-vis desquelles aucune autre classe n'est habituellement active. L'étude de la sensibilité de la colistine au laboratoire peut se faire par détermination de CMI (soit par méthode microdilution (cf. les automates) ou par E-test®). La méthode par diffusion des disques n'est pas recommandée car la colistine et les polymyxines en général diffusent mal dans la gélose et les zones d'inhibition sont très dépendantes de l'inoculum. De plus, il existe plusieurs charges différentes selon les disques (papier vs Rosco) ou fabricants (10 µg ; 50 µg ; 150 µg ; 300 µg).

Selon le CLSI ce sont les disques papiers chargés à 10 µg qui doivent être utilisés (Sensible : zone d'inhibition ≥ 11 mm; Résistant: zone ≤ 10 mm). Pour le Comité Français

de l'Antibiogramme (CA-SFM) ; ce sont les disques chargés à 50 μg qui sont préconisés (Sensible ≥ 15 mm ; Résistant < 15 mm).

Les diamètres proposés ont surtout pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter de façon fiable toutes les résistances acquises.

En cas d'utilisation thérapeutique (traitement d'infections sévères par souches multi-résistantes) il est impératif de vérifier la sensibilité par détermination de la CMI (par microdilution ou par E-test). Les concentrations et diamètres critiques varient selon les pays:

Etats-Unis (CLSI) : Sensible CMI ≤ 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et résistant CMI ≥ 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$

France (CA-SFM) : Sensible CMI ≤ 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et résistant CMI > 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Y. Glupczynski, Cliniques Universitaires UCL de Mont-Godinne

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N = 184)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées

3.1. Culture M/7147 *Salmonella diarizonae* (selles)

<i>Salmonella arizonae</i>	51
Arizona	2
<i>Salmonella (di)arizonae</i>	1
<i>Salmonella enterica ssp. arizonae</i>	48
<i>Salmonella enterica ssp. III (arizonae)</i>	1
<i>Salmonella enterica ssp. IIIa (arizonae)</i>	2
<i>Salmonella enterica serovar arizonae</i>	1
<i>Salmonella enterica ssp. diarizonae</i>	2
<i>Salmonella enterica</i>	1
<i>Salmonella choleraesuis ssp. arizonae</i>	32
<i>Salmonella choleraesuis</i>	1
<i>Salmonella cholerae ssp. arizonae</i>	1
<i>Salmonella species</i>	35
<i>Salmonella species F-G7</i>	2
<i>Salmonella species E</i>	1
Flore intestinale normale	1
Pas de germes pathogènes	1
Envoyé à un laboratoire spécialisé	1

Cet échantillon a été envoyé dans un but didactique ; tous les résultats reprenant « *Salmonella* » peuvent être considérés comme acceptables. Pour l'identification correcte nous référons au commentaire.

3.2. Culture M/7252 *Candida albicans* + *Candida krusei* (hémoculture)

<i>Candida albicans</i> + <i>Candida krusei</i>	154 (83.7%)
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida krusei/inconspicua</i>	3 (1.6%)
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida inconspicua</i>	5 (2.7%)
<i>Candida albicans</i>	5
<i>Candida albicans</i> : 2 types avec profils différents	1
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida non-albicans</i> ¹	5 (2.7%)
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida species</i> ¹	1 (0.5%)
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida dubliniensis</i>	1
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida lipolytica</i>	1
<i>Candida krusei</i>	4
<i>Candida krusei</i> + <i>Candida dubliniensis</i>	1
<i>Candida species</i>	1
Envoyé à un labo spécialisé /Pas pratiqué au labo	2

¹La réponse « *Candida non-albicans* » est acceptée à condition que les laboratoires concernés envoient la souche à un centre de référence pour identification au niveau de l'espèce.

3.3. Culture M/7295 *Pseudomonas aeruginosa* (hémoculture)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	180 (97.8%)
<i>Pseudomonas aeruginosa 11</i>	1
<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	1
Envoyé à un labo spécialisé /Pas pratiqué au labo	2

Remarque: 7 laboratoires ont mentionné explicitement que *P. aeruginosa* contient un MBL

3.4. Culture M/7298 *Pseudomonas aeruginosa* (hémoculture)

<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	181 (98.4%)
<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i> non agglutinable</u>	1
Envoyé à un labo spécialisé /Pas pratiqué au labo	2

Remarque: 2 laboratoires ont mentionné explicitement que *P. aeruginosa* contient un MBL ; 1 laboratoire a mentionné qu'il ne contient pas de MBL.

IV. ANTIBIOGRAMME

Tous d'abord nous discutons les résultats de façon générale. Ensuite ces résultats sont analysés en fonction des méthodes utilisées.

L'antibiogramme type a été réalisé sur base des résultats des différents experts.

4.1. Culture M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*)

Nombre de participants = 182 (les deux laboratoires qui en routine ne traitent pas les hémocultures, n'ont évidemment pas effectué d'antibiogramme).

Sept laboratoires ont mentionné explicitement que la souche contenait une métallo- β -lactamase ; 1 de ces laboratoires a remarqué que le test de screening EDTA positif devrait être confirmé par biologie moléculaire.

Plusieurs laboratoires ont mentionné qu'en routine des souches avec une telle résistance seraient envoyées à un centre de référence.

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

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 ce n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter dans le tableau suivant le résultat le plus résistant, sauf si les laboratoires l'avaient indiqué autrement.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Ticarcilline	R	71	-	-	71	-
Pipéracilline-tazobactam	R	166	1	3	162	-
Ceftazidime	R	179	-	-	179	-
Céfépime	R	161	-	-	161	-
Aztréonam	I	126	14	72	39	1 ³
Méropénème	R	162	-	-	162	-
Imipénème ¹	R	10	-	-	10	-
Colistine	S	129	123	2	3	1 ⁴
Polymyxine ²	S	9	9	-	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'imipénème au lieu du méropénème.

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la polymyxine au lieu de la colistine.

³ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « I ») pour l'aztréonam, mais pas le résultat final.

⁴ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « S ») pour la colistine, mais pas le résultat final.

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 sur disque avec les disques en papier ou les disques Neosensitabs.

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 ce cas, mais de donner le diamètre du disque. Dans ce cas également ces résultats n'ont pas été pris en compte pour les calculs suivants.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ticarcilline	4 (5)	75	6	6 - 6	-	-	5
Pipéracilline-tazobactam	24 (28)	100+10	9.6	6 - 14	-	-	28
Ceftazidime ¹	27 (30)	30	6	6 - 10	-	-	30
Céfépime ²	23 (26)	30	6	6 - 10	-	-	26
Aztréonam	23 (25)	30	18	8 - 24	2	15	8
Méropénème ³	24 (27)	10	6	6 - 10	-	-	27
Imipénème	4 (5)	10	6	6 - 7	-	-	5
Colistine ⁴	(24)				24	-	-
	13	10	14.6	11 - 17	13	-	-
	9	50	17	16 - 23	9	-	-

¹ En outre 1 laboratoire a répondu < 6 mm.

² En outre 1 laboratoire a répondu < 6 mm.

³ En outre 1 laboratoire a répondu < 6 mm.

⁴ Deux types de disques avec charges différentes ont été utilisés; un certain nombre des laboratoires n'ont pas mentionné la charge des disques qu'ils ont utilisés.

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ticarcilline ¹	13 (17)	75	9	9 - 10	-	-	17	-
Pipéracilline-tazobactam ²	46 (50)	100+10	12	9 - 16	-	-	50	-
Ceftazidime ³	53 (59)	30	9	8 - 10	-	-	59	-
Céfépime	44 (48)	30	9	8 - 10	-	-	48	-
Aztréonam	56 (56)	30	21	16 - 27	11	24	20	1 ⁴
Méropénème ⁵	43 (47)	10	9	6 - 14	-	-	47	-
Imipénème ⁶	3 (4)	15	10	9 - 10	-	-	4	-
Colistine ⁷	(53)				50	1	2	-
	11	10	14	12 - 24	9	-	2	-
	40	150	23	19 - 29	39	1	-	-
Polymyxine	8 (8)	150	22.5	21 - 24	8	-	-	-

¹ En outre 1 laboratoire a répondu < 9 mm.

² En outre 1 laboratoire a répondu < 9 mm.

³ En outre 1 laboratoire a répondu < 9 mm. et un autre < 8 mm.

⁴ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « I ») pour l'aztréonam, mais pas le résultat final.

⁵ En outre 1 laboratoire a répondu < 8 mm.

⁶ En outre 1 laboratoire a répondu < 9 mm.

⁷ Deux types de disques avec charges différentes ont été utilisés; un certain nombre des laboratoires n'ont pas mentionné la charge des disques qu'ils ont utilisés.

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

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

	Nombre de résultats	CMI (mg/l)						Résultats			
		2	4	8	12	16	> 32	≥ 256	S	I	R
		-	-	-	-	-					
		4	8	12	16	32					
Pipéracilline-tazobactam	5							5	-	-	5
Ceftazidime	4							4	-	-	4
Céfépime	2						1	1	-	-	2
Aztréonam	4			1	2	1			1	2	1
Méropénème	5						4	1	-	-	5
Colistine	2	1	1						1	1	-

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

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus sur Vitek pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Vitek 2						Vitek 2 compact			
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Ticarcilline	-	-	28	≥ 128	23 (28)	-	-	8	≥ 128	8 (8)
Pipéracilline-tazobactam	1 ¹	2	54	≥ 128	50 (57)	1	1	18	≥ 128	14 (20)
Ceftazidime	-	-	56	≥ 64	52 (56)	-	-	20	≥ 64	17 (20)
Céfépime	-	-	56	≥ 64	51 (56)	-	-	20	≥ 64	17 (20)
Aztréonam	-	1	26	16	23 (27)	1	4	5	16	6 (10)
Méropénème	-	-	56	≥ 16	51 (56)	-	-	20	≥ 16	17 (20)
Colistine	26	-	1	2	17 (27)	8	-	-	2	8 (8)

¹ Un laboratoire n'a mentionné le résultat (« S ») obtenu avec le Vitek 2 que dans une remarque; comme interprétation finale pour la pipéracilline-tazobactam, ce laboratoire a retenu la réponse « R », obtenue avec la méthode de diffusion par disque.

Dans la plupart des cas la « valeur CMI 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 valeur CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pipéracilline-tazobactam, 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 64 mg/l sur Vitek 2 ; 3 laboratoires ont mentionné cette même CMI pour le Vitek 2 compact
- pour la céfépime, un laboratoire a retrouvé une CMI ≥ 64 sur Vitek 2
- pour l'aztréonam 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 32 mg/l sur Vitek 2 compact
- pour le méropénème, un laboratoire a mentionné une CMI ≥ 64 mg/l pour le Vitek 2
- pour la colistine sur Vitek 2, un laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.5 mg/l, 3 laboratoires une CMI de 1 mg/l et 1 laboratoire une CMI de 4 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 4.1.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ticarcilline	-	-	13
Pipéracilline-tazobactam	-	-	10
Ceftazidime	-	-	10
Céfépime	-	-	9
Méropénème	-	-	9
Colistine	11	-	-

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

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ticarcilline	-	-	1	>64	1 (1)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	8	>64/4	7 (8)
Ceftazidime	-	-	8	>16	7 (8)
Céfépime	-	-	7	>16	6 (7)
Aztréonam	1	4	3 ¹	²	(8)
Méropénème	-	-	8	>8	7 (8)
Colistine	6	-	-	1	5 (6)

¹ Un laboratoire a obtenu pour l'aztréonam un résultat « S » avec les disques Neosensitabs et un résultat « R » avec l'appareil Phoenix ; un contrôle avec l'Ettest a donné le résultat « I » ; la conclusion finale du laboratoire était que la souche était sensible

² Les 3 laboratoires ayant répondu « R », ont obtenu une CMI >16 mg/l ; 3 des 4 laboratoires ayant répondu « I », ont obtenu une CMI de 16 mg/l (le 4^e n'a pas fourni la CMI obtenue) ; le laboratoire ayant répondu « S », a obtenu une CMI de 8 mg/l.

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.8. et 4.1.9.

Nous avons constaté que ces appareils permettent de calculer la CMI à partir du diamètre ; pour l'EEQ certains laboratoires mentionnent la valeur CMI, la plupart ne mentionnent que le diamètre. Nous demandons aux laboratoires de traiter l'EEQ comme un échantillon de routine et donc de mentionner le « résultat quantitatif » qu'ils répondent en routine ; s'ils calculent la CMI en routine, ils devraient la répondre également pour l'EEQ. Etant donné que les résultats sont actuellement transmis sous différentes formes quantitatives, il n'y a pas assez d'utilisateurs de ces appareils 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/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ticarcilline	-	-	1
Pipéracilline-tazobactam	-	-	6
Ceftazidime	-	-	7
Céfépime	-	-	6
Aztréonam	-	4	1
Méropénème	-	-	4
Imipénème	-	-	1
Colistine	4	-	-

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/7295 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat			
	S	I	R	*
Ticarcilline	-	-	2	-
Pipéracilline-tazobactam	-	-	6	-
Ceftazidime	-	-	7	-
Céfépime	-	-	7	-
Aztréonam	1	2	4	-
Méropénème	-	-	7	-
Colistine	4	-	-	1 ¹
Polymyxine	1	-	-	-

¹ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « S ») pour la colistine, mais pas le résultat final.

Il reste à mentionner que :

- 1 laboratoire a déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques avec l'appareil Microscan walkaway 40
- 1 laboratoire a considéré le germe comme résistant à la ticarcilline sur base du résultat « R » de la ticarcilline-acide clavulanique
- 2 laboratoires n'ont pas mentionné la méthode utilisée pour un ou plusieurs antibiotiques

La plupart des laboratoires ont repris 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:

- La pipéracilline-tazobactam:
 - ♣ S→I
 - Vitek 2: 2 labos
 - Vitek 2 compact: 1 labo

- L'aztréonam:
 - ♣ S→R
 - Neosensitabs/Sirscan: 1 labo

 - ♣ I→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Neosensitabs: 6 labos
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo

 - ♣ I→S
 - Vitek 2 compact: 1 labo (basé sur le résultat des disques Neosensitabs)

4.2. Culture M/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*)

Nombre de participants = 182 (les deux laboratoires qui en routine ne traitent pas les hémocultures, n'ont évidemment pas effectué d'antibiogramme).

Deux laboratoires ont mentionné explicitement que la souche contenait une métallo- β -lactamase ; 1 laboratoire a mentionné que la souche ne contenait pas de métallo- β -lactamase.

Un laboratoire a mentionné qu'il fallait rechercher une souche productrice dun BLSE de type PER; pour cette recherche une PCR ou IEP sont nécessaires.

Plusieurs laboratoires ont mentionné qu'en routine des souches avec une telle résistance seraient envoyées à un centre de référence.

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

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 ce n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter dans le tableau suivant le résultat le plus résistant, sauf si les laboratoires l'avaient indiqué autrement.

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Ticarcilline	R	70	-	-	70	-
Pipéracilline-tazobactam	R	166	9	21	135	1 ³
Ceftazidime	R	179	1	-	178	-
Céfépime	R	161	1	-	158	2 ⁴
Aztréonam	R	126	3	54	69	-
Méropénème	R	162	-	-	161	1 ⁵
Imipénème ¹	R	10	-	-	10	-
Colistine	S	129	125	1	2	1 ⁶
Polymyxine ²	S	9	7	-	1	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'imipénème au lieu du méropénème.

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la polymyxine au lieu de la colistine.

³ Un laboratoire a fourni la valeur CMI, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « I ») pour la pipéracilline-tazobactam, mais pas le résultat final.

⁴ Deux laboratoires ont fourni la valeur CMI mais pas d'interprétation qualitative pour la céfépime.

⁵ Un laboratoire a fourni la valeur CMI mais pas d'interprétation qualitative pour le méropénème.

⁶ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « S ») pour la colistine, mais pas le résultat final.

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 sur disque avec les disques en papier ou les disques Neosensitabs.

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 ce cas, mais de donner le diamètre du disque. Dans ce cas également ces résultats n'ont pas été pris en compte pour les calculs suivants.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ticarcilline	4 (5)	75	6	6 - 6	-	-	5
Pipéracilline-tazobactam	25 (29)	100+10	14	10 - 17	-	4	25
Ceftazidime ¹	27 (30)	30	6	6 - 10	-	-	30
Céfépime ²	23 (26)	30	6	6 - 10	-	-	26
Aztréonam	23 (25)	30	16	11 - 25	1	15	9
Méropénème ³	24 (27)	10	6	6 - 10	-	-	27
Imipénème	4 (5)	10	6	6 - 7	-	-	5
Colistine ⁴	(24)				24	-	-
	13	10	14	11 - 18	13	-	-
	9	50	17	15,9 - 22	9	-	-

¹ En outre 1 laboratoire a répondu < 6 mm.

² En outre 1 laboratoire a répondu < 6 mm.

³ En outre 1 laboratoire a répondu < 6 mm.

⁴ Deux types de disques avec charges différentes ont été utilisés; un certain nombre des laboratoires n'ont pas mentionné la charge des disques qu'ils ont utilisés.

Tableau 4.2.3. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs pour l'échantillon M/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ticarcilline ¹	14 (17)	75	9	8 - 11	-	-	17	-
Pipéracilline-tazobactam	47 (51)	100+10	16	9 - 26	3	2	45	1 ²
Ceftazidime ³	53 (59)	30	9	8 - 14	1	-	58	-
Céfépime	44 (48)	30	9	8 - 16	1	-	47	-
Aztréonam	56 (56)	30	20	15 - 24	2	33	21	-
Méropénème ⁴	42 (47)	10	9	6 - 12	-	-	47	-
Imipénème ⁵	3 (4)	15	10	9 - 10	-	-	4	-
Colistine ⁶	(53)				51	-	2	-
	12	10	16,5	11 - 28	10	-	2	-
	39	150	23	20 - 31	39	-	-	-
Polymyxine	8 (8)	150	23,5	21 - 26	7	-	1	-

¹ En outre 1 laboratoire a répondu < 9 mm.

² Un laboratoire a fourni le diamètre et le résultat brut (« R ») pour les disques Neosensitabs mais a utilisé le résultat du Vitek 2 (« I ») pour interpréter la sensibilité de la souche.

³ En outre 1 laboratoire a répondu < 9 mm. et un autre < 8 mm.

⁴ En outre 1 laboratoire a répondu < 8 mm.

⁵ En outre 1 laboratoire a répondu < 9 mm.

⁶ Deux types de disques avec charges différentes ont été utilisés; un certain nombre des laboratoires n'ont pas mentionné la charge des disques qu'ils ont utilisés.

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau 4.2.4.

Tableau 4.2.4. Diamètres obtenus avec l'E-test pour l'échantillon M/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

	Nombre de résultats	CMI (mg/l)								Résultat			
		2	4	8	16	32	64	128	> 256	S	I	R	
Pipéracilline-tazobactam	6	-	-	-	-	-	-	1	4	1	-	1	5
Ceftazidime	4	4	8	16	32	64	128	256	256	4	-	-	4
Céfépime ¹	2									1	-	-	2
Aztréonam	4			1	2	1					-	3	1
Méropénème ²	5									1	-	-	5
Colistine	2	1	1								1	1	-

¹ En outre un laboratoire a répondu une CMI >32 mg/l

² En outre 4 laboratoires ont répondu une CMI >32 mg/l

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

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus sur Vitek pour l'échantillon M/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Vitek 2				Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Vitek 2 compact			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labo's ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	Résultat final	S	I	R			Résultat final	S	I		
Ticarilline	-	-	28	-	≥ 128	23 (28)	-	-	8	≥ 128	8 (8)
Pipéracilline-tazobactam	3 ¹	14	39	1 ²	≥ 128	34 (57)	5	4	10	64	10 (19)
Ceftazidime	-	-	55	1 ³	≥ 64	51 (56)	-	-	19	≥ 64	16 (19)
Céfépime	-	-	54	2 ⁴	≥ 64	51 (56)	-	-	19	≥ 64	16 (19)
Aztréonam	-	6	21	-	32	17 (27)	-	-	10	32	6 (10)
Méropénème	-	-	55	1 ⁵	≥ 16	50 (56)	-	-	19	≥ 16	16 (19)
Colistine	27	-	-	-	2	22 (27)	8	-	-	2	7 (8)

¹ Un laboratoire n'a mentionné le résultat (« S ») obtenu avec le Vitek 2 que dans une remarque; comme interprétation finale pour la pipéracilline-tazobactam, ce laboratoire a retenu la réponse « R », obtenue avec la méthode de diffusion par disque.

² Un laboratoire a fourni la valeur CMI, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « I ») pour la pipéracilline-tazobactam, mais pas le résultat final.

³ Un laboratoire a fourni la valeur CMI mais pas d'interprétation qualitative pour la ceftazidime.

⁴ Deux laboratoires ont fourni la valeur CMI mais pas d'interprétation qualitative pour la céfépime.

⁵ Un laboratoire a fourni la valeur CMI mais pas d'interprétation qualitative pour le méropénème.

Dans la plupart des cas la « valeur CMI 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 valeur CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pipéracilline-tazobactam, 18 laboratoires ont mentionné une CMI de 64 mg/l sur Vitek 2 ; 6 laboratoires ont mentionné une CMI ≥ 128 mg/l sur Vitek 2 compact
- pour l'aztréonam, 4 laboratoires ont retrouvé une CMI de 16 mg/l sur Vitek 2 ; 2 laboratoires ont retrouvé une CMI ≥ 64 pour le Vitek 2 et 2 laboratoires une CMI ≥ 64 pour le Vitek 2 compact
- pour le méropénème un laboratoire a mentionné une CMI ≥ 32 mg/l sur Vitek 2
- pour la colistine, 1 laboratoire a retrouvé une CMI de 1 mg/l sur Vitek 2 et 1 laboratoire une CMI de 1 mg/l sur Vitek 2 compact

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/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ticarcilline	-	-	13
Pipéracilline-tazobactam	1	-	9
Ceftazidime	-	-	10
Céfépime	-	-	9
Méropénème	-	-	10
Colistine	11	-	-

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/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ticarcilline	-	-	1	>64	1 (1)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	8	>64/4	7 (8)
Ceftazidime	-	-	8	>16	7 (8)
Céfépime	-	-	7	>16	6 (7)
Aztréonam	-	-	8 ¹	>16	7 (8)
Méropénème	-	-	8	>8	6 (8)
Colistine	6	-	-	1	5 (6)

¹ Un laboratoire a obtenu pour l'aztréonam un résultat « I » avec les disques Neosensitabs et un résultat « R » avec l'appareil Phoenix ; un contrôle avec l'Ettest a donné le résultat « I »; la conclusion finale du laboratoire était un résultat « I ».

Un laboratoire a retrouvé une CMI de 8 mg/l pour le méropénème.

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.2.8. et 4.2.9.

Nous avons constaté que ces appareils permettent de calculer la CMI à partir du diamètre; pour l'EEQ certains laboratoires mentionnent la valeur CMI, la plupart ne mentionnent que le diamètre. Nous demandons aux laboratoires de traiter l'EEQ comme un échantillon de routine et donc de mentionner le « résultat quantitatif » qu'ils répondent en routine; s'ils calculent la CMI en routine, ils devraient la répondre également pour l'EEQ. Etant donné que les résultats sont actuellement transmis sous différentes formes quantitatives, il n'y a pas assez d'utilisateurs de ces appareils 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/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ticarcilline	-	-	1
Pipéracilline-tazobactam	-	2	4
Ceftazidime	-	-	7
Céfépime	-	-	6
Aztréonam	-	5	-
Méropénème	-	-	4
Imipénème	-	-	1
Colistine	4	-	-

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan pour l'échantillon M/7298 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat			
	S	I	R	*
Ticarcilline	-	-	2	-
Pipéracilline-tazobactam	-	-	6	-
Ceftazidime	-	-	7	-
Céfépime	-	-	7	-
Aztréonam	-	5	2	-
Méropénème	-	-	7	-
Colistine	3	-	-	1 ¹
Polymyxine	1	-	-	-

¹ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « S ») pour la colistine, mais pas le résultat final.

Il reste à mentionner que:

- 1 laboratoire a déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques avec l'appareil Microscan walkaway 40
- 2 laboratoires n'ont pas mentionné la méthode utilisée pour un ou plusieurs antibiotiques.

La plupart des laboratoires ont repris 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:

- La pipéracilline-tazobactam:
 - ♣ S→I
 - Vitek 2: 14 labos
 - Phoenix : 1 labo

 - ♣ S→R
 - Vitek 2: 1 labo (basé sur le résultat des disques Neosensitabs)
 - Vitek 2 compact: 1 labo

- L'aztréonam:
 - ♣ S→I
 - Neosensitabs: 1 labo

 - ♣ I→R
 - Neosensitabs: 2 labos
 - Neosensitabs/Sirscan: 1 labo

V. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

Deux suspensions de selles formolées ont été envoyées : P/7368 et P/7376.
180 laboratoires ont participé à cette enquête.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 47.2%. Nous conseillons le plus possible d'utiliser cette manière pour transmettre les résultats. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter certaines d'erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

Les échantillons étaient accompagnés des renseignements cliniques suivants :

P/7368:

Un homme de 52 ans se plaint depuis quelques jours de diarrhée. Il n'a effectué aucun voyage à l'étranger récemment.

P/7376:

Un réfugié du Kosovo de 45 ans se plaint de douleurs épigastriques.

L'échantillon P/7368 contenait des kystes de *Entamoeba coli*.

L'échantillon P/7376 contenait des œufs de *Hymenolepis nana*.

5.2. Les résultats et commentaires

5.2.1 L'échantillon P/7368

Les 180 laboratoires ont fourni 195 réponses. 165 laboratoires ont détecté la présence d'un parasite et 15 ont détecté la présence de 2 parasites. Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/7368

Résultat	Nombre
<i>Entamoeba coli</i>	176
<i>Entamoeba histolytica</i>	6
<i>Entamoeba histolytica</i> /dispar	4
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Hymenolepis nana</i>	2
<i>Taenia species</i>	2
<i>Chilomastix mesnili</i>	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1
Total	195

Les 2 laboratoires ayant répondu *Hymenolepis nana* ont probablement inversé les deux échantillons.

Les 15 laboratoires ayant mentionné la présence de 2 parasites, ont tous répondu la présence d'*Entamoeba coli* comme 1 des 2.

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

Tableau 5.2.2. Stades d'évolution d'*Entamoeba coli* pour l'échantillon P/7368

Stade d'évolution	Nombre
Kyste	173
Oocyste	1
Larve rhabditoïde	2
Non précisé	1
Total	176

Le laboratoire ayant répondu larve rhabditoïde, a probablement utilisé d'anciens codes. Nous aimerions insister une fois de plus d'utiliser les codes les plus récents (qui se trouvent également sur notre site web à la page: http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/domain_specific_information/download/FR/CODES-PARASITOLOGIE-FR-2007.pdf) ou d'utiliser de préférence le Toolkit.

Commentaire concernant les résultats de l'échantillon P/7368 (*E. coli*)

Le parasite présent dans l'échantillon P 7368 était un *Entamoeba coli*. Sur les 180 laboratoires participants, 161 (89,4%) ont correctement identifié la présence de ce seul parasite non pathogène et 176 d'entre eux l'ont retrouvé mais en mélange avec un autre parasite.

Divers rapports des années antérieures, disponibles sur le site de l'ISP, ont déjà été consacrés à ce parasite.

Les amibes sont habituellement classées en espèces pathogènes (*Entamoeba histolytica* et peut être *Entamoeba polecki*) et non pathogènes (*E. coli*, *E. hartmanni*, *E. gingivalis*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba buetschlii* et *Entamoeba dispar*).

Notons une fois encore que l'espèce pathogène *Entamoeba histolytica* ne peut pas être différenciée morphologiquement de l'espèce non pathogène *Entamoeba dispar*. Les seules manières de les distinguer sont des techniques soit immunologiques soit moléculaires. Rappelons que les immunoessais et les analyses moléculaires doivent être effectués sur des selles fraîches, éventuellement après congélation mais, ne contenant aucun liquide de conservation (formol, SAF, ...) notamment car les effets inhibiteurs de ces substances ne sont pas connus.

Il faut donc considérer, qu'en l'absence de tests complémentaires, ou la visualisation indubitable de globules rouges phagocytés dans les trophozoïtes la réponse « *Entamoeba histolytica* » est erronée. Cette réponse a été fournie par 6 laboratoires (3,3%) participant à l'enquête.

Pour tout examen parasitaire, la récolte de trois échantillons de selles durant trois jours consécutifs est recommandée car l'émission des œufs est discontinue. Sur chacun de ces échantillons un examen à frais avec et sans coloration à l'Iode ou avec un autre colorant commercial est réalisé.

Afin de standardiser la méthode, une suspension uniforme de selles doit être examinée sous une lamelle d'une surface de 22x22 mm.

Dans la littérature, il est conseillé aussi de lire systématiquement un frottis coloré au trichrome ou à l'hématoxyline-éosine ; ceci peut poser divers problèmes en routine ces techniques sont très lourdes mais permet d'augmenter la sensibilité du diagnostic au laboratoire.

Comme les parasites peuvent être rares, l'examen à frais d'un petit volume de selles est fréquemment négatif, c'est pourquoi on utilisera aussi des techniques de concentration (sédimentation ou flottaison), qui permettent de concentrer les kystes, mais qui détruisent les formes végétatives.

L'identification des amibes intestinales repose essentiellement sur la taille et la morphologie des kystes et éventuellement des trophozoïtes et le nombre de noyaux qu'ils contiennent.

Les différences microscopiques essentielles entre *E. coli* et *E. histolytica/dispar* sont reprises brièvement dans le tableau 5.2.3. (d'après Lynne S Garcia. Diagnostic Medical Parasitology. 5th edition 2007. ASM Press.)

Tableau 5.2.3. Les différences microscopiques essentielles entre *E. coli* et *E. histolytica/dispar*

		<i>E. coli</i>	<i>E. histolytica/dispar</i>
La taille des kystes		15-25 μ m (valeurs extrêmes 10 - 35 μ m)	12-15 μ m (valeurs extrêmes 10 - 20 μ m)
Le nombre de noyaux		8 au stade de maturité	4 maximum
La chromatine	Sur frottis coloré	Grossière, parfois en amas	Fine, uniformément distribuée
Le caryosome	Sur frottis coloré	Epais, habituellement excentrique, parfois central	Petit, compact, habituellement central
Le corps sidérophile (chromatoidal body) !inconstamment présent!	Sur frottis coloré	Parfois multiples, irréguliers, extrémités pointues ou irrégulières	Allongé, régulier, extrémités arrondies

Notons aussi que le site du CDC consacré au diagnostic des parasitoses en général et au diagnostic différentiel des amibes en particulier est clair et bien illustré.

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/Amebiasis.htm>

La photo de cet échantillon a, comme d'habitude, été réalisée par M. Lontie



Figure 5.2.1. *E. coli* (avec caryosome excentrique) (échantillon P/7368)

Anne Dediste, Laboratoire de la Porte de Hal, Bruxelles

5.2.2 L'échantillon P/7376

Les 180 laboratoires ont fourni 188 réponses. 2 laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 170 laboratoires ont détecté la présence d'un parasite et 8 ont détecté la présence de 2 parasites. Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.4. Combinaisons de 2 parasites répondus pour l'échantillon P/7254

Parasites	Nombre
<i>Hymenolepis nana</i>	169
<i>Hymenolepis diminuta</i>	10
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Entamoeba coli</i>	2
<i>Entamoeba histolytica</i>	1
<i>Isospora belli</i>	1
<i>Taenia species</i>	1
Absence de parasites	2
Total	188

Les 2 laboratoires ayant répondu *Entamoeba coli* ont probablement inversé les deux échantillons.

Sept des laboratoires ayant mentionné la présence de 2 parasites, ont détecté la présence d' *Hymenolepis nana* comme 1 des 2 ; le 8^e est un des 2 laboratoires ayant inversé les 2 échantillons (et qui a répondu *Entamoeba coli* et *Entamoeba histolytica* pour l'échantillon P/7376).

Un laboratoire a mentionné que *Vampirolepis nana* est le nouveau nom d'*Hymenolepis nana*.

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

Tableau 5.2.5. Stades d'évolution de *Hymenolepis nana* pour l'échantillon P/7368

Stade d'évolution	Nombre
Œuf	153
Œuf fécondé	6
Kyste	8
Non précisé	2
Total	169

Commentaire concernant les résultats de l'échantillon P/7376 (*H. nana*)

Le parasite présent dans l'échantillon P 7376 était un *Vampirolepis* (*Hymenolepis*) *nana*.

Sur les 180 laboratoires participants, 162 (90%) ont correctement identifié la présence de ce seul parasite et 7 l'ont retrouvé mais en mélange avec un autre parasite. Deux laboratoires n'ont pas retrouvé de parasite dans cet échantillon.

Tout comme *E. coli*, *H. nana* a déjà fait l'objet de plusieurs commentaires au cours des dernières années.

Depuis plusieurs années, une modification de nomenclature a été proposée et le nouveau nom retenu est *Vampirolepis nana*. Dès les années 1960, on retrouve le parasite décrit sous ce nom dans quelques publications. Au cours du temps les deux noms restent cependant souvent utilisés.

Ce petit cestode, présent dans le monde entier est le plus commun et le plus petit des taenias humains. Il est appelé communément taenia nain ou en anglais « dwarf tapeworm ». Particulièrement fréquent dans les pays chauds, il infecte plus souvent les enfants. C'est le seul taenia pour lequel un hôte intermédiaire n'est pas nécessaire, ses œufs étant directement infectants. Ceux-ci peuvent survivre jusqu'à 10 jours dans l'environnement.

Il y a trois modes de contamination :

- Par ingestion d'œufs présents dans de l'eau ou de la nourriture contaminée ou sur les mains.
- Par ingestion de larves cysticercoïdes présents dans un insecte, hôte intermédiaire. Il s'agit essentiellement de vers de farine ou de puces.
- Par auto-infection : les œufs libèrent un embryon hexacanthé dans la lumière intestinale, celui-ci donne une larve cysticercoïde qui en 15 jours devient un ver adulte. L'infection peut ainsi persister pendant plusieurs années.

Le plus souvent, l'infection est asymptomatique, mais une contamination massive de plusieurs centaines de vers adultes peut provoquer des douleurs abdominales, de la diarrhée mais aussi des symptômes généraux tels que fatigue, faiblesse, anorexie.

Le diagnostic est basé sur la détection d'œufs dans les selles. Leur présence étant inconstante, il est nécessaire de concentrer l'échantillon et de répéter l'examen si celui-ci est négatif.

L'œuf mesure de 30 à 50 μm de diamètre, est rond ou ovale et possède une fine coque incolore. Il contient un embryon hexacanthé souvent aisément identifiable au microscope. Sur la membrane interne de l'œuf, on peut aussi parfois observer deux pôles d'où partent 4 à 8 filaments visibles entre les deux membranes.

Outre les photos ci-jointes réalisées par M. Lontie sur cet échantillon, on trouvera des illustrations sur le site du CDC :

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Hymenolepiasis.htm>



Figure 5.2.2. *H. nana* (avec crochets clairement visibles) (échantillon P/7376)



Figure 5.2.3. *H. nana* (avec filaments clairement visibles) (échantillon P/7376)

Anne Dediste, Laboratoire de la Porte de Hal, Bruxelles

VI. SEROLOGIE

6.1 Description des échantillons

2 échantillons ont été envoyés.

- S/6980 pour la détermination des anticorps anti-Syphilis
- S/7225 pour la détermination de la sérologie des hépatites A et B

L'échantillon S/6980 était accompagné de l'information clinique suivante : « L'échantillon que vous recevez pour le contrôle de qualité a été prélevé dans le cadre d'un don de sang. »

L'interprétation attendue était : « 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».

L'échantillon S/7225 était accompagné de l'information clinique suivante: « Une femme se présente au Centre de vaccination. On décide de contrôler son statut immunitaire pour les hépatites A et B. »

Les résultats et interprétations attendues étaient :

- pour l'hépatite A:
 - IgG positif, IgM négatif
 - Immunité
- pour l'hépatite B:
 - Ac Anti-HBs positif, Ag HBs négatif, Ac anti-HBc négatif
 - Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B

6.2 Syphilis

6.2.1 Les participants

174 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse.
Ils ont effectué 371 tests, à savoir 209 tests tréponémiques (dont 7 ne déterminent que les IgM ; les autres 202 déterminent les IgG ou les anticorps totaux) et 162 tests non-tréponémiques.
7 laboratoires ont effectué 1 test, 143 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests et 6 laboratoires ont effectué 4 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/6980
Abbott	Murex Syfacard-R	39
	Murex TPHA kit	11
	Architect Syphilis TP	11
	Determine Syphilis TPHA	1
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	16
	Biokit	10
bioMérieux	Syphagen TPHA	6
	Syphagen TPHA Rec Plus	3
	Bioelisa Syphilis	1
	RPR-nosticon II	19
	Trepo-Spot IF	13
	RPR Slide Test	2
BioRad	TPHA- nosticon	1
	TPHA Screening 500	1
Biosystems	RPR Carbon	8
Cambridge Biotech	RPR Slide Test	1
Cypress Diagnostics	RPR Carbon	1
	TPHA kit	1
Dade Behring	Cellognost Syphilis H Combipack	10
	Enzygnost Syphilis	4
	VDRL Cardioliipin Ag	2
Diagast	SypalCB	3
Diamed	ID-Pagia	5
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	13
	ETI-Treponema Screen	1
Diesse		
(distributeur International Medical)	Chorus syphilis screening recombinant	6
Euroimmun (distributeur Biognost)	Treponema pallidum IgG	2
	Treponema pallidum IgM	1
Fujirebio	Serodia TPPA	77
Innogenetics	Inno-Lia Syphilis	2
	Inno-TPHA	2
	Non précisé	1
Lameris	TPHA	16
	RPR	11
Medigal	RPR latex	1
	TPHA	1
Mikrogen	Recomblot IgM	2
	Recomblot IgG	1
	Recomwell IgG	1
	Recomwell IgM	1

New Market Laboratories Ltd	TPHA 200	2
Omega	Immutrep RPR kit	8
	Immutrep TPHA kit	3
	Immutrep Carbon antigen	1
Oxoid	VDRL test kit	2
	TPHA test	1
Plasmatec (distributeur Forlab)	RPR Test kit	8
	VDRL Carbon antigen	3
	TPHA Test kit	2
	Syphscreen RPR	1
Radim	RPR Card Test	1
Reaction Spinreact	RPR Carbon	23
Remel	RPR Card Test	1
Seraglu	TPHA Check	1
	VDRL Check Charbon	1
Servibio (distributeur Biognost)	Servitex TPHA	2
Non précisé	FTA Abs IgG	1
	FTA Abs IgM	1
	ELISA IgM	1
Total		371

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 tréponémique	5
	1 x non-tréponémique	2
2 tests exécutés	1 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	138
	2 x tréponémique	5
3 tests exécutés	2 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	18
4 tests exécutés	3 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	4
	4 x tréponémique	2
Total		174

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

Type de tests	Nombre de laboratoires
Un test: tréponémique	5
Un test: non-tréponémique	2
Combinaison de méthodes tréponémiques + non-tréponémiques	160
Combinaison de méthodes tréponémiques seulement	7
Total	174

6.2.3 Résultats

6.2.3.1 Tests tréponémiques

Sept laboratoires ont déterminé les IgM; 5 laboratoires ont obtenu un résultat positif et 2 un résultat borderline.

Tous les résultats obtenus pour les IgG et/ou anticorps totaux étaient positifs, quelle que soit de la technique utilisée.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et représenté le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.2.4.

Tableau 6.2.4. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les IgG et/ou anticorps totaux tréponémiques pour l'échantillon S/6980 pour les trousse les plus utilisées

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Murex TPHA kit (titre) ¹	7	1/1920	1/32	1/5120
Serodia TPPA (titre) ²	71	1/5120	1/8	1/81920
Syphagen TPHA (titre)	5	1/5120	1/1280	1/10240
Lameris TPHA (titre) ³	14	1/5120	1/1280	1/163840
Trepo-Spot IF (titre)	11	1/800	1/5	1/5120
Cellognost Syphilis H Combipack (titre)	10	1/960	1/320	1/10240
Architect Syphilis TP (indice)	11	25.20	21.72	31.12
Chorus syphilis screening recombinant (indice) ⁴	4	7.7	7.5	9.3
Liaison Treponema Screen (indice)	13	40.7	22.5	63.1

¹ En outre 1 laboratoire a répondu 10 000.

² En outre 1 laboratoire a répondu >1/1000, 2 laboratoires >1/1280 et 1 laboratoire >1/20480.

³ En outre 1 laboratoire a répondu >1/1280 et 1 laboratoire >1/20480.

⁴ En outre 1 laboratoire a répondu un titre 1/5120 en 1 laboratoire >20000.

L'examen de la trousse avec le plus grand nombre d'utilisateurs (Serodia TPPA) par la firme (Fujirebo) nous a appris que la dispersion ne peut pas être expliquée par des variations entre les différents lots : Fujirebio a analysé l'échantillon avec 3 lots différents et obtenu 3 fois un titre de 1/2560. La firme insiste sur l'importance de suivre scrupuleusement l'insert et de rincer soigneusement les "compte-gouttes" des trousse (pour éviter une contamination) et de veiller à effectuer les dilutions de manière précise. De plus, l'interprétation des résultats doit se faire de façon univoque; le titre est la dilution à laquelle en voit encore de façon évidente un « tapis ».

6.2.3.2 Tests non-tréponémiques

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

Tableau 6.2.5. Résultats des tests non-tréponémiques pour la syphilis pour l'échantillon S/6980

Résultats	Nombre
Positif	158
Négatif	3
Pas de réponse ¹	1
Total	162

¹ Ce laboratoire a mentionné le résultat quantitatif (1/8) mais pas l'interprétation qualitative de ce résultat.

Tous les laboratoires ayant obtenu un résultat négatif ou n'ayant pas fourni de résultat qualitatif pour les tests non-tréponémiques, ont obtenu un résultat positif pour le(s) test(s) tréponémiques qu'ils ont effectués.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane et représenté le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif). Ils sont repris dans le tableau 6.2.6.

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

Tableau 6.2.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests non-tréponémiques pour l'échantillon S/6980 pour les trousse les plus utilisées ; les résultats sont exprimés en titres.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Murex Syfacard-R (titre)	34	1/16	1/8	1/320
Macro-Vue RPR Card Test (titre)	13	1/16	1/4	1/32
Biokit RPR (titre)	10	1/8	1/4	1/32
RPR-nosticon II (titre)	16	1/8	1/4	1/2560
Biosystems RPR Carbon (titre)	6	1/8	1/4	1/8
Lameris RPR (titre)	8	1/8	1/4	1/32
Immutrep RPR kit (titre)	7	1/16	1/4	1/16
Plasmatec RPR kit (titre)	7	1/8	1/2	1/16
Reaction Spinreact RPR Carbon (titre)	21	1/8	1/4	1/2560

6.2.3.3 Interprétations cliniques

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection **active** (non traitée); le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique ».

18 laboratoires ont choisi « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection **non-active**; le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique ».

Quelques laboratoires n'ont pas fourni d'interprétation basée sur le(s) test(s) qu'ils ont effectué mais ont mentionné que des tests supplémentaires étaient nécessaires.

Les interprétations cliniques sont reprises dans le tableau suivant:

Tableau 6.2.7. Interprétations cliniques pour l'échantillon S/6980

Interprétation	Nombre
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (non traitée); le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique.	151
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active ; le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique	18
Des tests supplémentaires sont nécessaires pour confirmation ¹	1
Le VDRL est nécessaire à l'interprétation ¹	1
Résultat à confirmer par TPHA (que le laboratoire ne réalise pas): l'interprétation active ou non-active en dépend ²	1
Pas d'interprétation: notre établissement est un centre de transfusion pour la qualification biologique des dons de sang (laboratoire luxembourgeois) ³	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (non traitée); le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique. Ou Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active ; le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique ⁴	1
Total	174

¹ Ces 2 laboratoires n'ont déterminé que le TPHA.

² Ce laboratoire n'a déterminé que le VDRL.

³ Ce laboratoire a déterminé le TPHA et le VDRL.

⁴ Ce laboratoire a déterminé le TPHA et le RPR.

Les trois laboratoires ayant obtenu un résultat négatif pour le test non-tréponémique, ont tous fourni l'interprétation « non-actif ».

Les deux laboratoires ayant obtenu un résultat borderline pour les IgM ont fourni l'interprétation « actif ».

Un laboratoire a remarqué que s'il y a absence d'antécédents chez le patient, l'échantillon est envoyé dans un centre de référence (IMT Anvers) pour examens supplémentaires.

6.2.4 Discussion des résultats de l'enquête

Introduction

Les tests utilisés pour la sérologie syphilitique peuvent être repartis en 2 types: d'un côté les tests tréponémiques (TT: ex TPPA, FTA, ELISA, CLIA), et d'un autre les tests non-tréponémiques (TNT: ex RPR, VDRL).

Les TNT sont moins spécifiques, mais leur évolution est importante dans le suivi du traitement. Si le traitement est efficace, le titre des anticorps des TNT diminuera d'au moins 2 dilutions au cours de la première année suivant le traitement. La comparaison des titres doit se faire sur des échantillons appariés (tester l'échantillon initial et l'échantillon de suivi ensemble). En effet il se peut qu'il y ait eu un changement de numéro de lot ou de producteur au cours de l'année et une comparaison de titres n'est correcte que si les deux échantillons ont été testés dans les mêmes conditions. Pour permettre cette comparaison il est donc nécessaire de conserver les sérums positifs suffisamment longtemps au laboratoire.

Les TT ne peuvent pas être utilisés dans le suivi du traitement. Ces tests ne diminuent que très lentement après l'instauration du traitement. Plus il y a de temps écoulé entre l'infection et le traitement, plus les titres diminuent lentement. Si le traitement n'a commencé que dans la phase secondaire de l'infection, la plupart des titres tréponémiques ne redeviendront plus négatifs.

L'échantillon

L'information clinique de l'échantillon spécifie que le patient a été testé lors d'un don de sang. Le patient souffrait d'une syphilis active au moment de la prise de sang.

Discussion des résultats

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les TT.

Tous les laboratoires sauf 3, ont fourni un résultat positif pour les TNT. Un des laboratoires ayant répondu « négatif » en RPR, a toutefois obtenu un titre de 1/4 avec la trousse RPR de Biokit, ce qui est manifestement positif. Tous les autres utilisateurs avec un titre de 1/4 pour cette trousse ont répondu « positif ». Il s'agit d'une erreur de transcription ou d'une interprétation fautive du laboratoire.

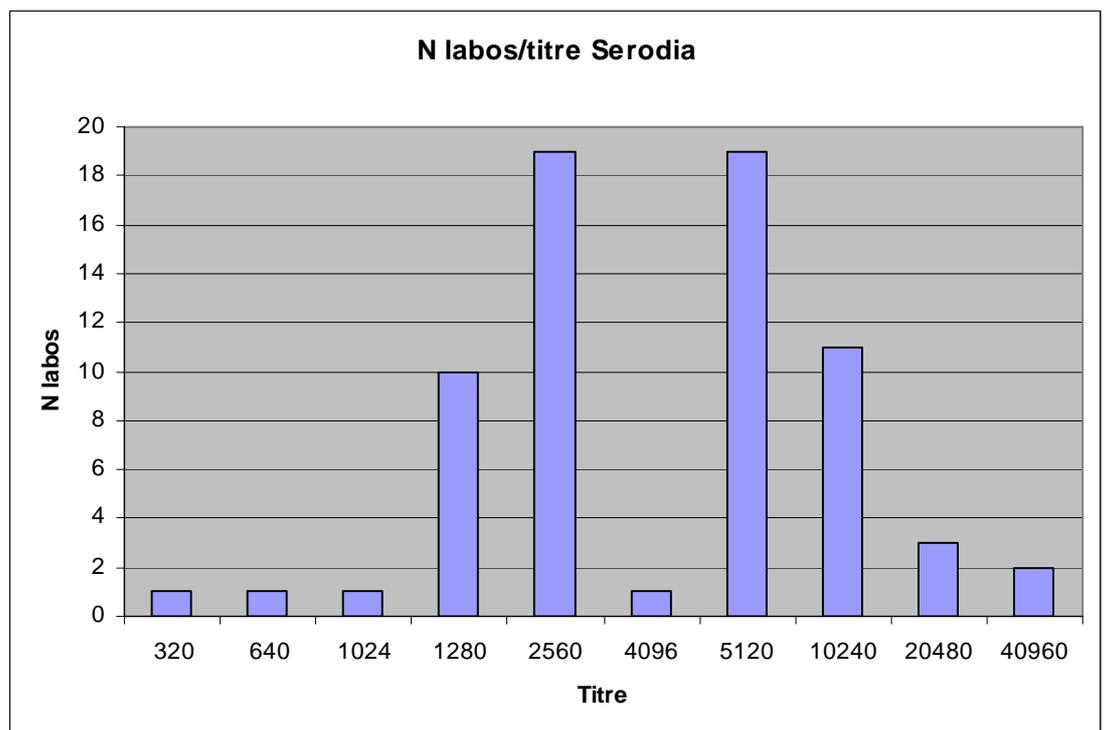
Les résultats des 2 autres laboratoires ayant trouvé un TNT négatif étaient donc de faux négatifs. De tels résultats faux négatifs dans les tests d'agglutination sont le plus souvent dus au phénomène de pro-zone, qui peut se produire si on teste des sérums avec des titres élevés. Ce phénomène s'exprime par un résultat négatif aux faibles dilutions mais un résultat positif aux plus fortes dilutions. Le risque d'un phénomène de pro-zone peut être limité si on teste plusieurs dilutions d'un même échantillon en routine. Étant donné que cette méthode augmente le coût, elle n'est pratiquement pas utilisée. Nous devons être attentifs à la présence d'un phénomène de pro-zone quand un échantillon est positif pour les tests tréponémiques et négatif pour les tests non-tréponémiques (ou vice versa). Si nous sommes confrontés à de tels résultats, il est indiqué d'effectuer une dilution en série de l'échantillon afin d'exclure ce phénomène. Les laboratoires avec un résultat négatif pour les TNT avaient bien un résultat positif pour les tests tréponémiques et auraient donc pu suspecter un phénomène de pro-zone.

La grande variation entre les titres est également à noter. Deux résultats extrêmement élevés ont été rapportés pour les TNT, à savoir 2560. Il est probable que ceci soit dû à une erreur de transcription et que les valeurs des tests tréponémiques et non-tréponémiques aient été interverties.

De grandes variations ont également été trouvées pour les TT: les valeurs extrêmement basses peuvent être dues à l'interversion mentionnée ci-dessus. Mais des valeurs extrêmement élevées ont également été retrouvées. Une certaine variation (2 à 3 titres) entre les laboratoires utilisant les trousses d'un même producteur est acceptable mais une variation de 1/8 à 1/81920 ou de 1/1280 à 1/163840 ne l'est plus. Il est possible qu'une erreur dans la procédure soit à l'origine de ces valeurs extrêmes.

Nous conseillons aux laboratoires dont les résultats s'écartent largement de la médiane de revoir leurs procédures. S'ils ne trouvent aucune faute dans les procédures, ils devraient contacter la firme concernée pour examiner ces grandes variations.

Le graphique ci-dessous reprend la distribution des résultats des utilisateurs de la trousse Serodia TPPA (les outliers les plus importants ont été supprimés pour réaliser ce graphique). La firme a analysé 3 lots différents et a démontré qu'il n'existe pas de différences entre eux : ils ont retrouvé un titre de 1/2560 avec les 3 lots.



L'interprétation correcte était: « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (non traitée) ; le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique »

En effet la présence de titres élevés pour les tests tréponémiques et non-tréponémiques est suggestive d'une syphilis active. Il est cependant

impossible de distinguer une syphilis récemment traitée d'une syphilis non-traitée sur seule base des résultats sérologiques. Une sérologie positive suggestive d'une syphilis active doit toujours être interprétée en fonction de l'anamnèse, de la clinique et des résultats sérologiques antérieurs.

Toutes les autres interprétations sont considérées comme incorrectes.

Anne Naessens, UZ VUB, Brussel

6.3 Hépatites

6.3.1 Résultats attendus

Un échantillon a été envoyé : **S/7225**.

Les tests de l'hépatite A (HAV) et de l'hépatite B (HBV) devaient être effectués sur cet échantillon.

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante :
« Une femme se présente au Centre de vaccination. On décide de contrôler son statut immunitaire pour les hépatites A et B. »

Les résultats et interprétations attendues étaient :

Hépatite A:

IgG: positif
IgM: négatif

Interprétation HAV:

Immunité

Hépatite B:

HBsAg: négatif
HBsAc: positif
HBcAc: négatif
(HBeAg: négatif)
(HBeAc: négatif)

Interprétation HBV:

Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B

6.3.2 HAV

6.3.2.1 Les participants

Au total 175 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse ; ils ont effectué 326 tests.

24 laboratoires ont effectué un test : 20 ont déterminé les IgM et 4 les anticorps totaux.

151 laboratoires ont effectué 2 tests : 129 laboratoires ont déterminé les anticorps totaux et les IgM ; 22 les IgG et IgM. Etant donné que les anticorps totaux et les IgG sont utilisés dans le même but, les résultats seront discutés ensemble dans le reste du texte (il n'existe d'ailleurs qu'une trousse qui ne détermine que les IgG, à savoir l'Architect HAVAB IgG).

6.3.2.2 Réactifs utilisés

Les tableaux suivants reprennent le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs :

Tableau 6.3.1. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HAV totaux et IgG

Fabricant	Trousse	S/7225
Abbott	AxSym HAVAB 2.0	40
	Architect HAV IgG	22
	IMx HAVAB	1
Beckman	Unicel Dxl HAV AB	9
	Access HAV AB	8
bioMérieux	VIDAS anti-HAV total	27
Dade Behring	Enzygnost anti-HAV	1
Diasorin	LIAISON Anti-HAV	12
	ETI-AB-HAVK PLUS	2
	Vitros ECi anti-HAV Total	5
Ortho Diagnostics	Modular anti-HAV	10
Roche	Elecsys anti-HAV	4
	ADVIA Centaur HAV Total	13
Siemens	Immulite Total	1
Total		155

Tableau 6.3.2. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HAV IgM

Fabricant	Trousse	S/7225
Abbott	AxSym HAVAB M 2.0	49
	Architect HAV IgM	23
	IMx HAVAB-M	3
Beckman	Unicel Dxl HAV IgM	10
	Access HAV IgM	9
bioMérieux	VIDAS HAV IgM	26
Dade Behring	Enzygnost anti-HAV IgM	1
Diasorin	LIAISON HAV IgM	12
	ETI-AB-IGMK PLUS	1
	Vitros ECi anti-HAV IgM	8
Ortho Diagnostics	Modular anti-HAV IgM	10
Roche	Elecsys anti-HAV IgM	4
	ADVIA Centaur HAV IgM	14
Siemens	Immulite IgM	1
Total		171

6.3.2.3 Résultats

6.3.2.3.1 IgG et anticorps totaux

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvés positifs.

Les anticorps totaux ont été considérés comme positifs par 131 laboratoires. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif et un laboratoire n'a pas fourni d'interprétation qualitative.

La plupart des résultats fournis sont des résultats quantitatifs censurés: vous trouvez ci-dessous un aperçu de ces résultats quantitatifs pour autant que les laboratoires aient donné une réponse:

- Access HAV Ab:
 - o 6 laboratoires: > 71 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 79 mIU/ml
- Unicel Dxl HAV Ab:
 - o 6 laboratoires: > 71 mIU/ml
 - o 2 laboratoires: > 76 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 710 mIU/ml
- Vidas anti-HAV Total:
 - o 23 laboratoires: > 400 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 500 mIU/ml
 - o respectivement 1900, 2089 et 3700 mIU/ml par trois laboratoires différents
- Liaison anti-HAV:
 - o 9 laboratoires: indice ≤ 0.1 (1 laboratoire a interprété ce résultat fautivement comme « négatif »)
 - o 1 laboratoire: > 73 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 80 mIU/ml
- Vitros ECi anti-HAV total:
 - o 4 laboratoires: indice ≤ 0.1
- Elecsys anti-HAV:
 - o 4 laboratoires: > 60 mIU/ml
- ADVIA Centaur HAV Total:
 - o 6 laboratoires: > 71 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: 2408.6 mIU/ml

Pour quelques trousse nous avons calculé la médiane et représenté le minimum et le maximum. Ces données sont reprises dans le tableau 6.3.3.

Tableau 6.3.3. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les IgG ou anticorps totaux anti-HAV pour l'échantillon S/7225 pour certaines trousse.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Architect HAVAB IgG (indice s/co) ¹	20	12.86	10.6	14.6
AxSym HAVAB 2.0 (indice s/co) ²	26	0.0865	0.056	0.88
Modular anti-HAV (mIU/ml) ³	5	59	56	59.86

¹ En outre 1 laboratoire a répondu un indice de 0.075.

² En outre 1 laboratoire a répondu un indice de 9.09, 1 laboratoire 96.58 %INH, 7 laboratoires > 100 mIU/ml et 1 laboratoire > 500 mIU/ml.

³ En outre 4 laboratoires ont répondu > 60 mIU/ml et 1 laboratoire > 55 mIU/ml.

6.3.2.3.2 IgM

169 laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatifs. Deux laboratoires n'ont pas fourni d'interprétation qualitative.

6.3.2.3.3 Interprétation

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

Tableau 6.3.4. L'interprétation pour l'HAV pour l'échantillon S/7225

Interprétation	Nombre de laboratoires
Immunité ¹	153
Pas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite A ²	10
L'interprétation du statut immunitaire ne peut pas être effectuée sur seule base des IgM / tests complémentaires (HAV IgG) nécessaires ²	5
Pas d'immunité	4
Pas d'interprétation	3
Total ²	175

¹ Un laboratoire a fait la remarque: "acquise ou naturelle?"

² Réponses fournies par des laboratoires qui n'ont déterminé que les IgM

Sept laboratoires ayant répondu « Pas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite A », ont mentionné qu'une détermination des anticorps totaux ou IgG est nécessaire pour connaître le statut immunitaire.

Les réponses « Pas d'immunité » ont été fournies par 2 laboratoires qui n'ont déterminé que les IgM, par un laboratoire ayant obtenu un résultat négatif pour les IgG et par un laboratoire ayant obtenu un résultat positif pour les IgG (et un résultat négatif pour les IgM).

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

Tableau 6.3.5. Remarques mentionnées par les laboratoires ayant répondu « Immunité » pour l'HAV pour S/7225.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	129
Nouveau prélèvement après 3 semaines	1
Tests complémentaires	1
Total	131

6.3.3 HBV

6.3.3.1 Les participants

183 Laboratoires ont renvoyé leur formulaire. Ils ont effectué 713 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs:	179 tests	-
- Ac anti-HBs:	181 tests	
- Ac anti-HBc:	170 tests	
- IgM anti-HBc:	8 tests	
- Ag HBe:	89 tests	-
- Ac anti-HBe:	86 tests	

4 laboratoires ont effectué 1 test, 6 laboratoires 2 tests, 80 laboratoires 3 tests, 10 laboratoires 4 tests, 81 laboratoires 5 tests et 2 laboratoires 6 tests.

Les combinaisons de tests réalisés sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 6.3.6. Combinaison des tests pour la sérologie HBV

Paramètres effectués	Nombre de laboratoires
1 test	
Ag HBs	1
Ac HBs	3
2 tests	
Ag HBs + Ac HBs	2
Ag HBs + Ac HBc	1
Ac HBs + Ac HBc	3
3 tests	
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc	76
Ag HBs + Ac HBs + IgM HBc	3
Ag HBs + Ac HBc + Ag HBe	1
4 tests	
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe	5
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ac HBe	3
2 x Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc	2
5 tests	
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	78
Ag HBs + Ac HBs + IgM HBc + Ag HBe + Ac HBe	3
6 tests	
Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + IgM HBc	2
Total	183

6.3.3.2 Réactifs utilisés

Les tableaux 6.3.7. à 6.3.12 illustrent le nombre d'utilisateurs des différentes trouses pour les différents paramètres. Tous les laboratoires n'ont pas analysé tous les paramètres. Certains ont analysé un paramètre avec plusieurs réactifs.

Tableau 6.3.7. Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBs

Fabricant	Réactif	S/7225
Abbott	AxSYM HBsAg	52
	Architect HBsAg	27
	Prism HBsAg	2
Beckman (distributeur Analis)	Access HBsAg	10
	Unicel DxI HBsAg	10
bioMérieux	VIDAS HBs Ag Ultra	16
Dade Behring	Enzygnost HBsAg 5.0	1
Diasorin	LIAISON HBsAg	8
	ETI-MAK-4 (HBsAg)	2
Ortho Diagnostics	Vitros ECi HBsAg	11
Roche	Modular HBsAg	13
	Elecsys HBsAg	5
Siemens	ADVIA Centaur HBsAg	14
	Immulite HBs Ag	8
Total		179

Tableau 6.3.8. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBs

Fabricant	Réactif	S/7225
Abbott	AxSYM AUSAB	52
	Architect AUSAB	25
Beckman (distributeur Analis)	Access HBsAb	10
	Unicel DxI HBsAb	10
bioMérieux	VIDAS anti-HBs Total	16
	VIDAS anti-HBs Total Quick	2
Diasorin	LIAISON anti-HBs	10
	ETI-AB-AUK-3 (anti-HBs)	2
	LIAISON anti-HBs Plus	1
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBs	12
Roche	Modular anti-HBs	13
	Elecsys anti-HBs	5
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBs	14
	Immulite anti-HBs	9
Total		181

Tableau 6.3.9. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps totaux anti-HBc

Fabricant	Réactif	S/7225
Abbott	AxSYM CORE	48
	Architect CORE	23
	IMx Core	1
Beckman (distributeur Analis)	Access HBcAb	11
	Unicel DxI HBcAb	10
bioMérieux	VIDAS anti-HBc Total II	19
	VIDIA anti-HBc Total	2
Dade Behring	Enzygnost anti-HBc Monoclonal	1
Diasorin	LIAISON anti-HBc	11
	ETI-AB-COREK PLUS	2
	Vitros ECi anti-HBc	8
Ortho Diagnostics	Modular anti-HBc	12
Roche	Elecsys anti-HBc	4
	ADVIA Centaur HBc Total	11
Siemens	Immulite anti-HBc	7
	Total	170

Tableau 6.3.10. Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-HBc

Fabricant	Réactif	S/7225
Abbott	AxSYM CORE-M	3
bioMérieux	VIDAS HBc IgM II	2
Ortho Diagnostics	Vitros ECi anti-HBc IgM	2
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBc IgM	1
Total		8

Tableau 6.3.11. Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBe

Fabricant	Réactif	S/7225
Abbott	AxSYM HBe 2.0	22
	Architect HBeAg	12
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	36
Dade Behring	Enzygnost Hbe Monoclonal	1
Diasorin	LIAISON HBeAg	11
Ortho Diagnostics	Vitros ECi HBeAg	3
Roche	Modular HBeAg	4
Total		89

Tableau 6.3.12. Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBe

Fabricant	Réactif	S/7225
Abbott	AxSYM anti-HBe 2.0	23
	Architect anti-HBe	13
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	32
Dade Behring	Enzygnost Hbe Monoclonal	1
Diasorin	LIAISON anti-HBe	11
Ortho Diagnostics	Vitros ECI anti-HBe	2
Roche	Modular anti-HBe	4
Total		86

6.3.3.3 Résultats

Les résultats obtenus pour les différents paramètres sont présentés dans le tableau 6.3.13.

Tableau 6.3.13. Résultats pour l'échantillon S/7225

	Ag HBs ¹	Ac HBs	Ac Tot Hbc	IgM HBc	Ag HBe	Ac HBe
Positif	-	181	-	-	-	1
Borderline	1	-	-	-	-	-
Négatif	178	-	170	8	89	85
Total	179	181	170	8	89	86

¹ Le laboratoire ayant déterminé l'Ag HBs avec 2 techniques, a obtenu 2 résultats négatifs.

La plupart des résultats fournis pour les Ac HBs sont des résultats quantitatifs censurés ; certains laboratoires ont toutefois dilué les échantillons. Vous trouvez ci-dessous un aperçu de ces résultats quantitatifs :

- Architect AUSAB:
 - o 16 laboratoires: > 1000 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 999 mIU/ml
 - o 8 laboratoires ont effectué une dilution:
 - médiane: 9276.5 mIU/ml
 - minimum: 8437 mIU/ml
 - maximum: 10285 mIU/ml
- Axsym AUSAB:
 - o 40 laboratoires: > 1000 mIU/ml
 - o 12 laboratoires ont effectué une dilution:
 - médiane: 14153 mIU/ml
 - minimum: 594 mIU/ml
 - maximum: 22029.6 mIU/ml
- Access HBsAb:
 - o 2 laboratoires: > 493 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 500 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 508 mIU/ml
 - o 4 laboratoires: > 538 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 545 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: 4642 mIU/ml
- Unicel DxI HBsAb:
 - o 1 laboratoire: > 493 mIU/ml
 - o 2 laboratoires: > 508 mIU/ml
 - o 4 laboratoires: > 538 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 5380 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: 4934 mIU/ml
- Vidas anti-HBs Total:
 - o 12 laboratoires: > 500 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 5000 mIU/ml
 - o respectivement 6639, 7400 et 7566 mIU/ml par trois laboratoires différents
- Liaison anti-HBs:
 - o 11 laboratoires: > 1000 mIU/ml

- Vitros ECI anti-HBs:
 - o 9 laboratoires: > 1000 mIU/ml
 - o 1 laboratoire: > 999 mIU/ml
 - o respectivement 9880 et 11300 mIU/ml par deux laboratoires différents
- Elecsys anti-HBs:
 - o 2 laboratoires: > 1000 mIU/ml
 - o respectivement 14348, 14483 et 14518 mIU/ml par trois laboratoires différents
- Modular anti-HBs:
 - o 2 laboratoires: > 1000 mIU/ml
 - o respectivement 13979, 14379 et 15295 mIU/ml par trois laboratoires différents
- ADVIA Centaur anti-HBs
 - o 10 laboratoires: > 1000 mIU/ml
 - o 3 laboratoires: > 100 (2 laboratoires ont mentionné l'unité « indice » et 1 l'unité mIU/ml)
 - o 1 laboratoire: 10140
- Immulite anti-HBs
 - o 9 laboratoires: > 2000 mIU/ml

Etant donné que les paramètres autres que les Ac HBs étaient négatifs, une évaluation statistique n'est pas utile.

Les interprétations proposées sont présentées dans le tableau 6.3.14.

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation «Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B» (code O2).

Tableau 6.3.14. Interprétations pour l'échantillon S/7225

Interprétation	Nombre de Laboratoires
Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B	173
Immunité par infection naturelle par le virus HBV ¹	1
Immunité ²	2
Immunité; si la patiente ne se rappelle pas être vaccinée: contrôle des transaminases et du statut d'hépatite B à l'occasion ³	1
Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B Ou	
Immunité par infection naturelle par le virus HBV ⁴	2
Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B Ou	
Immunité par infection naturelle par le virus HBV car le laboratoire n'a pas déterminé les Ac HBc ⁵	1
Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B Ou	
Immunité par infection naturelle par le virus HBV car le laboratoire n'a pas déterminé les Ac HBc, l'Ag HBe ou les Ac HBe ⁶	1
Pas d'interprétation possible vu que la sérologie est incomplète ⁷	1
Ag HBs négatif; interprétation impossible car c'est le seul test qui est effectué au laboratoire ⁸	1
Total	183

¹ Cette réponse a été fournie par un laboratoire qui a déterminé les Ac HBs

² Ces réponses ont été fournies par 2 laboratoires qui ont déterminé l'Ag HBs, les Ac HBs et les Ac HBc

³ Cette réponse a été fournie par un laboratoire qui a déterminé l'Ag HBs, les Ac HBs, les Ac HBc, l'Ag HBe et les Ac HBe

⁴ Ces réponses ont été fournies par 2 laboratoires qui ont déterminé l'Ag HBs, les Ac HBs, les Ac HBc, l'Ag HBe et les Ac HBe

⁵ Cette réponse a été fournie par un laboratoire qui a déterminé l'Ag HBs, les Ac HBs et l'Ag HBe

⁶ Cette réponse a été fournie par un laboratoire qui a déterminé l'Ag HBs et les Ac HBs

⁷ Cette réponse a été fournie par un laboratoire qui a déterminé l'Ag HBs et les Ac HBc

⁸ Cette réponse a été fournie par un laboratoire qui a déterminé l'Ag HBs

141 des laboratoires ayant répondu « Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B », ont mentionné une remarque. Ces remarques sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.3.15. Remarques proposées pour l'échantillon S/7225 par les laboratoires ayant répondu «Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B».

Remarques	Nombre de Laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	140
Nouveau prélèvement après 3 semaines	1
Total	141

6.3.4 Commentaires sur les résultats de l'enquête (Hépatites A et B)

Les échantillons envoyés dans l'enquête EEQ de sérologie ont posé peu de problèmes. A quelques exceptions près, tous les laboratoires ont fourni des résultats et interprétations corrects. Les remarques que nous pouvons donner, concernent plus le choix des tests que les résultats ou l'interprétation.

Afin de déterminer l'immunité au virus de l'hépatite A, il faut déterminer les anticorps IgG ou les anticorps totaux. Contrairement au virus de l'hépatite B, il est impossible d'établir si la personne a acquis son immunité après vaccination ou après une infection.

Chez un patient asymptomatique, un résultat positif pour les anticorps totaux indique le plus souvent la présence des IgG seules. En cas de doute le résultat des IgM permet d'exclure une infection aiguë.

Pour contrôler l'immunité, la détermination des IgM seules n'est pas suffisante.

L'immunité contre le virus de l'hépatite B est contrôlée par la recherche des anticorps anti-HBs. Le résultat de ce test fournit une information au sujet de l'immunité du patient sans plus. La présence ou l'absence des anticorps anti-HBc permet de savoir si l'immunité a été obtenue suite à une infection (AcHBs +, AcHBc +) ou suite à une vaccination (AcHBs +, AcHBc-). Il est possible (mais peu fréquent) qu'à long terme les anticorps anti-HBs ne soient plus détectables et qu'on ne retrouve donc que les anticorps anti-HBc.

Le patient dont provenait l'échantillon EEQ présentait une immunité suite à une vaccination.

Quand un patient se présente à la consultation pour la vaccination des voyageurs, on peut défendre la stratégie de ne rechercher que les anticorps anti-HBs.

Un laboratoire a fourni l'interprétation « Immunité par infection naturelle par le virus HBV » alors qu'il n'avait recherché que les anticorps anti-HBs. Deux laboratoires ont fourni l'interprétation « Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B ou Immunité par infection naturelle par le virus HBV » alors qu'ils disposaient des résultats des anticorps anti-HBc.

La plupart des laboratoires ont en plus des anticorps anti-HBs et anti-HBc également recherché l'antigène HBs. Le résultat de ce paramètre permet de détecter une infection en cours.

La moitié des laboratoires ont recherché en plus l'AgHBe et les anticorps anti-HBe alors que la question posée lors de l'enquête concernait uniquement le statut immunitaire d'un patient asymptomatique, chez qui par ailleurs l'AgHBs ne fut pas retrouvée. En routine la plupart des laboratoires ne recherchent probablement pas l'AgHBe et les anticorps anti-HBe dans de telles conditions mais à l'occasion de l'EEQ ils ont effectué un contrôle de qualité de ces paramètres.

Plusieurs laboratoires ont dilué l'échantillon afin d'obtenir un titre final. Ce titre final n'apporte aucune information supplémentaire.

Nous référons aux documents publiés par le Conseil Supérieur de la Santé. Ces documents fixent entre autres les groupes de voyageurs pour lesquels il faut procéder à une analyse d'anticorps anti-HAV afin d'éviter une vaccination. Ils fixent aussi la limite à partir de laquelle le résultat obtenu pour les

anticorps anti-HBs doit être considéré comme positif (le sujet est alors considéré comme immunisé).

[Vaccination de l'adulte contre l'Hépatite A \(2007\) \(CSS 8205\)](#)

[Vaccination de l'adulte contre l'Hépatite B \(2007\) \(CSS 8205\)](#)

via

<https://portal.health.fgov.be>

Sélectionner «Conseil supérieur de la Santé» dans la section «INSTITUTIONS APPARENTEES» puis «avis et recommandations».

Marjan Van Esbroeck, Institut de Médecine tropicale, Antwerpen