

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 02/2008

Microbiologie

Salmonella Derby
Escherichia coli
Streptococcus pneumoniae
Campylobacter coli

Parasitologie

Ascaris lumbricoides
Isospora belli

Sérologie

Rubella
HCV

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

ISP/01/08/Micro./Sero./Para. 71

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. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88
: e-mail : victor.luyasu@skynet.be
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@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

Table des matières

I.	Remarques générales	1
II.	Identifications	2
2.1	Culture M/8114 <i>Escherichia coli</i>	2
2.2	Culture M/8065 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	16
2.3	Culture M/8319 <i>Campylobacter species</i>	26
2.4	Culture M/8519 <i>Salmonella Derby</i>	30
III.	Résultats des identifications	31
IV.	Antibiogramme	34
4.1	Culture M/8065 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	34
4.2	Culture M/8114 <i>Escherichia coli</i>	44
V.	Parasitologie	55
5.1	Les échantillons	55
5.2	L'échantillon P/7434	56
5.3	L'échantillon P/8315	67
VI.	Sérologie	72
6.1	Description des échantillons	72
6.2	Rubéole	73
6.3	HCV	88

I. REMARQUES GENERALES

Pour la 2e enquête du cycle 2008 (enquête 2008/2), le matériel suivant a été expédié le 21 avril 2008.

1.1. Deux échantillons cliniques et 2 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. Quatre échantillons de plasma pour la recherche des anticorps de l'HCV et de la rubéole

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	183
2.	Pour la parasitologie :	177
3.	Pour la sérologie	
	HCV :	174
	Rubella :	166

Nous remercions Marc Lontie et Idzi Potter pour la disposition des photographies dans ce rapport global.

II. IDENTIFICATIONS

2.1. Culture M/8114 *Escherichia coli*

Cette souche est la même que celle qui a été envoyée sous le numéro M/4040 lors de l'enquête 2008/1.

Les résultats de l'antibiogramme pour l'ampicilline et l'amoxicilline-acide clavulanique après évaluation du même *Escherichia coli* dans 2 envois (2008 1 et 2)

En 2008 le même *Escherichia coli* avec une sensibilité intermédiaire à l'ampicilline et l'amoxicilline-acide clavulanique a été envoyé 2 fois dans l'EEQ belge (2008/1: M/4040; 2008/2: M/8114). La question se pose dans quelle mesure les différentes méthodes pour déterminer l'antibiogramme divergent en ce qui concerne leur réponse R/S/I.

Description de l'analyse statistique

La structure des données peut être considérée comme complexe pour différentes raisons.

En premier lieu les données ont été obtenues par l'évaluation d'un même échantillon par les laboratoires dans 2 envois différents. Nous voulons et pouvons supposer que les résultats obtenus lors des 2 envois sont comparables; cette supposition est renforcée par une autre analyse (non publiée), qui n'a pas mis en évidence de différence entre les 2 enquêtes. Cependant nous voulons nous protéger des erreurs au cas où les résultats ne correspondraient pas.

En plus, différentes méthodes ont été utilisées et nous devons donc les comparer; toutefois chaque méthode ne doit pas être comparée avec n'importe quelle autre.

Finalement les résultats appartiennent à trois catégories: S, I et R. Si nous trouvons une différence entre les méthodes au moins une des relations réciproques différera en pourcentage S/I/R. Nous voulons vérifier où se trouvent ces différences.

Le test du Chi carré est souvent utilisé pour vérifier si 2 ou plusieurs groupes différentient dans le cas où les réponses sont divisées en groupes. Nous pourrions éventuellement additionner le nombre des résultats S, I et R obtenu lors des 2 envois par méthode et effectuer Chi carré sur les différentes comparaisons des méthodes. Cependant, en agissant de cette façon, nous passons outre la complexité décrite ci-dessus.

Nous avons donc choisi d'analyser les données avec un modèle linéaire généralisé mixte (« generalized linear mixed model »). Il s'agit d'une technique plus avancée

qui peut à la fois tenir compte de la complexité mentionné ci-dessus et répondre aux questions posées.

En général on peut dire que les modèles linéaires sont utilisés si on veut vérifier la relation entre une ou plusieurs variables et une variable de réponse, ou si on veut comparer des groupes pour une variable de réponse donnée. Le terme « mixte » est utilisé pour des modèles linéaires où toutes les données ne peuvent pas être considérées comme indépendante les unes des autres. Dans ce cas on ajoute au modèle une variable aléatoire, qui décrit le regroupement des données. Dans cette étude nous comparons les méthodes pour les 2 envois groupés et nous considérons les envois comme un facteur aléatoire.

Ces modèles nous permettent également d'effectuer une comparaison des méthodes avec un test très semblable au t-test. Il faut cependant faire attention afin que l'erreur des différences significatives soit le plus faible possible.

Chaque fois que l'on effectue un t-test il existe une faible possibilité (normalement 0.05) qu'on trouve une différence significative tandis qu'en réalité il n'existe pas de différence. Si on compare différentes méthodes, la possibilité qu'une telle erreur se produise augmente très fortement. Nous nous référons à l'article de Bender et Lange (1) qui décrit clairement ce problème. Suivant cet article nous faisons attention à ce que les valeurs P soient calculées de façon à ce que le risque d'indiquer dans une des comparaisons une différence inexistante comme significative soit de 0.05 (5%).

Finalement nous devons prendre soin que le modèle puisse traiter le caractère de groupe de la variable de réponse. Les modèles linéaires mixtes sont normalement utilisés pour des variables distribuées normalement. Les modèles linéaires généralisés mixtes en sont une extension qui sont capables d'analyser également des variables de réponse qui appartiennent à d'autres distributions. Nous effectuerons donc les analyses suivantes:

Comparaison de la proportion des S vis-à-vis des R et I

Dans ce test nous comparerons le pourcentage des S vis-à-vis toutes les autres réponses entre les méthodes. Une différence significative indique une différence dans le pourcentage des réponses S. On ne peut cependant pas déterminer sur base de ces résultats si la proportion des "S" est plus élevée suite à une plus grande proportion des "R", des "I" ou des deux. La réponse à cette question peut être donnée grâce aux résultats des tableaux suivants.

Comparaison de la proportion des S vis-à-vis des I

Dans ce test nous évaluons spécifiquement les réponses S et I. Les réponses R ne sont donc pas prises en compte dans l'analyse. Si le pourcentage des S est plus bas pour une certaine méthode, ceci signifie que cette méthode a relativement plus de réponses I.

Comparaison de la proportion des S vis-à-vis des R

Nous suivons le même raisonnement que dans l'analyse précédente, mais nous n'évaluons que les réponses S et R. Si le pourcentage des S est plus bas pour une certaine méthode, ceci signifie que cette méthode a relativement plus de réponses R.

Evidemment le cas peut se produire où une méthode a plus de réponses S que de réponses I ou de réponses R. Dans ce cas il y a une différence significative aussi bien pour S vis-à-vis de I que pour S vis-à-vis de R.

Comparaison de la proportion des I vis-à-vis des R

Si deux méthodes diffèrent dans ce cas-ci, c'est un indicateur qu'il existe, dans un groupe de diagnostics qui ont plus ou moins la même signification clinique, un déplacement d'un group vers l'autre. Ce tableau sert surtout à soutenir les réponses ayant été fournies lors des questions précédentes. S'il existe par exemple pour une certaine méthode une différence claire dans la relation S/R mais pas dans la relation S/I, nous attendons une différence dans la relation R/I.

Pour finir il faut mentionner que la présence de valeurs P non significatives ne veut pas dire qu'il n'y a pas de différence. Le nombre de données de certaines méthodes est parfois insuffisamment important pour permettre de trouver facilement des différences significatives. Les valeurs P non significatives doivent donc être interprétées comme « absence d'une évidence d'une différence ».

Les tableaux suivants présentent chaque fois les pourcentages donnés aux méthodes correspondantes qui sont comparées. Notez que dans les tableaux de la comparaison de 2 groupes ces pourcentages sont pris sur une partie des données et qu'ils peuvent donc différer des pourcentages donnés dans le premier tableau, ayant été pris sur la totalité des données.

Il existe également des méthodes qui ont 0 % de données dans une certaine classe. Etant donné qu'il est impossible de diviser par 0, nous avons choisi de remplacer ces pourcentages 0 par un pourcentage très bas (0.1%) dans le calcul des valeurs P. Nous faisons une faute, qui est cependant négligeable.

Analyse pour l'ampicilline

Tableau 1: Comparaison de S vis-à-vis R et I

Méthode	% S	Valeur P
Neosensitabs charges Neosensitabs / Neosensitabs charges CLSI	9.86 / 0	0.8628
Sirscan charges Neosensitabs / Sirscan charges CLSI	7.69 / 0	0.9893
papier charges CLSI / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
papier charges CLSI / Sirscan charges CLSI	0 / 0	1
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 9.86	0.0294
papier charges CLSI / Osiris	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 / papier charges CLSI	0 / 0	1
Phoenix / papier charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
Phoenix / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 9.86	0.0612
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 9.86	0.0002
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 9.86	0.5655

Il existe 2 méthodes qui indiquent la souche d'*E. coli* comme S: Neosensitabs, charges Neosensitabs et Sirscan, charges Neosensitabs. Le seul groupe avec lequel le Sirscan, charges Neosensitabs est comparé est le Sirscan charges CLSI.

Nous n'avons que 4 données de ce dernier groupe, ce qui peut expliquer la valeur P non significative.

Les disques Neosensitabs avec charges Neosensitabs ont une différence nettement significative des résultats du Vitek 2 et des disques en papier avec charges CLSI, et légèrement significative des résultats du Vitek 2 Compact.

Tableau 2: Comparaison de S vis-à-vis I

Méthode	% S	Valeur P
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 25	0.7982
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 / papier charges CLSI	0 / 0	1
Phoenix / papier charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 25	0.0083
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 25	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 25	0.189

Il existe des groupes où il n'y a pas eu de rapportage de S ni de I (Neosensitabs charges CLSI, Osiris, Sirscan charges CLSI) et pour lesquels il n'y a donc pas de données. Les comparaisons avec ces groupes ne peuvent donc pas être effectuées. Les disques Neosensitabs avec charges Neosensitabs ont un pourcentage significativement plus élevé de résultats S que de résultats I par rapport au Vitek 2 Compact et au Vitek 2.

Tableau 3: Comparaison de S vis-à-vis R

Méthode	% S	Valeur P
Neosensitabs charges Neosensitabs / Neosensitabs charges CLSI	14 / 0	0.8595
Sirscan charges Neosensitabs / Sirscan charges CLSI	10 / 0	0.9906
papier charges CLSI / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
papier charges CLSI / Sirscan charges CLSI	0 / 0	1
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 14	0.0359
papier charges CLSI / Osiris	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 / papier charges CLSI	0 / 0	1
Phoenix / papier charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
Phoenix / Neosensitabs charges CLSI	0 / 0	1
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 14	0.5966
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 14	0.152
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 14	0.9668

La différence significative, retrouvée dans le premier tableau pour la comparaison entre papier, CLSI et Neosensitabs, charges Neosensitabs, semble être provoquée par un déplacement de R vers S.

Tableau 4: Comparaison de I vis-à-vis R

Méthode	% I	Valeur P
Neosensitabs charges Neosensitabs / Neosensitabs charges CLSI	32.81 / 0	0.9655
Sirscan charges Neosensitabs / Sirscan charges CLSI	25 / 0	0.9985
papier charges CLSI / Neosensitabs charges CLSI	5.45 / 0	0.9989
papier charges CLSI / Sirscan charges CLSI	5.45 / 0	0.9999
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	5.45 / 32.81	0.0016
papier charges CLSI / Osiris	5.45 / 0	0.9946
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	65.22 / 5.45	<0.0001
Vitek 2 / papier charges CLSI	59.72 / 5.45	<0.0001
Phoenix / papier charges CLSI	70.59 / 5.45	<0.0001
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges CLSI	65.22 / 0	0.8647
Vitek 2 / Neosensitabs charges CLSI	59.72 / 0	0.8847
Phoenix / Neosensitabs charges CLSI	70.59 / 0	0.8415
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	65.22 / 32.81	0.003
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	69.35 / 32.81	0.0008
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	70.59 / 32.81	0.0311

Le Vitek 2 Compact, Vitek 2 et Phoenix semblent donner un "score" plus élevé pour I que pour R, tandis que pour les disques en papier, CLSI c'est l'opposé. Ceci confirme les résultats précédents.

Conclusion pour l'ampicilline

Le seul groupe où on trouve des valeurs S significativement plus élevées, est le groupe des disques Neosensitabs avec charges Neosensitabs (tableaux 1, 2, 3, 9 et 10). Les différences sont claires pour les disques en papier avec charges CLSI, le Vitek 2 Compact et le Vitek 2. En comparaison avec le Vitek 2 il existe une augmentation du nombre de résultats S vis-à-vis aussi bien des R que des I, en comparaison avec le Vitek 2 Compact surtout vis-à-vis des résultats I et en comparaison avec les disques en papier surtout vis-à-vis des résultats R.

Analyse pour l'amoxicilline-acide clavulanique

Tableau 5: Comparaison de S vis-à-vis R et I

Méthode	% S	Valeur P
Neosensitabs charges Neosensitabs / Neosensitabs charges CLSI	76.62 / 63.64	0.9718
Sirscan charges Neosensitabs / Sirscan charges CLSI	100 / 83.33	0.9869
papier charges CLSI / Neosensitabs charges CLSI	33.96 / 63.64	0.4242
papier charges CLSI / Sirscan charges CLSI	33.96 / 83.33	0.1926
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	33.96 / 76.62	<0.0001
papier charges CLSI / Osiris	33.96 / 66.67	0.1724
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	4.55 / 33.96	0.0032
Vitek 2 / papier charges CLSI	1.59 / 33.96	<0.0001
Phoenix / papier charges CLSI	0 / 33.96	0.8809
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges CLSI	4.55 / 63.64	0.0002
Vitek 2 / Neosensitabs charges CLSI	1.59 / 63.64	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs charges CLSI	0 / 63.64	0.671
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	4.55 / 76.62	<0.0001
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	1.59 / 76.62	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 76.62	0.5254

La proportion des réponses S semble être significativement plus grande pour les disques Neosensitabs (aussi bien les charges CLSI que les charges Neosensitabs), et pour les disques en papier avec charges CLSI. Les différences sont significatives entre disques en papier, charges CLSI et disques Neosensitabs, charges Neosensitabs ; et également entre les disques en papier et les disques Neosensitabs d'un coté et les Vitek 2 Compact et Vitek 2 de l'autre.

Tableau 6: Comparaison de S vis-à-vis I

Méthode	% S	Valeur P
Neosensitabs charges Neosensitabs / Neosensitabs charges CLSI	80.82 / 63.64	0.8499
Sirscan charges Neosensitabs / Sirscan charges CLSI	100 / 83.33	0.9871
papier charges CLSI / Neosensitabs charges CLSI	40.91 / 63.64	0.7859
papier charges CLSI / Sirscan charges CLSI	40.91 / 83.33	0.3802
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	40.91 / 80.82	0.0001
papier charges CLSI / Osiris	40.91 / 66.67	0.5023
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	5.13 / 40.91	0.0015
Vitek 2 / papier charges CLSI	1.69 / 40.91	<0.0001
Phoenix / papier charges CLSI	0 / 40.91	0.8605
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges CLSI	5.13 / 63.64	0.0005
Vitek 2 / Neosensitabs charges CLSI	1.69 / 63.64	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs charges CLSI	0 / 63.64	0.7093
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	5.13 / 80.82	<0.0001
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	1.69 / 80.82	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 80.82	0.5222

La différence entre Vitek 2 Compact, Vitek 2 et les disques en papier et Neosensitabs est totalement expliquée dans la relation entre S et I. Ceci veut dire que pour les disques en papier et Neosensitabs, en comparaison avec les Vitek 2 Compact et Vitek 2, la proportion plus grande des S est au détriment d'une proportion plus petite en I. Nous constatons le même fait pour la comparaison entre les disques en papier avec charge CLSI et les disques Neosensitabs avec charges Neosensitabs.

Tableau 7: Comparaison de S vis-à-vis R

Méthode	% S	Valeur P
Neosensitabs charges Neosensitabs / Neosensitabs charges CLSI	93.65 / 100	0.9992
Sirscan charges Neosensitabs / Sirscan charges CLSI	100 / 100	1
papier charges CLSI / Neosensitabs charges CLSI	66.67 / 100	0.9721
papier charges CLSI / Sirscan charges CLSI	66.67 / 100	0.99
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	66.67 / 93.65	0.0011
papier charges CLSI / Osiris	66.67 / 100	0.9175
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	28.57 / 66.67	0.2015
Vitek 2 / papier charges CLSI	20 / 66.67	0.0291
Phoenix / papier charges CLSI	0 / 66.67	0.9997
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges CLSI	28.57 / 100	0.8522
Vitek 2 / Neosensitabs charges CLSI	20 / 100	0.8094
Phoenix / Neosensitabs charges CLSI	0 / 100	0.9905
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	28.57 / 93.65	<0.0001
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	20 / 93.65	<0.0001
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	0 / 93.65	0.9977

Nous remarquons également une différence entre les disques Neosensitabs avec charges Neosensitabs et aussi bien les Vitek 2 et Vitek 2 Compact que les disques en papier ; cette différence est marquée par un « S » plus grand et donc un « R » plus petit pour ce type de disques Neosensitabs.

Tableau 8: Comparaison de I vis-à-vis R

Méthode	% S	Valeur P
Neosensitabs charges Neosensitabs / Neosensitabs charges CLSI	77.78 / 100	0.9989
papier charges CLSI / Neosensitabs charges CLSI	74.29 / 100	0.9985
papier charges CLSI / Sirscan charges CLSI	74.29 / 100	1
papier charges CLSI / Neosensitabs charges Neosensitabs	74.29 / 77.78	1
papier charges CLSI / Osiris	74.29 / 100	0.9969
Vitek 2 Compact / papier charges CLSI	88.1 / 74.29	0.6067
Vitek 2 / papier charges CLSI	93.55 / 74.29	0.0196
Phoenix / papier charges CLSI	94.12 / 74.29	0.4957
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges CLSI	88.1 / 100	0.9997
Vitek 2 / Neosensitabs charges CLSI	93.55 / 100	0.9999
Phoenix / Neosensitabs charges CLSI	94.12 / 100	0.9999
Vitek 2 Compact / Neosensitabs charges Neosensitabs	88.1 / 77.78	0.933
Vitek 2 / Neosensitabs charges Neosensitabs	93.55 / 77.78	0.2813
Phoenix / Neosensitabs charges Neosensitabs	94.12 / 77.78	0.7461

Il n'y a presque pas de différences dans la relation entre I et R. Seul le Vitek 2 a une très grande proportion I vis-à-vis R en comparaison avec les disques en papier avec charges CLSI.

Conclusion pour l'amoxicilline-acide clavulanique

Trois méthodes ont une proportion significativement plus élevée pour les "S" que les autres méthodes: les disques en papier avec charges CLSI, les disques Neosensitabs avec charges CLSI et les disques Neosensitabs avec charges Neosensitabs (tableaux 5, 6, 7, 9 et 10).

Uniquement pour les disques Neosensitabs avec charges CLSI (tableaux 5 et 6) l'augmentation des « S » n'est au détriment que des « I ». Pour toutes les autres méthodes l'augmentation des « S » est au détriment d'aussi bien les « R » que les « I », à l'exception d'une différence non significative entre le Vitek 2 Compact et les disques en papier.

Discussion

Le tableau 9 résume les différences significatives des tableaux 1 jusque 8. Le tableau 10 montre les résultats de l'ampicilline et l'amoxicilline-acide clavulanique pour les 4 méthodes avec le plus grand nombre de participants. Il est logique que nous trouvions surtout des différences significatives chez les groupes les plus grands (tableaux 9 et 10). Globalement nous constatons également plus de différences significatives pour l'amoxicilline-acide clavulanique (19) que pour l'ampicilline (12). Il semble logique que les étalonnages d'un antibiotique à 2 composants (amoxicilline-acide clavulanique) soient plus difficiles comparé à un antibiotique à un composant (ampicilline).

Pour l'ampicilline et encore plus pour l'amoxicilline-acide clavulanique les disques Rosco Neosensitabs étalonnés selon Neosensitabs donnent le plus grand nombre de résultats « sensibles ». Cette tendance pour l'amoxicilline-acide clavulanique a déjà été remarquée avec *Escherichia coli* ATCC 35218 (producteur d'une pénicillinase) lors de l'enquête 1999/2 et pour amoxicilline-acide clavulanique et l'ampicilline avec *Escherichia coli* ATCC 25922 (sensible à l'ampicilline et l'amoxicilline-acide clavulanique) lors de l'enquête 2001/2.

Le tableau 10 permet de déduire d'autres tendances. Pour chaque méthode la classe avec le plus grand nombre de réponses est marquée en jaune. Aussi bien le Vitek2 que le Vitek 2 compact obtiennent surtout des résultats « I » pour l'ampicilline, tandis que les disques (CLSI et Neosensitabs) obtiennent plutôt des résultats « R ». Les différences sont significatives. Pour l'amoxicilline-acide clavulanique, la tendance « S » pour les disques Neosensitabs vis-à-vis « I » pour les 3 autres (disques en papier CLSI, Vitek2 et Vitek 2 compact) est également significative. Pour l'ampicilline uniquement, le Phoenix a un nombre relatif de résultats « I » significativement plus élevé que les Neosensitabs à charges Neosensitabs.

La valeur CMI la plus mentionnée par les appareils Vitek 2, Vitek 2 compact et Phoenix (les 3 méthodes avec le plus grand nombre de résultats des CMI) est 16 mg/l aussi bien pour l'ampicilline que pour l'amoxicilline-acide clavulanique ; et ceci est vrai pour les 2 enquêtes (M/4040 en M/8114) (cfr. les chapitres 4: Antibiogramme des 2 enquêtes (4.2. Culture M/4040 (*Escherichia coli*) (enquête 2008/1) et 4.2. Culture M/8114 (*Escherichia coli*) (enquête 2008/2)). Cette constatation nous permet de supposer que cet *E. coli* a une sensibilité intermédiaire aussi bien pour l'amoxicilline-acide clavulanique que pour l'ampicilline. Sur base de ces valeurs CMI identiques pour l'amoxicilline-acide clavulanique et

l'ampicilline nous pouvons également supposer que cette souche ne dispose pas ou pas seulement d'une pénicillinase type TEM-1, mais probablement d'un (ou des) autre(s) mécanisme(s) de résistance aux β -lactamines.

Il est logique que quand on teste une souche avec des sensibilités intermédiaires pour l'amoxicilline-acide clavulanique et l'ampicilline ces différences (mineures, S-I ou I-R) soient retrouvées.

Tableau 9: Différences significatives

	S vs R et I	S vs I	S vs R	I vs R
ampicilline	pap. CLSI / Neo-Neo Vitek2 / Neo-Neo	Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo Neo-Neo / Vitek2 Neo-Neo / VitekComp Neo-Neo / Phoenix pap. CLSI/ Vitek2 pap. CLSI/ VitekComp pap. CLSI/ Phoenix
amoxicilline-acide clavulanique	pap. CLSI / Neo-Neo VitekComp / pap. CLSI Vitek2 / pap. CLSI VitekComp/ Neo-CLSI Vitek2 / Neo-CLSI Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo Vitek2 / pap. CLSI VitekComp / pap. CLSI VitekComp/ Neo-CLSI Vitek2 / Neo-CLSI Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	pap. CLSI / Neo-Neo Vitek2 / pap. CLSI Vitek2 / Neo-Neo VitekComp / Neo-Neo	pap. CLSI / Vitek2

Tableau 10: Différences significatives

<i>Escherichia coli</i>	M/4040				M/8114			
	n	S	I	R	n	S	I	R
ampicilline								
papier CLSI	28	0	2	26	27	0	1	26
Neosensitabs- charges Neosen.	38	5	12	21	33	2	9	22
Vitek2	61	0	46	15	63	0	40	23
Vitek 2 compact	21	0	15	6	25	0	15	10
Phoenix	8	0	6	2	9	0	6	3
amoxicilline-acide clavulanique								
papier CLSI	26	8	14	4	27	10	12	5
Neosensitabs- charges Neosen.	41	28	9	4	36	31	5	0
Vitek2	62	1	57	4	64	1	59	4
Vitek 2 compact	20	0	18	2	24	2	19	3
Phoenix	8	0	8	0	9	0	8	1

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

REFERENCES

1. Bender R., Lange S. 2001. Adjusting for multiple testing - when and how? *Journal of Clinical Epidemiology* 54:343-349.
2. Lontie M. Evaluation externe des analyses en Biologie Clinique, enquête Microbiologie 2/1999 (M/1498).
3. Lontie M. Evaluation externe des analyses en Biologie Clinique, enquête Microbiologie 2/2001 (M/2259).

2.2. Culture M/8065 *Streptococcus pneumoniae*

La souche M/8065 était un *Streptococcus pneumoniae* du groupe capsulaire 11. L'identification n'a posé aucun problème: les 183 laboratoires participants ont identifié correctement la souche.

Le pourcentage de réponses correctes pour l'antibiogramme était également très élevé. Le tableau 1 présente l'aperçu des résultats pour les différents antibiotiques. Le grand nombre de différentes quinolones qui a été utilisé est remarquable. Dans ce cas-ci, la meilleure attitude serait de choisir une fluoroquinolone dont les concentrations limites (breakpoints) ont été établies par le CLSI ou l'EUCAST. Le CLSI n'a par exemple pas de breakpoints pour la ciprofloxacine et la norfloxacine.

Les utilisateurs des disques papier suivant les directives CLSI (tableau 2), de disques Neosensitabs suivant les directives de Rosco (tableau 3) ou CLSI (tableau 4) ont tous obtenu sans exception de bons résultats. La détermination des CMI pour les β -lactamines n'était pas nécessaire pour cette souche étant donné les zones d'inhibition ≥ 20 mm avec le disque d'oxacilline de 1 μ g.

35 laboratoires ont effectué la détermination de la CMI avec l'E-test (32x) ou le MIC-Evaluator (3x). Tous ces laboratoires ont répondu que la souche était sensible. Les résultats obtenus avec le Vitek (43x) et le Phoenix (6x) étaient également excellents pour la pénicilline, l'érythromycine, la tétracycline et les différentes fluoroquinolones.

Sur base des données du laboratoire de référence national pour *S. pneumoniae* nous pouvons conclure qu'en Belgique une évolution favorable pour la sensibilité aux antibiotiques des souches invasives est être constatée. Le tableau 5 et la figure 1 présentent un aperçu de l'évolution des pourcentages de résistances pour les 4 antibiotiques de référence. Une sensibilité diminuée pour la pénicilline avait été retrouvée en 2000 dans 17.6% des souches évaluées et uniquement dans 10% des souches en 2007. Pour l'érythromycine et pour la tétracycline nous avons également constaté une diminution significative des pourcentages de résistance.

Actuellement nous utilisons dans le cadre de la surveillance les critères du CLSI pour les « souches de méningite » ($S \leq 0.06 \mu\text{g/ml}$, $I: 0.12 - 1 \mu\text{g/ml}$, $R: \geq 2 \mu\text{g/ml}$). En juillet 2007 le CLSI a cependant proposé au FDA d'entreprendre l'action suivante "...the newly approved CLSI nonmeningitis breakpoints for penicillin parenteral are susceptible $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, $I: 4 \mu\text{g/ml}$ and resistant $\geq 8 \mu\text{g/ml}$. Breakpoints for penicillin V potassium for oral administration are the same as the meningitis breakpoints..." (1). La plus récente publication officielle du CLSI (Table 2G, M7-MIC, Vol 28 N° 1, January 2008) indique également que les isolats « non-méningite » avec une CMI $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ peuvent être répondus comme sensibles à

l'ampicilline (parentéral), à l'amoxicilline, à l'amoxicilline-acide clavulanique, au céfotaxime, à la ceftriaxone et au céfépime. Pour les carbapénèmes il faut par contre tenir compte d'une CMI pour la pénicilline de $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$. L'utilisation du disque d'oxacilline de $1 \mu\text{g}$ reste en vigueur pour le dépistage d'une éventuelle résistance à la pénicilline.

L'Eucast utilise pour la pénicilline les anciens breakpoints du CLSI ($S \leq 0.06 \text{ mg/L}$, $R > 2 \text{ mg/L}$) et pour l'amoxicilline et l'ampicilline ($S \leq 0.5 \text{ mg/L}$, $R > 2 \text{ mg/L}$) (3). En note du tableau l'on trouve cependant une explication où l'on insiste sur l'utilisation de la pénicilline dans le contexte de pneumonie pour autant que la souche n'ait pas une CMI $> 2 \text{ mg/L}$ "...In pneumonia, strains with MIC $\leq 0.5 \text{ mg/L}$ should be regarded as susceptible to penicillin at doses of at least $1.2 \text{ g} \times 4$, with MIC $\leq 1 \text{ mg/L}$ at doses of $2.4 \text{ g} \times 4$ or $1.2 \text{ g} \times 6$ and strains with MIC $\leq 2 \text{ mg/L}$ susceptible at doses of $2.4 \text{ g} \times 6$. Meningitis isolates with MIC above 0.06 mg/L should be categorized resistant to penicillin. For other indications breakpoints of $0.06/2 \text{ mg/L}$ are valid..." La transition vers les directives de l'EUCAST, prévue à ce jour pour janvier 2010, aura donc pour conséquence un changement dans l'interprétation de l'antibiogramme pour *S. pneumoniae*.

En 2007, 172 des 1728 souches examinées dans le laboratoire de référence avaient une CMI $\geq 0.06 \mu\text{g/ml}$ pour la pénicilline. Parmi celles-ci, 8 souches provenaient du liquide céphalo-rachidien ; les 164 autres souches ayant été isolées à partir d'autres sites. Deux de ces 164 souches avaient une CMI de $3 \mu\text{g/ml}$, les autres 162 souches avaient des CMI entre 0.12 et $2 \mu\text{g/ml}$ et elles doivent donc être considérées comme sensibles selon les directives actuelles du CLSI.

Il faut encourager le fait de rendre le résultat de la pénicilline suivant les nouveaux breakpoints parce que cela peut contribuer à une utilisation plus fréquente de la pénicilline et de l'amoxicilline, épargnant ainsi les céphalosporines de troisième génération et les fluoroquinolones respiratoires.

L'évolution favorable de la résistance aux antibiotiques n'est pas seulement mise en évidence en Belgique mais aussi dans d'autres pays d'Europe occidentale. L'explication de cette évolution est basée sur une combinaison de différents facteurs tels que la réduction de la consommation d'antibiotiques (surtout dans la pratique ambulatoire) et l'implémentation généralisée du vaccin conjugué 7-valent contre les pneumocoques. Quelques sérotypes multirésistants et fréquemment retrouvés (14, 19F, 6B, 23F et 9V) ont été inclus dans ce vaccin. Grâce à la vaccination des nourrissons qui est effectuée aux Etats-Unis depuis 2000 le nombre d'infections invasives à pneumocoques de types capsulaires inclus dans le vaccin a été réduit de 99% chez les enfants < 2 ans. On a également constaté une

réduction significative chez les adultes sur base de l' « immunité focale » (4). En Belgique également, où le vaccin est remboursé depuis janvier 2007, on retrouve chez les enfants de moins de 2 ans une réduction significative du nombre d'infections invasives à pneumocoques mais pas chez les enfants de 2 - 4 ans (5). Le remplacement par les types capsulaires qui ne sont pas inclus dans le vaccin est sujet à controverse. Les anticorps contre le type capsulaire 19 F (qui est inclus dans le vaccin conjugué 7- valent) ne protègent certainement pas contre le type capsulaire 19A. Le nombre d'infections par le type 19A augmente de façon importante dans un grand nombre de pays où la couverture vaccinale est raisonnable. (6). Le nombre d'infections par les sérotypes 1 et 7F augmente également dans ces régions. En Belgique l'augmentation des sérotypes 19A et 1 était déjà en cours avant la vaccination généralisée chez les nourrissons (7).

J. Verhaegen et K. Vernelen

Tableau 1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de résultats	S	S/I	I	R	*
Pénicilline	S	176	172	-	2	1	1 ¹
Erythromycine	S	174	170	1	1	1	1 ¹
Clarithromycine ²	S	2	2	-	-	-	-
Clindamycine	S	112	111	-	1	-	-
Tétracycline	S	136	133	-	-	2	1 ¹
Doxycycline ³	S	20	20	-	-	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacin	S	27	24	-	2	1	-
Gatifloxacin	S	1	1	-	-	-	-
Lévofoxacin	S	49	49	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	68	68	-	-	-	-
Norfloxacine	S	2	-	-	-	2	-
Ofloxacine	S	33	31	-	1	-	1 ¹
Sparfloxacine	S	1	1	-	-	-	-
"Quinolone" ⁴	S	2	2	-	-	-	-

¹ Un laboratoire a fourni les valeurs de CMI pour la pénicilline, l'érythromycine, la tétracycline et l'ofloxacine mais pas l'interprétation qualitative.

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

³ Un certain nombre de laboratoires ont testé la doxycycline au lieu de la tétracycline.

⁴ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Tableau 2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	(32)				31	-	-	1 ¹
	20	Oxa 1 ²	25	21 - 32	19	-	-	1 ¹
	3	6 ³	32	32 - 40	3	-	-	-
	4	10 ³	32	30 - 40	4	-	-	-
Erythromycine	29 (32)	15	26	22 - 38	32	-	-	-
Clarithromycine	2 (2)	15	26	25 - 27	2	-	-	-
Clindamycine	29 (32)	2	23	18 - 34	31	1	-	-
Tétracycline	23 (27)	30	27	23 - 35	27	-	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	34	23 - 34	3	-	-	-
Quinolones								
Ciprofloxacine	6 (7)	5	20	15 - 20	5	1	1	-
Lévofloxacine	4 (5)	5	23	19 - 25	5	-	-	-
Moxifloxacine	12 (13)	5	25	19 - 32	13	-	-	-
Ofloxacine	8 (8)	5	18	16 - 22	8	-	-	-

¹ Un laboratoire nous a fourni le diamètre obtenu avec les disques en papier mais a renvoyé au résultat de l'E-test ("S") pour connaître le résultat final.

² La plupart des utilisateurs de cette technique ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide du disque d'oxacilline avec une charge de $1\mu\text{g}/\text{disque}$. Un de ces laboratoires a obtenu un diamètre > 20 .

³ Quelques laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline avec des charges de 6 ou 10 U/disque.

Tableau 3. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge Neosensitabs) pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	S/I	I	R
Pénicilline ¹	(47)				47	-	-	-
	24	Oxa 1 ²	29	20 - 32	24	-	-	-
	15	5 ³	38	30 - 42	15	-	-	-
Erythromycine ⁴	44 (54)	78	32	20 - 43	52	1	1	-
Clindamycine ⁵	38 (47)	25	32	25 - 47	47	-	-	-
Tétracycline ⁶	24 (37)	80	34	26 - 42	36	-	-	1
Doxycycline ⁷	10 (11)	80	31	28 - 38	11	-	-	-
Quinolones								
Ciprofloxacine ⁸	13 (15)	10	25	20 - 36	15	-	-	-
Lévofloxacine	9 (10)	5	24	21 - 28	10	-	-	-
Moxifloxacine ⁹	11 (15)	5	26	20 - 50	15	-	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	13	13 - 13	-	-	-	1
Ofloxacine ¹⁰	10 (11)	10	22	20 - 25	11	-	-	-
Quinolone	- (1)	-	-	-	1	-	-	-

¹ Pour le disque d'oxacilline avec une charge de 1 μg un laboratoire a mentionné un diamètre > 20 mm. Et un autre laboratoire un diamètre > 30 mm. Pour le disque de pénicilline avec une charge de 5 U, 2 laboratoires ont mentionné un diamètre > 30 mm.

² La plupart des utilisateurs de cette technique ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide du disque d'oxacilline avec une charge de 1 $\mu\text{g}/\text{disque}$.

³ Quelques laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline avec une charge de 5 U/ disque.

⁴ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 28 mm. et 3 laboratoires un diamètre > 30 mm.

⁵ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 28 mm. et 4 laboratoires un diamètre > 30 mm.

⁶ En outre 3 laboratoires ont mentionné un diamètre > 30 mm. Le laboratoire ayant répondu "R", a constaté une "surcroissance" dans la zone sensible après 24h.

⁷ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 26 mm.

⁸ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 30 mm.

⁹ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 18 mm.

¹⁰ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 30 mm.

Tableau 4. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	(5)				5	-	-
	3	Oxa ¹	32	27 - 36	3	-	-
	2	10 ²	36	32 - 40	2	-	-
Erythromycine	7 (7)	15	28	22 - 34	7	-	-
Clindamycine	6 (6)	2	24	21 - 32	6	-	-
Tétracycline	2 (2)	30	29	26 - 32	2	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	30	29 - 36	3	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	29	28 - 30	2	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	12	12 - 12	-	-	1
Ofloxacine	1 (1)	5	18	18 - 18	1	-	-

¹ La plupart des utilisateurs de cette technique ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide du disque d'oxacilline avec une charge de $1\mu\text{g}/\text{disque}$.

² Quelques laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline avec une charge de 10 U/ disque.

Tableau 5. Pneumocoques. Evolution de la résistance aux antibiotiques.*

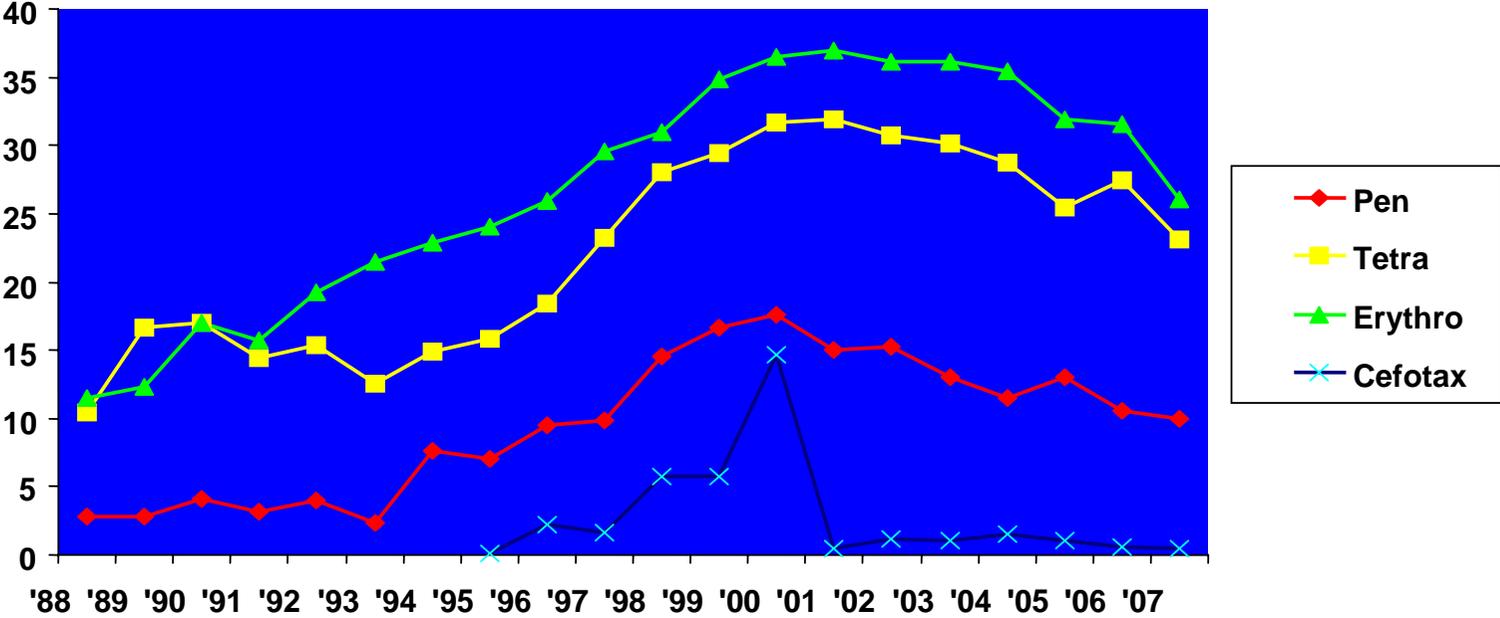
	1987 N=433 (%)	1988 N=382 (%)	1989 N=520 (%)	1990 N=540 (%)	1991 N=536 (%)	1992 N=552 (%)	1993 N=641 (%)	1994 N=751 (%)	1995 N=992 (%)	1996 N=1289 (%)	1997 N=1241 (%)
Pénicilline G**	12 (2.7)	5(1.3)	15(2.8)	22(4.1)	17(3.2)	22(4.0)	15(2.3)	57(7.6)	70(7.1)	122 (9.5)	124(10)
Tétracycline	73(16.8)	40(10.4)	87(16.7)	92(17.0)	77(14.4)	85(15.4)	81(12.6)	112(14.9)	157(15.8)	237 (18.4)	288(23.2)
Ofloxacin									4(0.4)		3(0.2)
Erythromycine	36(8.3)	44(11.5)	64(12.3)	92(17.0)	84(15.7)	106(19.2)	138(21.5)	171(22.9)	239(24.1)	334 (25.9)	355(28.6)

	1998 N=1205 (%)	1999 N=1216 (%)	2000 N=1218 (%)	2001 N=1427 (%)	2002 N=1542 (%)	2003 N=1917 (%)	2004 N=1744 (%)	2005 N= 1737 (%)	2006 N=1609 (%)	2007 N=1726 (%)
Pénicilline G**	171(14.2)	202(16.5)	215(17.6)	214(15)	234(15.1)	249(13)	202(11.6)	226(13)	169 (10.5)	172(10)
Tétracycline	338(28.0)	359(29.4)	386(31.7)	431(30.2)	474(30.7)	580(30.2)	501(28.7)	443(25.5)	443 (27.5)	398(23.1)
Ofloxacin	2(0.1)	6(0.5)	4(0.3)	2(0.1)	7(0.5)	10(0.5)	11(0.6)	17(1)	10 (0.6)	9(0.5)
Erythromycine	374(31.0)	425(34.8)	445(36.5)	523(36.6)	557(36.1)	692(36.1)	618(35.4)	554(31.9)	508 (31.6)	449(26)

* selon les critères du CLSI

** aussi bien les souches intermédiaires - que les souches complètement résistantes

Figure 1 Evolution de la résistance aux antibiotiques



REFERENCES

1. Division of Dockets Management, FDA, July 2, 2007
2. EUCAST clinical MIC breakpoints - Penicillins, document 2008-05-12 version 1.1 (www.eucast.org)
3. C. Whitney, Symposium KS11, 6 th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, Reykjavik, 8 - 12 June 2008
4. Lernout T, Hanquet G, Verhaegen J. Poster045: Epidemiology of invasive pneumococcal disease after introduction of the conjugate vaccine: the Belgian experience. ISPPD, Reykjavik, 8 - 12 June, 2008
5. Moore MR, Gertz RE, Woodbury RL et al. Population snapshot of emergent *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in the United States, 2005. *Journal of Infectious Diseases* 2008: 197-1027
6. G. Hanquet et al, S01-04 ISSPD, Reykjavik 8-12 June, 2008

2.3. Culture M/8319 *Campylobacter species*

Un *Campylobacter* a également été envoyé lors du contrôle externe de qualité en 2002.

Les résultats de l'identification au genre sont comparables, 91% de réponses correctes en 2002 et 91,2% de réponses correctes en 2008.

Taxonomie et identification

Les *Campylobacter* sont la première cause de diarrhée bactérienne en Belgique.¹ Les diarrhées à *Campylobacter*, étant généralement peu sévères et limitées dans le temps, elles ne nécessitent généralement pas de traitement antibiotique.² Lorsqu'une antibiothérapie est requise (infections sévères, enfants en bas âge, sujet âgés, patient immunodéprimé), les macrolides ou les fluoroquinolones, mais celles-ci seulement sur antibiogramme, sont les antibiotiques recommandés.

Le genre *Campylobacter* est constitué de bactéries à Gram négatif, catalase (+), en forme de spirale, microaérophiles (croissance dans une atmosphère riche en CO₂ et réduite en oxygène) et thermophiles (bonne croissance à 42°C).

Pour leur isolement, on utilise le plus fréquemment des milieux sélectifs contenant des antibiotiques. *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* sont les espèces les plus fréquemment isolées des selles (> 99% des cas) lorsque l'on utilise uniquement des milieux sélectifs contenant des antibiotiques.

L'utilisation de la méthode de filtration permet d'observer l'émergence de *Campylobacter* autres que *C. jejuni* et *C. coli* qui sont sensibles aux antibiotiques présents dans les milieux sélectifs et/ou sont inhibés à 42°C.

Pour isoler ces *Campylobacter*, on recommande d'utiliser une méthode de culture par filtration passive. On couvre la gélose de culture avec un filtre en acétate de cellulose dont les pores ont de 0.45 à 0.65 microns. Puis, on dépose à la surface du filtre quelques gouttes d'une suspension de selles et on laisse la boîte pendant ½ heure dans une étuve ordinaire à 35°C. Grâce à leurs mouvements rapides et leur petite taille (0,2 à 0,4 µm de largeur) les *Campylobacter* se faufilent à travers le filtre. Le filtre est ôté et la gélose est alors incubée dans une atmosphère microaérophile à 37°C.

Identification

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

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

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

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

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

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

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

^aL'accroissement de la résistance des *Campylobacter* aux quinolones rend ce test d'identification de moins en moins utile.

^bUrease-positive subgroup (UPTC), sont sensible à l'acide nalidixique.

^cCertaines souches sensibles

Il faut cependant noter que les *Campylobacter* étant biochimiquement peu réactifs en comparaison avec d'autres bactéries, l'utilisation de ces tables d'identification entraîne une identification erronée dans 5% des cas en comparaison avec les techniques d'identification moléculaire³. Cette dernière est recommandée en cas d'isolement à partir de sites stériles.

Antibiogramme

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

En Belgique, le taux de résistance des souches isolées au laboratoire de référence était de 49,8% en 2007 pour la Ciprofloxacine. La résistance des *C. jejuni* à l'Erythromycine s'observe moins fréquemment (5,2% des cas).¹

RESISTANCE OF CAMPYLOBACTER IN BELGIUM
FECAL ISOLATES, TREND FROM 2001 TILL 2007 BASED ON DATA FROM THE NATIONAL REFERENCE CENTER
(OLIVIER VANDENBERG, LABORATORY FOR MICROBIOLOGY, SAINT-PIERRE UNIVERSITY HOSPITAL, BRUSSELS)

ANTIMICROBIAL AGENT	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
	N = 280	N = 266	N = 212	N = 291	N = 260	N = 246	N = 263
	% RESISTANT						
Ampicillin	13,9	15,8	16,0	29,2	32,3	51,6	57,4
Erythromycin.	3,2	0,0	9,4	6,5	6,9	8,1	5,2
Ciprofloxacine	18,9	22,6	24,5	28,1	33,1	50,4	49,8

Trends of antimicrobial resistance of *Campylobacter* strains isolated in two laboratories serving the Brugmann, Queen Fabiola, Bordet and Saint-Pierre University Hospitals located in Brussels, Belgium from January 2001 to 2007. Antimicrobial susceptibility testing was realized by disk diffusion methods following the SFM recommendations.

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

L'évaluation in-vitro de la sensibilité des *Campylobacter* aux antibiotiques n'est toujours pas standardisée. Celle-ci a été décrite dans le commentaire précédent.

Pour les infections sévères à *Campylobacter*, une évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) peut être facilement réalisée par E-Test. Il faut cependant noter que cette méthode donne des valeurs légèrement plus basses que les méthodes de détermination de la CMI par dilution en agar et que cette méthode n'est pas standardisée non plus⁵.

O. Vandenberg et A. Dediste
CHU Saint-Pierre, Bruxelles

REFERENCES

1. Ducoffre G. Annual report on the surveillance of infectious diseases by the sentinel laboratories 2000 and the epidemiological trends 1983-1999. (Available in French and Dutch). Brussels: Institute of Public Health; 2001; IPH/EPI reports Nr 2001 - 018.
2. Anders BJ, Lauer BA, Paisley JW, Reller LB. Double-blind placebo controlled trial of erythromycin for treatment of *Campylobacter* enteritis. *Lancet* 1982;16:131-2.
3. Debruyne L, Samyn E, De Brandt E, Vandenberg O, Heyndrickx M, Vandamme P. Comparative performance of different PCR assays for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Res Microbiol.* 2008;159:88-93
4. Tajada P, Gomez-Graces JL, Alos JI, Balas D, Cogollos R. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 beta-lactam agents and combinations with beta-lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1924-5
5. Ge B, Bodeis S, Walker RD, White DG, Zhao S, McDermott PF, Meng J. Comparison of the Etest and agar dilution for in vitro antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter*. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:487-94

2.4 Culture M/8519 *Salmonella* Derby (labos pairs) ou absence de pathogènes (*E. coli* H₂S positif)(labos impairs)

Les laboratoires ayant un numéro d'agrément pair ont reçu une *Salmonella* Derby; les laboratoires ayant un numéro d'agrément impair ont reçu un échantillon ne contenant pas de pathogènes (mais uniquement un *E. coli* H₂S positif).

Dans le groupe des laboratoires "pairs" l'identification de la *Salmonella* jusqu'au niveau de l'espèce n'a posé aucun problème pour la majorité de ces laboratoires.

Il est cependant à noter que dans le groupe des laboratoires "impairs", environ un tiers a répondu *Salmonella*. Etant donné que la plupart des laboratoires ayant identifié l'*E. coli* H₂S-positif erronément comme *Salmonella* ont utilisé les techniques API 20 E et/ou Vitek 2, nous avons donc envoyé la souche à la firme bioMérieux, qui effectue des examens complémentaires. L'identification de cette souche comme *E. coli* a été contrôlée par les membres du comité d'experts; en plus elle nous a été confirmée par le centre de référence pour *Salmonella* et *Shigella* (avec 2 techniques différentes) ainsi que par séquençage par un des membres du comité d'experts. Dès que les résultats de l'examen de bioMérieux seront connus, nous vous les communiquerons.

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N = 183)

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1 Culture M/8065 *Streptococcus pneumoniae* (expectoration)

<u><i>Streptococcus pneumoniae</i></u>	181 (98.9%)
<u><i>Pneumocoque</i></u>	2 (1.1%)

3.2. Culture M/8114 *Escherichia coli* (hémoculture)

<u><i>Escherichia coli</i></u>	182 (99.5%)
Envoi à un laboratoire spécialisé	1

NB 1 laboratoire a mentionné que la souche était BLSE négative; 2 laboratoires ont mentionné avoir trouvé 2 phénotypes différents

3.3 Culture M/8319 *Campylobacter coli* (selles)

<u><i>Campylobacter species</i></u>	106 (57.9%)
<u><i>Campylobacter coli</i></u>	35 (19.1%)
<u><i>Campylobacter jejuni/coli</i></u>	3 (1.6%)
<i>Campylobacter jejuni</i>	21
<i>Campylobacter jejuni jejuni</i>	2
Absence de pathogènes	5
Pas de croissance	2
<i>Salmonella species</i>	2
<i>Salmonella groupe B</i>	1
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1
<i>Escherichia coli O114 K90</i>	1
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	1
<i>Aeromonas species</i>	1
<i>Bacillus species</i>	1
Envoi à un laboratoire spécialisé	1

3.4 Culture M/8519 *Salmonella* Derby (labos avec numéro d'agrément pair) ou Absence de pathogènes (labos avec numéro d'agrément impair) (selles).

Labos avec numéro d'agrément pair (N = 106)

<u><i>Salmonella</i> species</u>	68 (64.2%)
<u><i>Salmonella</i> groupe B</u>	16 (15.1%)
<u><i>Salmonella</i> group</u>	3 (2.8%)
<u><i>Salmonella enterica</i></u>	7
<u><i>Salmonella enterica ssp enterica</i></u>	1
<i>Salmonella enterica ssp arizonae</i>	1
<i>Salmonella arizonae</i>	2
<i>Salmonella typhimurium</i>	2
<i>Salmonella enteritidis</i>	1
<i>Salmonella paratyphi B</i>	1
<i>Salmonella</i> groupe E/G	1
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Campylobacter coli</i>	1
Absence de pathogènes	1

Labos avec numéro d'agrément impair (N = 77)

<u>Absence de pathogènes</u>	39 (50.6%)
Négatif (<i>Escherichia coli</i>)	1
<i>Escherichia coli</i> H2S positif	3
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Escherichia coli</i> SMAC -	1
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1
<i>Escherichia coli</i> O103:H11	1
<i>Salmonella</i> species	12
<i>Salmonella enterica ssp arizonae</i>	7
<i>Salmonella arizonae</i>	3
<i>Salmonella enterica</i>	1
<i>Salmonella arizonae</i> /EPEC	1
<i>Campylobacter</i> species	2
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	1
Echantillon à envoyer pour détection de shigatoxines différentes d' <i>Escherichia coli</i> O157	1
Pas de croissance	1
Envoi à un laboratoire spécialisé	1

Remarque

Nous avons constaté qu'il existe encore des laboratoires qui envoient les souches de l'EEQ au centre de référence malgré nos recommandations de ne pas le faire. Nous voulons une fois de plus insister pour que vous **N'envoyez PAS** les échantillons de l'EEQ au centre de référence; non seulement c'est inutile du point de vue de l'EEQ, mais en plus il s'agit d'une surcharge de travail pour le laboratoire de référence et il fausse leurs données épidémiologiques.

IV. ANTIBIOGRAMME

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

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

4.1 Culture M/8065 (*Streptococcus pneumoniae*)

Nombre de participants = 181

Le nombre de participants est inférieur au nombre de participants pour les identifications étant donné qu'un laboratoire de firme n'a déterminé que les identifications mais n'a pas effectué les antibiogrammes et un laboratoire ayant identifié la souche comme *S. pneumoniae* enverrait cette souche pour détermination de l'antibiogramme au centre de référence.

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

Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs quinolones. Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; pour l'échantillon M/8065 les laboratoires ont toujours obtenu les mêmes résultats avec les différentes techniques.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de résultats	S	S/I	I	R	*
Pénicilline	S	176	172	-	2	1	1 ¹
Erythromycine	S	174	170	1	1	1	1 ¹
Clarithromycine ²	S	2	2	-	-	-	-
Clindamycine	S	112	111	-	1	-	-
Tétracycline	S	136	133	-	-	2	1 ¹
Doxycycline ³	S	20	20	-	-	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacin	S	27	24	-	2	1	-
Gatifloxacin	S	1	1	-	-	-	-
Lévofoxacin	S	49	49	-	-	-	-
Moxifloxacin	S	68	68	-	-	-	-
Norfloxacin	S	2	-	-	-	2	-
Ofloxacin	S	33	31	-	1	-	1 ¹
Sparfloxacin	S	1	1	-	-	-	-
"Quinolone" ⁴	S	2	2	-	-	-	-

- ¹ Un laboratoire a fourni les valeurs de CMI pour la pénicilline, l'érythromycine, la tétracycline et l'ofloxacin mais pas l'interprétation qualitative.
- ² Un certain nombre de laboratoires ont testé la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.
- ³ Un certain nombre de laboratoires ont testé la doxycycline au lieu de la tétracycline.
- ⁴ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

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.

Les résultats des laboratoires qui ont utilisé l'Osiris pour mesurer le diamètre des disques en papier sont repris dans le tableau 4.1.8.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	(32)				31	-	-	1 ¹
	20	Oxa 1 ²	25	21 - 32	19	-	-	1 ¹
	3	6 ³	32	32 - 40	3	-	-	-
	4	10 ³	32	30 - 40	4	-	-	-
Erythromycine	29 (32)	15	26	22 - 38	32	-	-	-
Clarithromycine	2 (2)	15	26	25 - 27	2	-	-	-
Clindamycine	29 (32)	2	23	18 - 34	31	1	-	-
Tétracycline	23 (27)	30	27	23 - 35	27	-	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	34	23 - 34	3	-	-	-
Quinolones								
Ciprofloxacine	6 (7)	5	20	15 - 20	5	1	1	-
Lévofloxacine	4 (5)	5	23	19 - 25	5	-	-	-
Moxifloxacine	12 (13)	5	25	19 - 32	13	-	-	-
Ofloxacine	8 (8)	5	18	16 - 22	8	-	-	-

¹ Un laboratoire nous a fourni le diamètre obtenu avec les disques en papier mais a renvoyé au résultat de l'E-test ("S") pour connaître le résultat final.

² La plupart des utilisateurs de cette technique ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide du disque d'oxacilline avec une charge de 1 µg/disque. Un de ces laboratoires a obtenu un diamètre > 20.

³ Quelques laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline avec des charges de 6 ou 10 U/disque.

Il existe actuellement 2 charges pour les disques Neosensitabs: la charge « Neosensitabs » (« old », avec les directives ROSCO) et la charge « CLSI » (« new », où le laboratoire doit suivre les directives du CLSI). Les 2 charges sont mentionnées séparément dans les tableaux suivant 4.1.3. a et b. Les résultats des laboratoires qui ont utilisé le Sirscan pour mesurer le diamètre de ces disques sont repris dans les tableaux 4.1.9 a et b.

Tableau 4.1.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge Neosensitabs) pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	S/I	I	R
Pénicilline ¹	(47)				47	-	-	-
	24	Oxa 1 ²	29	20 - 32	24	-	-	-
	15	5 ³	38	30 - 42	15	-	-	-
Erythromycine ⁴	44 (54)	78	32	20 - 43	52	1	1	-
Clindamycine ⁵	38 (47)	25	32	25 - 47	47	-	-	-
Tétracycline ⁶	24 (37)	80	34	26 - 42	36	-	-	1
Doxycycline ⁷	10 (11)	80	31	28 - 38	11	-	-	-
Quinolones								
Ciprofloxacin ⁸	13 (15)	10	25	20 - 36	15	-	-	-
Lévofoxacin	9 (10)	5	24	21 - 28	10	-	-	-
Moxifloxacin ⁹	11 (15)	5	26	20 - 50	15	-	-	-
Norfloxacin	1 (1)	10	13	13 - 13	-	-	-	1
Ofloxacin ¹⁰	10 (11)	10	22	20 - 25	11	-	-	-
Quinolone	- (1)	-	-	-	1	-	-	-

¹ Pour le disque d'oxacilline avec une charge de 1 µg un laboratoire a mentionné un diamètre > 20 mm. Et un autre laboratoire un diamètre > 30 mm. Pour le disque de pénicilline avec une charge de 5 U, 2 laboratoires ont mentionné un diamètre > 30 mm.

² La plupart des utilisateurs de cette technique ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide du disque d'oxacilline avec une charge de 1 µg/disque.

³ Quelques laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline avec une charge de 5 U/ disque.

⁴ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 28 mm. et 3 laboratoires un diamètre > 30 mm.

⁵ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 28 mm. et 4 laboratoires un diamètre > 30 mm.

⁶ En outre 3 laboratoires ont mentionné un diamètre > 30 mm. Le laboratoire ayant répondu "R", a constaté une "surcroissance" dans la zone sensible après 24h.

- ⁷ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 26 mm.
⁸ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 30 mm.
⁹ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 18 mm.
¹⁰ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 30 mm.

Tableau 4.1.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	(5)				5	-	-
	3	Oxa ¹	32	27 - 36	3	-	-
	2	10 ²	36	32 - 40	2	-	-
Erythromycine	7 (7)	15	28	22 - 34	7	-	-
Clindamycine	6 (6)	2	24	21 - 32	6	-	-
Tétracycline	2 (2)	30	29	26 - 32	2	-	-
Doxycycline	3 (3)	30	30	29 - 36	3	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	22	22 - 22	1	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	29	28 - 30	2	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	12	12 - 12	-	-	1
Ofloxacine	1 (1)	5	18	18 - 18	1	-	-

¹ La plupart des utilisateurs de cette technique ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide du disque d'oxacilline avec une charge de $1\mu\text{g}/\text{disque}$.

² Quelques laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline avec une charge de 10 U/ disque.

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/8065 (*S. pneumoniae*).

	Nombre de résultats	*	CMI (mg/l)										Résultat			
			<0.06	0.004	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5	1	2	S	I	R
				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
			0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5	1	2	4				
Pénicilline	32	1	2	1	7	11	6	4					32	-	-	
Erythromycine	6							2	3	1			6	-	-	
Clindamycine	1									1			1	-	-	
Tétracycline	1							1					1	-	-	
Quinolones																
Lévofloxacine	1											1	1	-	-	
Moxifloxacine	2							1	1				2	-	-	
Ofloxacine	1												1	-	-	

* Valeur CMI non mentionnée.

A l'occasion de cette enquête 3 laboratoires ont déterminé la valeur CMI pour la pénicilline avec les « MIC-Evaluators » (MICE); tous les 3 ont obtenu des résultats sensibles avec des CMI de respectivement 0.012, 0.023 et 0.032 mg/l.

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

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Vitek 2						Vitek 2 compact				
	Résultat final	Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment			Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)		Résultat final	Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment		Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	
	S	I	R	*			S	I	R		
Pénicilline	43	1	-	1	≤ 0.06	39 (45)	11	-	-	≤ 0.06	9 (11)
Erythromycine	43	-	1	1	≤ 0.06	38 (45)	14	-	-	≤ 0.06	10 (14)
Clindamycine	3	-	-	-	≤ 0.25	1 (3)	1	-	-	-	- (1)
Tétracycline	44	-	1	1	≤ 1	44 (46)	14	-	-	≤ 1	11 (14)
Quinolones											
Ciprofloxacine	1	-	-	-	-	- (1)	-	-	-	-	-
Gatifloxacine	1	-	-	-	≤ 0.5	1 (1)	-	-	-	-	-
Lévofloxacine	15	-	-	-	≤ 0.5	11 (15)	7	-	-	≤ 0.5	5 (7)
Moxifloxacine	23	-	-	-	≤ 0.25	22 (23)	6	-	-	≤ 0.25	5 (6)
Ofloxacine	9	1	-	1	≤ 0.2	7 (11)	1	-	-	≤ 1	1 (1)
Sparfloxacine	1	-	-	-	≤ 0.12	1 (1)	-	-	-	-	-
"Quinolone"	1	-	-	-	≤ 1	1 (1)	-	-	-	-	-

* Un laboratoire a fourni les valeurs de CMI pour la pénicilline, l'érythromycine, la tétracycline et l'ofloxacine mais pas l'interprétation qualitative.

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 pénicilline, un laboratoire a mentionné une CMI de 0.12 mg/l pour Vitek 2
- pour l'érythromycine, un laboratoire a mentionné une CMI de 0.12 mg/l pour Vitek 2 et un laboratoire a mentionné une CMI de ≥1 mg/l pour Vitek 2 (il s'agit du laboratoire ayant répondu « R ») ; pour Vitek 2 compact, un laboratoire a mentionné une CMI ≤ 1 mg/l et 1 laboratoire une CMI < 0.25 mg/l
- pour la tétracycline un laboratoire a mentionné une CMI ≤ 10 mg/l pour Vitek 2 et 1 laboratoire a mentionné une CMI de 2 mg/l pour Vitek 2 (il s'agit du laboratoire ayant répondu « R ») ; pour Vitek 2 compact, un laboratoire a également mentionné une CMI de 2 mg/l (et a répondu "S")

- pour la lévofloxacine 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 mg/l pour Vitek 2 et 2 laboratoires pour Vitek 2 compact
- pour l'ofloxacine un laboratoire a mentionné une CMI \leq 1 mg/l pour Vitek 2

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

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Pénicilline	4	1	1
Erythromycine	6	-	-
Clindamycine	9	-	-
Tétracycline	6	-	-
Quinolones			
Lévofloxacine	5	-	-

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

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pénicilline	6	-	-	\leq 0.0312	4 (6)
Erythromycine	6	-	-	\leq 0.0625	4 (6)
Clindamycine	6	-	-	\leq 0.0312	3 (6)
Tétracycline	6	-	-	\leq 0.5	4 (6)
Quinolones					
Lévofloxacine	3	-	-	1 et \leq 0.5	1 et 1 (3)
Moxifloxacine	3	-	-	\leq 0.25	2 (3)

Pour la clindamycine en outre un laboratoire a mentionné une CMI \leq 0.0625 mg/l.

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

Etant donné que tous les utilisateurs de ces appareils (Osiris pour les disques en papier et Sirscan pour les disques Neosensitabs), rapportent les diamètres, nous reprenons les médianes, minima et maxima de ces diamètres dans les tableaux suivants.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	(7)				7	-	-
	2	Oxa ¹	26	25 - 26	2	-	-
	1	6 ²	35	35 - 35	1	-	-
	2	10 ²	35	35 - 35	2	-	-
Erythromycine	7 (7)	15	33	24 - 35	7	-	-
Clindamycine	6 (6)	2	29	23 - 35	6	-	-
Tétracycline	4 (4)	30	32	27 - 35	4	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	1 (1)	5	29	29 - 29	1	-	-
Lévofloxacine	3 (3)	5	22	20 - 25	3	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5 et 10 ³	-	-	2	-	-
Ofloxacine	1	5	21	21 - 21	1	-	-

¹ Un certain nombre des utilisateurs de cette technique ont déterminé la sensibilité à la pénicilline à l'aide du disque d'oxacilline avec une charge de $1\mu\text{g}/\text{disque}$. Un de ces laboratoires a obtenu un diamètre > 20.

² Quelques laboratoires ont utilisé les disques de pénicilline avec des charges de 6 ou 10 U/disque.

³ Les deux laboratoires ont mentionné des charges différentes.

Tableau 4.1.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges Neosensitabs) pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	3 (4)	Oxa 1	24	23 - 32	4	-	-
Erythromycine	5 (5)	78	29	26 - 36	5	-	-
Clindamycine	2 (3)	25	28.5	26 - 31	3	-	-
Doxycycline	1 (1)	80	36	36 - 36	1	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	1 (1)	10	28	28 - 28	1	-	-
Lévofloxacine	- (1)	-	-	-	1	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	26.5	26 - 27	2	-	-

Tableau 4.1.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/8065 (*S. pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	2 (2)	10	44.5	43 - 46	2	-	-
Erythromycine	2 (2)	15	30.5	24 - 37	2	-	-
Clindamycine	1 (1)	2	33	33 - 33	1	-	-
Doxycycline	2 (2)	30	33	29 - 37	2	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	2 (2)	5	24	20 - 28	1	1	-

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

- La pénicilline:
 - o I→R
 - ATB: 1 labo
- La tétracycline:
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo
- L'ofloxacine
 - o S→I
 - Vitek 2: 1 labo

4.2 Culture M/8114 (*Escherichia coli*)

Nombre de participants = 181

Le nombre de participants est inférieur au nombre de participants pour les identifications étant donné qu'un laboratoire de firme n'a déterminé que les identifications mais n'a pas effectué les antibiogrammes et le laboratoire qui envoie ce type d'échantillon au centre de référence pour identification n'a évidemment pas déterminé l'antibiogramme.

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

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

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de résultats	S	I	R
Ampicilline	I/R	175	2	69	104
Amoxicilline ¹	I/R	3	-	1	2
Amoxicilline-acide clavulanique	S/I	181	58	109	14
Amikacine	S	178	178	-	-
Gentamicine	S	161	159	2	-
Céfuroxime	S	179	177	2	-
Céfotaxime	S	152	152	-	-
Ceftriaxone ²	S	10	10	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	S	177	177	-	-
Imipénème	S	70	70	-	-
Méropénème ³	S	58	58	-	-
Quinolones					
Ciprofloxacine	S	136	136	-	-
Lévofloxacine	S	27	27	-	-
Moxifloxacine	S	1	1	-	-
Norfloxacine	S	10	10	-	-
Ofloxacine	S	17	17	-	-
"Quinolone" ⁴	S	3	3	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la ceftriaxone au lieu de la céfotaxime.

³ Un certain nombre de laboratoires ont testé la méropénème au lieu de l'imipénème.

⁴ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

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.

Les résultats des laboratoires qui ont utilisé l'Osiris pour mesurer le diamètre des disques en papier sont repris dans le tableau 4.2.8.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier selon CLSI pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	24 (27)	10	10	6 - 14	-	1	26
Amoxicilline-acide clavulanique	25 (27)	20+10	17	7 - 21	10	12	5
Amikacine	22 (25)	30	23	18 - 26	25	-	-
Gentamicine	19 (24)	10	21	18 - 25	24	-	-
Céfuroxime	24 (26)	30	23	15 - 26	25	1	-
Céfotaxime	19 (22)	30	33	24 - 38	22	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	25 (28)	1.25+23.75	27	20 - 32	28	-	-
Imipénème	9 (10)	10	30	21 - 32	10	-	-
Méropénème	9 (10)	10	30	20 - 37	10	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	17 (19)	5	33	28 - 40	19	-	-
Lévofloxacine	5 (5)	5	30	25 - 35	5	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	38	38 - 38	1	-	-
Ofloxacine	3 (3)	5	31	28 - 34	3	-	-

Il existe actuellement 2 charges pour les disques Neosensitabs: la charge « Neosensitabs » (« old », avec les directives ROSCO) et la charge « CLSI » (« new », où le laboratoire doit suivre les directives du CLSI). Les 2 charges sont mentionnées séparément dans les tableaux suivant 4.2.3. a et b. Les résultats des laboratoires qui ont utilisé le Sirscan pour mesurer le diamètre de ces disques sont repris dans les tableaux 4.2.9 a et b.

Tableau 4.2.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge Neosensitabs) pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	28 (33)	33	17	11 - 21	2	9	22
Amoxicilline	2 (2)	30	15	12 - 18	-	1	1
Amoxicilline-acide clavulanique	34 (36)	30+15	22	18 - 25	31	5	-
Amikacine	32 (33)	40	25	20 - 32	33	-	-
Gentamicine	26 (27)	40	27	21 - 32	25	2	-
Céfuroxime	33 (35)	60	27	22 - 34	35	-	-
Céfotaxime	22 (23)	30	36	29 - 43	23	-	-
Ceftriaxone	7 (7)	30	34	26 - 43	7	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol ¹	30 (32)	5.2+240	37	24 - 42	32	-	-
Imipénème	16 (21)	15	33	30 - 37	21	-	-
Méropénème	7 (7)	10	33	30 - 36	7	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	19 (20)	10	35	30 - 43	20	-	-
Lévofloxacine	5 (5)	5	32	31 - 37	5	-	-
Norfloxacine	2 (2)	10	36	35 - 37	2	-	-
Ofloxacine	9 (9)	10	34	26 - 39	9	-	-

¹ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre > 30 mm.

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	4 (4)	10	12	11 - 13	-	-	4
Amoxicilline-acide clavulanique	5 (5)	20+10	19	18 - 22	4	1	-
Amikacine	5 (5)	30	24	20 - 25	5	-	-
Gentamicine	5 (5)	10	21	20 - 25	5	-	-
Céfuroxime	5 (5)	30	22	18 - 25	4	1	-
Céfotaxime	4 (4)	30	37	31 - 40	4	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	4 (4)	1.25+23.75	29	26 - 30	4	-	-
Imipénème	2 (2)	10	32.5	29 - 36	2	-	-
Méropénème	1 (1)	10	35	35 - 35	1	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	1 (1)	5	30	30 - 30	1	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	33	33 - 33	1	-	-
Ofloxacine	2 (2)	5	32.5	32 - 33	2	-	-

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

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

	Nombre de résultats	CMI (mg/l)												Résultat		
		<0.064	0.064	0,125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	S	I	R
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
			0,125	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
Ampicilline	2										1		1	-	-	2
Amoxicilline-acide clavulanique	4							1		1	2			1	1	2
Amikacine	2					2								2	-	-
Gentamicine	1				1									1	-	-
Céfuroxime	1						1							1	-	-
Céfotaxime	1		1											1	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	1			1										1	-	-
Imipénème	1			1										1	-	-
Quinolones																
Ciprofloxacine	1	1												1	-	-

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

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Ampicilline	-	40	23	16	43 (63)	-	15	10	16	16 (25)
Amoxicilline-acide clavulanique	1	59	4	16	57 (64)	2	19	3	16	20 (24)
Amikacine	63	-	-	≤ 2	42 (63)	24	-	-	≤ 2	18 (24)
Gentamicine	62	-	-	≤ 1	54 (62)	24	-	-	≤ 1	21 (24)
Céfuroxime	63	-	-	4	55 (63)	25	-	-	4	22 (25)
Céfotaxime	63	-	-	≤ 1	56 (63)	25	-	-	≤ 1	22 (25)
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	63	-	-	≤ 20	56 (63)	25	-	-	≤ 20	22 (25)
Imipénème	13	-	-	≤ 0.25	4 (13)	10	-	-	≤ 0.25	5 (10)
Méropénème	25	-	-	≤ 0.25	25 (25)	9	-	-	≤ 0.25	9 (9)
Quinolones										
Ciprofloxacine	52	-	-	≤ 0.25	46 (52)	20	-	-	≤ 0.25	16 (20)
Lévofloxacine	12	-	-	≤ 0.25	11 (12)	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)
Norfloxacine	4	-	-	≤ 0.5	2 (4)	1	-	-	-	- (1)
Ofloxacine	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)
"Quinolone"	2	-	-	≤ 0.25	2 (2)	1	-	-	≤ 0.25	1 (1)

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 l'ampicilline, 13 laboratoires ont mentionné une CMI ≥ 32 mg/l pour Vitek 2 et 6 laboratoires pour Vitek 2 compact
- pour l'amoxicilline-acide clavulanique, un laboratoire a retrouvé une CMI de 8 mg/l pour Vitek 2 compact
- pour l'amikacine 13 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/l pour Vitek 2 et 3 laboratoires pour Vitek 2 compact
- pour la gentamicine un laboratoire a retrouvé une CMI < 16 pour Vitek 2
- pour la céfuroxime un laboratoire a retrouvé une CMI ≤ 4 pour Vitek 2

- pour l'imipénème un laboratoire a retrouvé une CMI < 1 pour Vitek 2 compact; pour Vitek 2 un certain nombre de participants ont mentionné qu'il s'agit d'un résultat dérivé

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/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Ampicilline	-	1	7
Amoxicilline	-	-	1
Amoxicilline-acide clavulanique	3	5	1
Amikacine	9	-	-
Gentamicine	9	-	-
Céfuroxime	8	-	-
Céfotaxime	9	-	-
Triméthoprim- Sulfaméthoxazol	9	-	-
Imipénème	10	-	-
Quinolones			
Ciprofloxacine	8	-	-
Norfloxacine	2	-	-

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/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	-	6	3	16	6 (9)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	8	1	16/8	7 (9)
Amikacine	9	-	-	4	5 (9)
Gentamicine	9	-	-	≤ 2	7 (9)
Céfuroxime	9	-	-	≤ 4	7 (9)
Céfotaxime	2	-	-	< 2	1 (2)
Ceftriaxone	3	-	-	≤ 2	2 (3)
Trimethoprim- Sulfamethoxazol	9	-	-	≤ 0.5/9.5	7 (9)
Imipénème	1	-	-	-	- (1)
Méropénème	4	-	-	≤ 1	4 (4)
Quinolones					
Ciprofloxacine	9	-	-	≤ 0.15	4 (9)
Norfloxacine					

Nous devons également mentionner que:

- pour l'ampicilline un laboratoire a obtenu une CMI de 32 mg/l
- pour l'amikacine 2 laboratoires ont obtenu une CMI ≤ 2 mg/l
- pour la ciprofloxacine un laboratoire a obtenu une CMI < 0.13 mg/l et 2 laboratoires ont obtenu une CMI ≤ 0.5 mg/l

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

Etant donné que tous les utilisateurs de ces appareils (Osiris pour les disques en papier et Sirscan pour les disques Neosensitabs), rapportent les diamètres, nous reprenons les médianes, minima et maxima de ces diamètres dans les tableaux suivants.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	7 (7)	10	9	8 - 12	-	-	7
Amoxicilline-acide clavulanique	7 (7)	20+10	17	16 - 19	3	4	-
Amikacine	7 (7)	30	23	18 - 26	7	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	22	22 - 22	2	-	-
Céfuroxime	7 (7)	30	23	19 - 24	7	-	-
Céfotaxime	5 (5)	30	30	29 - 35	5	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	7 (7)	1.25+23.75	25	21 - 31	7	-	-
Imipénème	3 (3)	10	32	28 - 32	3	-	-
Méropénème	2 (2)	10	35	35 - 35	2	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	4 (4)	5	35	32 - 35	4	-	-
Lévofloxacine	3 (3)	5	35	32 - 35	3	-	-

Tableau 4.2.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs charges Neosensitabs pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	5 (5)	33	18	16 - 20	1	1	3
Amoxicilline-acide clavulanique	5 (5)	30+15	23	22 - 23	5	-	-
Amikacine	5 (5)	40	27	26 - 29	5	-	-
Gentamicine	2 (2)	40	32	30 - 34	2	-	-
Céfuroxime	5 (5)	60	28	27 - 31	5	-	-
Céfotaxime	2 (2)	30	36.5	35 - 38	2	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	5 (5)	5.2+240	38	31 - 43	5	-	-
Méropénème	2 (2)	10	36.5	36 - 37	2	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	4 (4)	10	41	37 - 43	4	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	34	34 - 34	1	-	-

Tableau 4.2.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge CLSI) pour l'échantillon M/8114 (*E. coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge ($\mu\text{g}/\text{disque}$)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	2 (2)	10	11.5	9 - 14	-	-	2
Amoxicilline-acide clavulanique	3 (3)	20+10	20	18 - 22	3	-	-
Amikacine	3 (3)	30	24	19 - 25	3	-	-
Gentamicine	2 (2)	10	26	26 - 26	2	-	-
Céfuroxime	3 (3)	30	22	20 - 24	3	-	-
Céfotaxime	3 (3)	30	36	36 - 37	3	-	-
Triméthoprim-Sulfaméthoxazol	2 (2)	1.25+23.75	29.5	27 - 32	2	-	-
Imipénème	1 (1)	10	43	43 - 43	1	-	-
Méropénème	1 (1)	10	35	35 - 35	1	-	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	2 (2)	5	36.5	35 - 38	2	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	36	36 - 36	1	-	-

Il reste à mentionner qu'un laboratoire (étranger) a déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques avec le Microscan walkaway.

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

- L'ampicilline:
 - o I→R
 - Rosco (charges Neosensitabs): 3 labos
 - Vitek 2: 9 labos
 - Vitek 2 compact: 3 labos
 - Phoenix: 2 labos
 - Sirscan (charges Neosensitabs): 2 labos
 - Sirscan (charges CLSI): 1 labo
- La lévofloxacine:
 - o S→I
 - Rosco (charges CLSI): 1 labo
 - o S→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - o I→R
 - Vitek 2: 3 labos
 - Vitek 2 compact: 3 labos
 - ATB: 1 labo
 - Phoenix: 1 labo
 - o I→S
 - Vitek 2: 1 labo (basé sur le résultat des disques Rosco avec charge Neosensitabs)

V. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles formolées ont été envoyés. Pour l'échantillon P/7434 176 laboratoires ont renvoyé leur réponse; pour l'échantillon P/8315 177 laboratoires l'ont renvoyé.

Il est nécessaire que vous renvoyiez toujours des résultats pour les 2 échantillons, même si p. ex. vous suspectez une absence de parasites.

Le nombre d'utilisateurs du toolkit était de 50,8%. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter certaines erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/7434 :

« Un patient est revenu des tropiques depuis quelques mois. Dans le cadre d'une étude anthropologique il s'est adapté à la vie de village: il marchait à pieds nus, a mangé la nourriture locale, se lavait dans la rivière locale ».

P/8315:

« Patiente HIV-positive avec diarrhée ».

L'échantillon P/7434 contenait des oeufs d'*Ascaris lumbricoides*.

L'échantillon P/8315 contenait oocystes d'*Isospora belli*.

Nous voudrions répéter que, en cas de doute ou d'endommagement d'un échantillon, il vous est toujours possible de demander au cours de l'enquête un 2^e échantillon.

Pour l'échantillon P/7434, nous vous avons également posé quelques questions cliniques.

5.2. Les résultats

5.2.1 L'échantillon P/7434

169 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 6 la présence de 2 parasites et 1 laboratoire a répondu « Absence de parasites ». Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1.1. Résultats pour l'échantillon P/7434

Résultat	Nombre
<i>Ascaris lumbricoides</i>	172
<i>Blastocystis hominis</i>	4
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1
Absence de parasites	1
Total	182

Le laboratoire ayant répondu *Iodamoeba butschlii*, a possiblement inversé les 2 échantillons: pour l'échantillon P/8315 ce laboratoire a fourni la réponse *Ascaris lumbricoides*.

Tous les laboratoires ayant mentionné la présence de 2 parasites, ont mentionné *Ascaris lumbricoides* comme 1 des deux.

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Ascaris lumbricoides* sont repris dans le tableau suivant. Sept laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution différents.

Tableau 5.2.1.2. Stades d'évolution de *Ascaris lumbricoides* pour l'échantillon P/7434

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Oeuf non-fécondé	126
Oeuf	41
Oeuf fécondé	12
Total	179

Tous les laboratoires ayant répondu 2 stades d'évolution, ont mentionné qu'il s'agissait de la combinaison d'œufs fécondés et non-fécondés.

Les réponses aux questions cliniques pour cet échantillon sont reprises ci-dessous. Nous devons remarquer que tous les laboratoires n'ont pas répondu à toutes les questions. Les réponses des laboratoires n'ayant pas mentionné *A. lumbricoïdes* pour l'identification, n'ont pas été prises en compte.

Le tableau 5.2.1.3. présente les réponses à la question de savoir quels facteurs ont une influence sur la transmission d'*A. lumbricoïdes*. Certains laboratoires ont mentionné la présence de plusieurs facteurs de risque.

Tableau 5.2.1.3. Facteurs de risque qui ont une influence sur la transmission d'*A. lumbricoïdes*.

Facteurs de risque	Nombre de laboratoires
Manger la nourriture locale	167
Se laver dans la rivière locale	32
Marcher à pieds nus	11

Plusieurs laboratoires ayant mentionné « se laver dans la rivière locale » comme facteur de risque, ont précisé que la contamination se fait par l'ingestion d'eau.

Un des laboratoires ayant mentionné « marcher à pieds nus » comme facteur de risque, nous a fourni son raisonnement sous-jacent: « Les œufs doivent « mûrir » dans le sol pendant un certain temps et peuvent éventuellement arriver dans la bouche par les mains (quand le patient soigne ses pieds). »

A la question de savoir si ce parasite est contagieux pour l'environnement dans la forme observée dans l'échantillon P/7434, 38 laboratoires ont répondu « Oui » et 130 laboratoires « Non ».

La division selon le stade d'évolution mentionné est reprise dans le tableau 5.2.1.4.

Tableau 5.2.1.4. Division des réponses à la question de savoir si le parasite est contagieux selon le stade d'évolution mentionné.

Stade d'évolution	« Oui »	« Non »
Oeuf non-fécondé	9	108
Oeuf fécondé	2	3
Oeuf fécondé et oeuf non-fécondé	4	3
Œuf	23	16

Deux des laboratoires ayant répondu « Oui » pour « œuf non-fécondé », ont précisé cette réponse par l'explication que dans de bonnes conditions les oeufs peuvent mûrir dans le sol jusqu'au stade d'œuf fécondé et qu'ils deviennent contagieux à ce moment.

A la question de savoir si ce parasite nécessite un traitement, 163 laboratoires ont répondu « Oui » et 6 laboratoires « Non ».

Quelques laboratoires ont rajouté des remarques: « traitement en cas de patient symptomatique », « dans nos régions, il est conseillé d'effectuer toujours un traitement », « dans nos régions, traitement pour raisons hygiéniques », « dans la supposition que des œufs fécondés peuvent être présents ».

A la question de savoir si ce parasite peut être rencontré dans un climat tempéré, 166 laboratoires ont répondu « Oui » et 4 laboratoires « Non ».

Quelques laboratoires ont mentionné que la présence dans un climat tempéré est beaucoup plus rare.

Commentaires sur les résultats et aux questions cliniques

Les résultats montrent que presque tous les participants ont donné le diagnostic correct et qu'ils ont mis le parasite dans le bon contexte. Je donne d'abord un bref résumé de l'épidémiologie et de la pathogenèse d'*Ascaris lumbricoides*, et puis je discute les résultats microscopiques et les réponses aux questions cliniques.

***Ascaris lumbricoides*: le parasite, sa présence et ses caractéristiques cliniques.**

Ascaris lumbricoides (« roundworm ») appartient taxonomiquement aux nématodes (νεμα = fil). Le nom de l'espèce réfère à la ressemblance au ver de terre (*Lumbricus terrestris*) avec lequel les Romains le confondaient. En termes de Santé Publique l'*A. lumbricoides* est un problème des (sous)tropiques, et ce ver est considéré avec le *Trichuris trichiura* (« whipworm ») et l'*Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus* (« hookworm ») comme les « soil-transmitted helminths ». On estime que mondialement environ 1 milliard de personnes sont infectées par *A. lumbricoides*.

A. lumbricoides est un parasite strictement humaine, qui vit dans l'intestin grêle et a une durée de vie relativement courte (1 an). La longueur totale peut atteindre jusque 40 cm et le ver est jaune-blanc. La femelle produit environ 200.000 oeufs par jour et chez un patient infecté on peut retrouver jusque 10.000 œufs par gramme de selles. Une larve se développe pendant une période de 5 à 10 jours dans un oeuf fécondé qui entre dans le milieu extérieur. Elle reste dans l'oeuf et peut y survivre longtemps (plusieurs années) et rester infectieux. La maturation de la larve est stimulée par des circonstances favorables en température et humidité, ce qui est une des raisons pour lesquelles l'*Ascaris* est rencontré plus souvent (mais pas uniquement) dans les (sous)tropiques. A cause de cette phase de maturation, l'auto-infestation (comme chez l'*Enterobius vermicularis*) n'est pas possible.

En cas d'ingestion orale (transmission accidentelle par l'eau, la nourriture, les ongles... contaminés) l'oeuf s'ouvre dans l'intestin grêle. La larve passe la paroi intestinale et atteint, par la circulation hépatique, le poumon, d'où elle est crachée et déglutie. Dans l'intestin grêle, elle se développe au stade adulte. La durée de l'ingestion jusqu'au

migration pulmonaire est environ 14 jours, et les vers sont sexuellement mature (avec production d'oeufs) après environ 60 jours.

Les symptômes d'une infection par *A. lumbricoides* dépendent du nombre de vers par lesquels le patient est infecté (la charge de vers, « wormload »). Un "seuil" exacte n'est pas connu et dépend probablement de la condition nutritionnelle de l'hôte. Etant donné que l'*A. lumbricoides* ne se reproduit pas dans le corps humain (comme *T. trichiura* et *A. duodenale*/*N. americanus* ne le font pas non plus) plusieurs expositions sont nécessaires pour obtenir cette charge élevée de vers.

Une inflammation, caractérisée par une forte éosinophilie et des symptômes asthmatiques, peut se produire pendant la migration pulmonaire. Le RX thorax montre des infiltrations variables. Ce syndrome de Loeffler atteint surtout les enfants et les réinfections sont caractérisées par des symptômes plus graves.

Des symptômes généraux, causée par la charge élevée de vers, sont rencontrés le plus fréquemment chez les enfants entre 5 et 15 ans dans les pays (sous)tropicaux: une charge élevée de vers a un impact négatif sur la condition nutritionnelle, le développement physique et cognitif et les prestations scolaires.

En outre il existe des complications: en cas d'un nombre très élevé de vers, un enchevêtrement peut se produire avec pour conséquences une obstruction intestinale, une nécrose et une péritonite. Le comportement migrateur des vers adultes (masculin) peut également causer des problèmes, comme une appendicite et une cholécystite ou une pancréatite en cas d'obstruction de l'appendice ou des voies biliaires. Chez les enfants fiévreux le ver adulte peut migrer vers l'estomac ou le colon ; dans ces cas il peut être retrouvé dans les selles ou les vomissements.

Le diagnostic: la détection des oeufs (ova) dans les selles.

Le diagnostic d'une infection par *A. lumbricoides* peut évidemment être établi par la détection du ver adulte dans les selles ou dans les vomissements ou plus exceptionnellement en RX ou échographie.

Normalement le diagnostic se fait le plus fréquemment par un examen microscopique des selles. Les oeufs d'*Ascaris* sont très résistents et chez la plupart des patients symptomatiques, ils peuvent être retrouvés en grand nombre : la détection ne cause donc aucun problème.

On distingue les oeufs fécondés et non-fécondés, qui peuvent être retrouvés tous les deux dans le même échantillon (contrairement à ce que 2 participants ont mentionné, les œufs non-fécondés ne peuvent pas mûrir en des œufs fécondés).

Les oeufs fécondés ont un aspect ovale jusqu'à rond, avec des dimensions de $60 \times 50 \mu\text{m}$. La paroi est composée de trois couches (souvenez-vous de la survie de longue durée), où la couche extérieure - mamelonnée - de mucopolysaccharides a une couleur brune à cause de la présence de sels biliaires. Cette couche extérieure manque parfois et les oeufs sont lisses et pâles (ce qu'on appelle les « decorticated eggs »); l'identification est plus difficile dans ce cas. On peut reconnaître les larves dans les œufs qui ont été conservés longtemps (même dans des solutions de formol !). Les œufs non-fécondés ont un aspect plus étiré ($90 \times 50 \mu\text{m}$). Leur coque est plus fine, la couche extérieure est plus irrégulière et le contenu est amorphe et granuleux. L'échantillon P/7434 contenait uniquement des oeufs non-fécondés.

Comment ce patient peut-il s'être infecté?

La plupart des participants ont référé à la transmission féco-orale et l'ont expliqué pour l'option « se laver dans la rivière » (ingestion accidentelle de l'eau). La contamination transcutanée (« marcher à pieds nus ») n'existe pas pour *A. lumbricoides*. *Ancylostoma/Necator* est le seul des « soil transmitted helminths » à être transmis transcutané.

Est-ce que ce patient doit être traité?

La majorité des réponses était également correcte et les nuances dans les réponses sont très instructives: les complications du comportement migrateur du ver adulte (appendicite, cholécystite et pancréatite) plaident en faveur du traitement. Même si la possibilité de dispersion dans l'environnement par les résidus et les eaux résiduelles est faible (seuls les oeufs non-fécondés, pas de compostage fécale dans nos régions) nous acceptons cet argument comme correct. Vu la nécessité

de la phase de maturation dans l'environnement, la possibilité que ce patient infecte les membres de sa famille est très faible.

La mébendazole est le traitement de choix (contre-indication 1^{er} trimestre de la grossesse).

Conclusion

La grande majorité des participants ont donné la réponse correcte pour cet échantillon. Un certain raffinement (oeufs fécondés versus oeufs non-fécondés) serait le bienvenue et pourrait donner une satisfaction complémentaire. La majorité des participants ont également correctement interprété l'impact clinique (post-analytique) de ce cas.

Photos (nous remercions Marc Lontie, MCH Leuven et Idzi Potter, ITG, Antwerpen)

Jan Jacobs, ITG, Antwerpen



Figure 1A



Figure 1B



Figure 1 C

Figures 1 A - C: Oeufs non-fécondés d'*Ascaris* (échantillon P/7434)

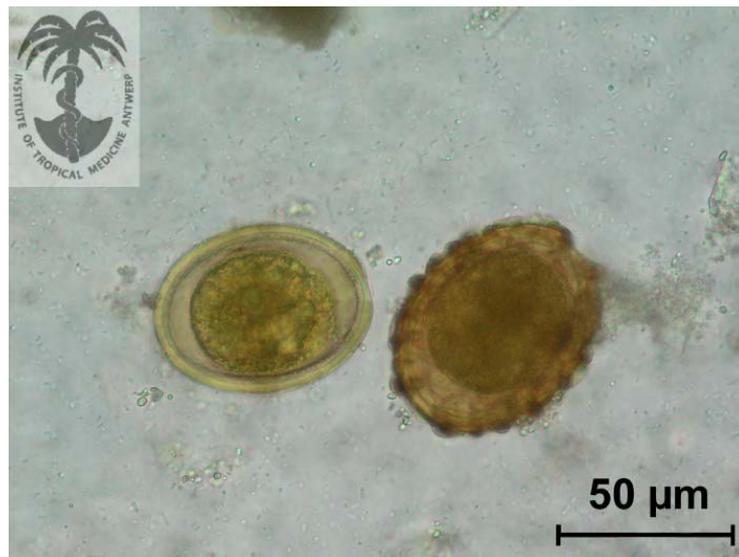


Figure 2 : Oeufs fécondés d'*Ascaris*, l'oeuf gauche est un oeuf « décortiqué », sans couche extérieure. On observe une larve à l'intérieur de celui-ci. La larve s'est développée dans l'environnement durant la conservation de l'échantillon.

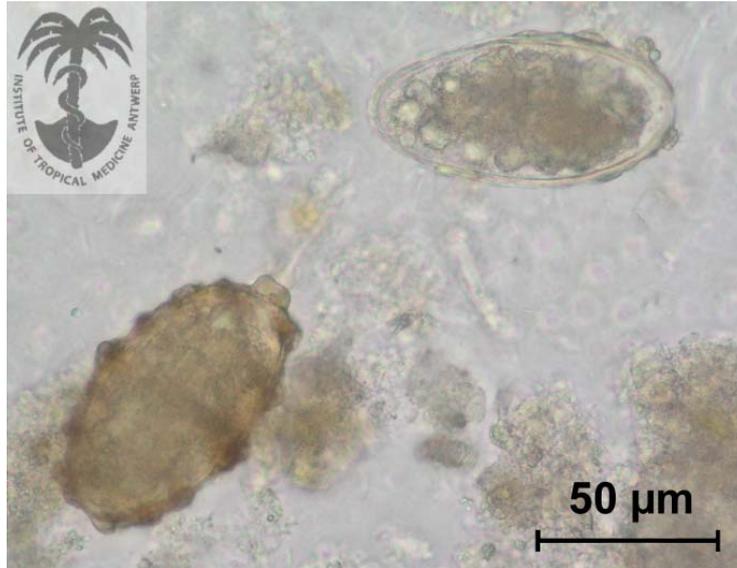


Figure 3. Oeufs non-fécondés d'*Ascaris lumbricoides*. L'oeuf en haut à droite est un oeuf sans couche extérieure ("« décortiqué »"); notez qu'il ne présente pas la coloration brune typique, ce qui a pour conséquence qu'il est plus difficile de le différencier d'artefacts.

REFERENCES

1. Bethony et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. Lancet 2006; 367: 1521-1532.
2. Haburchak DR. Ascariasis. Emedicine. <http://www.emedicine.com/med/topic172.htm>, accessed June 15th 2008.
3. Le site web - instructif et conviviale- des U.S. Centers for Disease Control and Prevention <http://www.dpd.cdc.gov/> est à conseiller mais n'est temporairement pas accessible.

5.2.2 L'échantillon P/8315

171 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 5 la présence de 2 parasites et 1 laboratoire a répondu « Absence de parasites ». Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.2.1. Résultats pour l'échantillon P/8315

Parasite	Nombre
<i>Isospora belli</i>	163
<i>Iodamoeba butschlii</i>	10
<i>Blastocystis hominis</i>	2
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1
Absence de parasites	1
Total	182

Le laboratoire ayant répondu *Ascaris lumbricoides*, a possiblement inversé les 2 échantillons: pour l'échantillon P/8315 ce laboratoire a fourni la réponse *Iodamoeba butschlii* (dans la supposition que ce laboratoire ait confondu *Isospora belli* et *Iodamoeba butschlii*). Tous les laboratoires ayant mentionné la présence de 2 parasites, ont mentionné *Isospora belli* comme 1 des deux.

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Isospora belli* sont repris dans le tableau suivant. Un laboratoire a mentionné 2 stades d'évolution différentes (oocyste et sporocyste).

Tableau 5.2.2.2. Stades d'évolution de *Isospora belli* pour l'échantillon P/8315

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Oocyste	141
Kyste	17
Sporocyste	4
Oeuf	2
Total	164

Commentaires sur les résultats

Le parasite contenu dans l'échantillon P/8315 était un *Isospora belli*. Sur 177 laboratoires qui ont donné une réponse pour ce parasite 163 l'ont correctement identifié (92.1%).

Ce protozoaire invasif de la famille des coccidies est un parasite qui infecte les cellules épithéliales de l'intestin grêle. C'est la moins fréquente des 3 coccidies qui infectent l'homme (*Cryptosporidium*, *Cyclospora* et *Isospora*). *Isospora* se rencontre dans le monde entier mais plus fréquemment dans les régions tropicales et subtropicales.

Contamination : par ingestion d'oocystes murs. Il est à noter que les oocystes rejetés dans les selles, environ 20 jours après la contamination, ne sont pas directement contaminants, ils nécessitent une maturation.

Incubation : 5 à 6 jours.

Clinique : Cause une entérococolite avec diarrhée non dysentérique mais parfois de longue durée. Chez les immunodéprimés, la maladie peut être sévère avec perte de poids, déshydratation et troubles ioniques. Chez ceux-ci, en cas de diarrhée, sa recherche doit donc être systématique, au même titre que celle de *Cryptosporidium*, et un contrôle post traitement est également recommandé.

Recherche au laboratoire : Recherche des oocystes dans les selles après concentration. Plusieurs échantillons de selles sont nécessaires car l'émission des oocystes n'est pas continue. On peut également le rechercher dans des biopsies intestinales.

Morphologie des oocystes : assez caractéristique ; ceux-ci contiennent un sporoblaste au moment de l'excrétion et deux sporoblastes après maturation. Ils sont très granuleux, comportent une extrémité effilée et une extrémité arrondie. Taille moyenne 27 x 14 μm ; ils sont aussi très réfringents.

Cycle du parasite : voir l'excellent site du CDC : <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/>

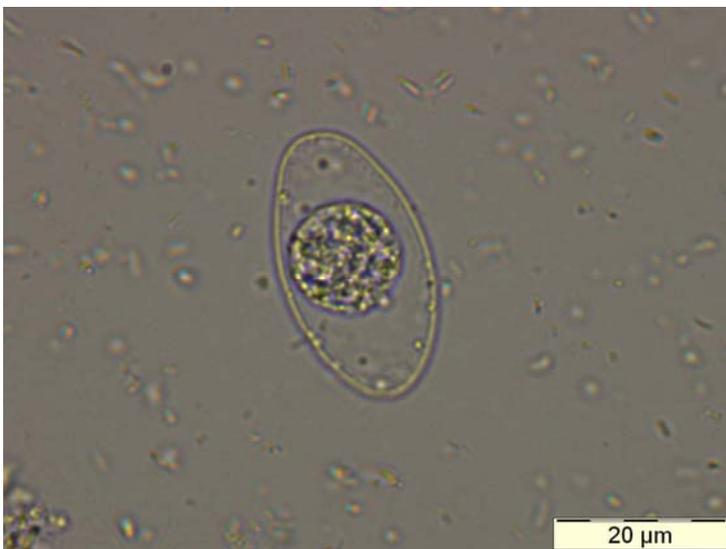
Traitement : Chez l'immunocompétent : cotrimoxazole (800 mg/j + 160 mg/j) pendant 10 jours. Chez l'immunodéprimé : même traitement, suivi d'une deuxième cure de 10 jours à demi-posologie puis d'un traitement d'entretien de 400 + 80 mg/j, trois jours par semaine.

Anne Dediste
Laboratoire de microbiologie des CHU St-Pierre et Institut J. Bordet

REFERENCES

1. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/>
2. **Garcia L.** Diagnostic Medical Parasitology. ASM Press, Washington. 5th ed.2007.

Photos 1-4: Echantillon P/8315, enquête 2008/2 (M. Lontie)





VI. SEROLOGIE

6.1. Description des échantillons

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Rubella, S/7799 et S/7824. L'interprétation devrait être effectuée sur l'ensemble des 2 échantillons.

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

« Souhait de grossesse chez une patiente vaccinée. Les échantillons S/7799 et S/7824 ont été prélevés respectivement 1 et 2 mois après la vaccination. »

Les résultats et interprétations attendues étaient :

S/7799: IgG positif, IgM borderline à faible positif
S/7824: IgG positif, IgM négatif

Interprétation:

IgG IgG positif un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination (code 005)
IgM IgM positif un mois après vaccination et IgM négatif dans le deuxième prélèvement (code 005)

Deux échantillons ont été envoyés pour la recherche des anticorps anti-HCV: un échantillon lyophilisé (S/4665) et un échantillon «prêt-à-l'emploi»(S/8604).

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

Les résultats attendus étaient :

S/4665: Anticorps négatif
S/8604: Anticorps positif

6.2. Rubéole

6.2.1 Les participants

167 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.
Nous avons également reçu les résultats de 2 laboratoires de firme dont 1 a déterminé les IgG, les IgM et l'avidité et le deuxième les IgG.

167 laboratoires ont déterminé les IgG: aussi bien sur l'échantillon S/7799 que sur l'échantillon S/7824, 166 laboratoires ont effectué 1 test et 1 laboratoire a effectué 2 tests.

154 laboratoires ont déterminé les IgM: sur l'échantillon S/7799, 140 laboratoires ont utilisé 1 test et 14 laboratoires 2 tests; sur l'échantillon S/7824, 150 laboratoires ont effectué 1 test et 4 laboratoires ont effectué 2 tests.

6.2.2 Les réactifs utilisés

6.2.2.1 Pour les IgG

Tableau 6.2.1.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgG anti-rubéole

Fabricant	Trousse	S/7799	S/7824
Abbott	AxSYM Rubella IgG	53	53
	Architect Rubella IgG	9	9
Beckman (distributeur Analis)	Access Rubella IgG	13	13
	Unicel DxI Rubella IgG	11	11
	Synchron LXi Rubella IgG	1	1
bioMérieux	VIDAS Rub IgG II	26	26
	VIDIA Rub IgG	5	5
Dade Behring	Rubella Hemagglutination Inhibition Test	1	1
	DiaSorin	Liaison Rubella IgG	25
ETI-RUBEK-G Plus		1	1
Roche	Non précisé	1	1
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgG	15	15
	Immulite Rubella IgG	6	6
Non précisé	Non précisé	1	1
Total		168	168

6.2.2.2 Pour les IgM

Tableau 6.2.2.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti- rubéole

Fabricant	Trousse	S/7799	S/7824
Abbott	AxSYM Rubella IgM	46	46
	Architect Rubella IgM	9	9
Beckman (distributeur Analis)	Access Rubella IgM	12	12
	Unicel DxI Rubella IgM	10	10
	Synchron LXi Rubella IgM	1	1
bioMérieux	VIDAS Rub IgM	31	24
	VIDIA Rub IgM	8	7
DiaSorin	Liaison Rubella IgM	26	26
	ETI-RUBEK-M Reverse Plus	3	1
Roche	Non précisé	1	1
Siemens	ADVIA Centaur Rubella IgM	15	15
	Immulite Rubella IgM	5	5
Non précisé	Non précisé	1	1
Total		168	158

6.2.3 Résultats

6.2.3.1 IgG

Pour l'échantillon S/7799, 164 laboratoires ont obtenu un résultat positif et 3 laboratoires un résultat borderline. Le laboratoire ayant utilisé 2 techniques a obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques.

Tous les laboratoires ont trouvé les IgG positives pour l'échantillon S/7824 (le laboratoire ayant utilisé 2 techniques a obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques).

Pour les troussees avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et utilisé la même unité). Ils sont présentés dans les tableaux 6.2.3 et 6.2.4. Tous les résultats sont exprimés en IU/ml.

Tableau 6.2.3. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon S/7799 pour les troussees les plus utilisées

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
AxSYM Rubella IgG	53	32.0	20.8	45.9
Architect Rubella IgG	9	27.6	24.2	34.5
Access Rubella IgG	13	30.7	19.2	39.0
Unicel DxI Rubella IgG	11	30.4	23.3	40.7
VIDAS Rub IgG II	26	38.0	31.0	42.0
VIDIA Rub IgG	5	24.0	21.0	24.0
Liaison Rubella IgG	25	18.0	14.0	25.1
ADVIA Centaur Rubella IgG	15	46.9	43.0	67.0
Immulate Rubella IgG	6	19.2	17.9	21.3

Tableau 6.2.4. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les IgG anti-rubéole pour l'échantillon S/7824 pour les trousse les plus utilisées

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
AxSYM Rubella IgG	53	52.5	31.0	77.2
Architect Rubella IgG	9	38.0	35.9	48.3
Access Rubella IgG	13	45.3	29.9	64.4
Unicel DxI Rubella IgG	11	48.8	35.0	60.6
VIDAS Rub IgG II	26	62.0	53.0	77.0
VIDIA Rub IgG	5	38.0	28.0	40.0
Liaison Rubella IgG	25	30.0	23.5	42.5
ADVIA Centaur Rubella IgG	15	135.0	124.0	231.0
Immulate Rubella IgG	6	32.2	29.8	36.4

163 laboratoires ont fourni une interprétation pour les IgG: vous trouverez un aperçu de ces interprétations dans le tableau 6.2.5.

Tableau 6.2.5. Aperçu des interprétations pour les IgG anti-rubéole pour l'enquête 2008/2

Interprétation	Nombre de labos
IgG positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination	105
IgG positives dans les 2 échantillons. Pas d'augmentation significative du titre.	50
IgG borderline positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination.	8
Total	163

Cinq des laboratoires ayant répondu "IgG borderline positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination" ont trouvé les IgG des 2 échantillons positives.

Pour les 2 autres interprétations nous avons calculé la différence entre les résultats quantitatifs pour les échantillons S/7799 et S/7824.

Pour "IgG positives un mois après vaccination et augmentation significative deux mois après vaccination"

nous avons ainsi calculé 106 "différences" (le résultat de S/7824 étant plus grand que celui de S/7799) (remarque: les 106 résultats (et non pas 105) sont dus au fait qu'un laboratoire a utilisé 2 techniques différentes; dans les calculs nous avons considéré les 2 techniques séparément): la médiane est 22.0 (minimum: 6.3 et maximum 166.0).

Pour "IgG positives dans les 2 échantillons. Pas d'augmentation significative du titre" nous avons calculé 48 "différences" (1 laboratoire n'a pas exprimé les résultats en IU/ml mais en titres: 1/64 pour l'échantillon S/7799 et 1/128 pour l'échantillon S/7824; 1 laboratoire a obtenu pour l'échantillon S/7799 une valeur plus élevée que pour l'échantillon S/7824): la médiane est 14.6 (minimum: 1.7 et maximum 33.0).

6.2.3.2 Cut-off pour l'immunité (IgG)

Le paragraphe suivant montre par appareil un aperçu des différents seuils utilisés par les laboratoires pour la détermination de l'immunité. Certains laboratoires ont mentionné le seuil pour l'immunité, d'autres ont mentionné la zone grise.

Architect Rubella IgG

6 labos: ≥ 10 UI/ml

1 labo: ≥ 10 UI/ml non enceinte, ≥ 15 UI/ml
enceinte

2 labos: ≥ 15 UI/ml

AxSYM Rubella IgG

1 labo: zone grise: 5-12 UI/ml; immunité: > 12
UI/ml

5 labos: > 5 UI/ml

2 labos: > 9.9 UI/ml

38 labos: ≥ 10 UI/ml

1 labo: > 12 UI/ml

5 labos: > 15 UI/ml

Access Rubella IgG

2 labos: zone grise: 10-15 UI/ml; immunité: > 15 UI/ml
1 labo: > 10 UI/ml
9 labos: ≥ 15 UI/ml
1 labo: analytique: > 14 UI/ml; limite clinique pour une rubéole passée (OMS): 10 UI/ml

Synchron LXi Rubella IgG

1 labo: ≥ 15 UI/ml

Unicel DXi Rubella IgG

2 labos: zone grise: 10-15 UI/ml; immunité: > 15 UI/ml
1 labo: > 10 UI/ml
7 labos: ≥ 15 UI/ml
1 labo: > 30 UI/ml

VIDAS Rub IgG II

2 labos: zone grise: 10-15 UI/ml; immunité: > 15 UI/ml
3 labos: > 10 UI/ml
1 labo: > 14.9 UI/ml
20 labos: ≥ 15 UI/ml

VIDIA Rub IgG

1 labo: > 9 UI/ml
1 labo: ≥ 10 UI/ml
3 labos: ≥ 15 UI/ml

Rubella Hemagglutination Inhibition Test

1 labo: 1/16

ETI-RUBEK-G Plus

1 labo: zone grise: 5-10 UI/ml; immunité: > 10 UI/ml

Liaison Rubella IgG

- 1 labo: zone grise: 7-9 UI/ml; immunité: \geq 10 UI/ml
- 1 labo: zone grise: 10-15 UI/ml; immunité: $>$ 15 UI/ml
- 10 labos: $>$ 10 UI/ml
- 7 labos: \geq 11 UI/ml
- 1 labo: $>$ 12 UI/ml
- 3 labos: $>$ 15 UI/ml
- 1 labo: $>$ 15 UI/ml of $>$ 10 UI/ml sur 2 prélèvements différés
- 1 labo: 11 UI/ml (cut-off technique); 20 UI/ml (cut-off clinique)

ADVIA Centaur Rubella IgG

- 1 labo: zone grise: 5-9 UI/ml; immunité: 10 UI/ml
- 1 labo: zone grise: 5-9.9 UI/ml; immunité: $>$ 10 UI/ml
- 1 labo: zone grise: 5-10 UI/ml; immunité: \geq 10 UI/ml
- 1 labo: $>$ 5 UI/ml
- 11 labos: \geq 10 UI/ml

Immulate Rubella IgG

- 1 labo: zone grise: 10-15 UI/ml; immunité: $>$ 15 UI/ml
- 1 labo: $>$ 9.9 UI/ml
- 3 labos: \geq 10 UI/ml
- 1 labo: $>$ 15 UI/ml

6.2.3.3 IgM

Les résultats des IgM sont repris dans le tableau 6.2.6

Tableau 6.2.6.: Résultats pour les IgM anti-rubéole pour l'enquête 2008/2

Résultat	S/7799	S/7824
Positif	94	-
Positif/Borderline ¹	8	-
Positif/Négatif ¹	1	-
Borderline	45	7
Négatif	6	147
Total	154	154

¹ Un certain nombre de laboratoires ont obtenu des résultats différents avec les différentes techniques qu'ils ont utilisées pour l'échantillon S/7799; en outre de ces 9 laboratoires avec résultats différents, 4 laboratoires ont obtenu des résultats positifs avec les 2 techniques utilisées et 1 laboratoire a obtenu des résultats borderline avec ces 2 techniques. Pour l'échantillon S/7824 les 4 laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats négatifs avec ces 2 techniques.

Pour l'échantillon S/799 nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et utilisé la même unité) pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs. Ils sont présentés dans le tableau 6.2.7.

Tableau 6.2.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les IgM anti-rubéole pour l'échantillon S/7799 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Résultat qualitatif ¹	Nbre de labos	Médiane	Minimum	Maximum
AxSYM Rubella IgM (indice) ²	4 - ; 36 bl ; 6 +	46	0.72	0.49	0.98
Architect Rubella IgM (indice) ³	1 - ; 7 bl ; 1 +	9	1.19	0.77	1.40
Access Rubella IgM (AU/ml) ⁴	1 bl ; 11 +	11	27.0	12.6	29.9
Unicel DxI Rubella IgM (AU/ml)	10 +	10	25.8	21.3	29.5
VIDAS Rub IgM (indice)	31 +	31	1.92	1.61	2.16
VIDIA Rub IgM (indice)	8 +	8	1.55	1.45	2.02
Liaison Rubella IgM (AU/ml)	1 - ; 6 bl ; 19 +	26	28.9	20.0	45.9
ADVIA Centaur Rubella IgM (indice)	15 +	15	1.58	1.32	1.83
Immulate Rubella IgM (indice)	1 bl ; 4 +	5	1.21	1.03	1.50

¹ - = négatif; bl = borderline; + = positif

² Un des laboratoires ayant répondu « négatif », a obtenu une indice de 0,721

³ Le laboratoire ayant répondu « positif » a obtenu une indice de 0.88; le laboratoire ayant répondu « négatif » a obtenu une indice de 1,18.

⁴ Un laboratoire a exprimé son résultat en ratio (2.18) et non pas en AU/ml.

149 laboratoires ont fourni une interprétation pour les IgM: vous trouverez un aperçu de ces interprétations dans le tableau 6.2.8.

Tableau 6.2.8. Aperçu des interprétations pour les IgM anti-rubéole pour l'enquête 2008/2.

Interprétation	Nombre de labos
IgM positives un mois après vaccination et IgM négatives dans le deuxième prélèvement ¹	107
IgM borderline un mois après vaccination et IgM négatives dans le deuxième prélèvement	26
IgM positives dans les 2 échantillons mais avec une diminution significative pour le deuxième échantillon	3
IgM positives dans les 2 échantillons. Pas d'augmentation ou diminution significative ²	2
IgM positives un mois après vaccination et IgM borderline dans le deuxième prélèvement	2
IgM négatives dans les 2 échantillons ³	7
Le résultat en zone grise de l'échantillon S/7799 rend l'interprétation impossible	1
Autres, non précisés	1
Total	149

- ¹ Deux de ces laboratoires ont fourni la réponse « borderline » pour le deuxième échantillon; dans ces laboratoires le résultat quantitatif se trouvait juste au-dessus de la limite entre « négatif » et « borderline » (respectivement 0.81 et 0.83 avec dans les 2 cas une zone grise de 0.80-1.20).
- ² Probablement ces 2 laboratoires ont coché la mauvaise interprétation: tous les 2 ont en effet obtenu un résultat positif pour le premier échantillon et un négatif pour le deuxième.
- ³ Un de ces laboratoires ayant fourni cette interprétation a déterminé les IgM sur l'échantillon S/7799 avec 2 techniques et a obtenu 2 résultats différents (positif et négatif); pour l'échantillon S/7824 le résultat était négatif

6.2.3.4 Cut-off pour l'immunité (IgM)

Le paragraphe suivant montre par appareil un aperçu des différents seuils utilisés par les laboratoires pour la détermination de la positivité des IgM. Certains laboratoires ont mentionné le seuil pour la positivité, d'autres ont mentionné la zone grise. Un certain nombre des laboratoires ayant utilisé 2 techniques, n'ont mentionné le seuil que pour une des techniques utilisées.

Architect Rubella IgM (indice)

2 labos: zone grise: 0.75-0.99; positif: ≥ 1.0
1 labo: zone grise: 1.2-1.6; positif: ≥ 1.6
1 labo: > 0.8
1 labo: > 1.0
4 labos: ≥ 1.6

AxSYM Rubella IgM (indice)

10 labos: zone grise: 0.6-0.799; positif: ≥ 0.8
1 labo: > 0.6
1 labo: > 0.799
31 labos: ≥ 0.8
1 labo: > 1

Access Rubella IgM (UA/ml)

3 labos: zone grise: 10-15 AU/ml; positif: > 15 UA/ml
8 labos: ≥ 15 UA/ml
1 labo: ratio: > 1.6

Synchron LXi Rubella IgM (UA/ml)

1 labo: ≥ 15 UA/ml

Unicel DXi Rubella IgM (UA/ml)

1 labo: zone grise: 10-15 UA/ml; positif: > 15 UA/ml
1 labo: > 10 UA/ml
8 labos: ≥ 15 UA/ml

VIDAS Rub IgM (indice)

4 labos: zone grise: 0.8-1.2; positif: ≥ 1.2
1 labo: > 0.79
1 labo: > 0.80
21 labos: ≥ 1.2
1 labo: ≥ 1.92

VIDIA Rub IgM (indice)

1 labo: > 0.99
4 labos: ≥ 1.0
1 labo: > 1.20

ETI-RUBEK-M Reverse Plus kit (indice)

4 labos: 0.407

Liaison Rubella IgM (UA/ml)

3 labos: zone grise: 20-25 UA/ml; positif: ≥ 25
UA/ml
6 labos: > 20 UA/ml
14 labos: ≥ 25 UA/ml
1 labo: > 30 UA/ml

ADVIA Centaur Rubella IgM (indice)

3 labos: zone grise: 0.8-0.99; positif: ≥ 1.0
12 labos: ≥ 1.0

Immulate Rubella IgM (indice)

1 labo: > 0.9
3 labos: ≥ 1.1

6.2.4 Commentaire sur les résultats de l'enquête

Introduction

Grâce à une bonne campagne de vaccination, la plupart des personnes en Belgique sont immunisées contre la rubéole. Il est très rare de diagnostiquer une infection primaire pendant la grossesse, ce qui a pour conséquence que nous ne connaissons plus très bien la réaction sérologique en cas d'infection primaire par la rubéole.

L'intérêt de ces 2 échantillons était de contrôler comment les diverses trouses qui sont disponibles sur le marché belge, réagissent en cas de vaccination. Les données que nous discutons ne concernent que la réaction sérologique après vaccination chez une patiente et elles doivent donc être interprétées avec une certaine réserve.

Discussion des résultats de la rubéole

IgG

Les deux échantillons de plasma ont été prélevés respectivement 6 et 10 semaines après vaccination. Le résultat attendu était donc un IgG positif dans le premier échantillon (S/7799) avec une augmentation dans le deuxième échantillon (S/7824).

Presque toutes les trouses utilisées ont pu démontrer les IgG dans le premier échantillon. Trois laboratoires ont obtenu un résultat borderline.

Le titre des IgG dans le deuxième échantillon était positif chez tous les participants et 112 laboratoires ont mentionné une "augmentation significative du titre".

L'analyse des titres obtenus par les différentes trouses montre que pour toutes les trouses la médiane est plus élevée pour le deuxième échantillon mais que cette augmentation de la médiane reste relativement limitée pour la plupart des trouses. Il semble que la patiente ne produise que lentement des anticorps.

Il est à noter que le cut-off utilisé pour déterminer l'immunité par les utilisateurs d'une même trousse peut varier énormément: ainsi nous trouvons par exemple pour l'AxSYM des différences de > 5 IU/ml à >15 IU/ml; pour l'Unicel Dxi même de > 10 à >30 IU/ml. Il est également bizarre qu'un laboratoire utilise des valeurs de cut-off différentes

pour patientes enceintes et non-enceintes. Il serait souhaitable que les cut-offs soient plus uniformes!

IgM

Le résultat attendu était des IgM positives dans le premier échantillon. Le deuxième échantillon pourrait nous donner une idée de la durée de la positivité des IgM après vaccination et ceci en fonction de la trousse utilisée. Il existe la même réserve que pour les IgG puisqu'il ne s'agit que du profil sérologique d'une patiente.

La plupart des laboratoires ont trouvé un titre borderline à positif pour les IgM dans le premier échantillon. Les utilisateurs d'AxSYM et Architect ont plus souvent obtenu un résultat borderline pour ce premier échantillon tandis que les utilisateurs d'Unicel, VIDAS, VIDIA et ADVIA ont plus souvent obtenu un résultat positif pour le premier échantillon.

Dans la plupart des cas le deuxième échantillon a été trouvé non-réactif, sauf 7 résultats borderline qui tous ont été obtenus par les utilisateurs de la trousse Vidas.

Nous remarquons la même variation dans le cut-off pour positivité des IgM chez les utilisateurs d'une même trousse. Ces variations des cut-off sont dans la plupart des cas dus à la zone grise qui est considéré comme positive par certains labos et pas par d'autres.

Conclusion

Ces 2 échantillons ont montré que les trousses disponibles pour la détection des IgG anti-Rubella ne posent pas de problèmes (voir également les commentaires des enquêtes précédentes). L'augmentation des IgG était relativement limitée chez cette patiente, mais a été constatée par toutes les trousses. L'augmentation limitée des IgG entre les 2 échantillons illustre bien qu'il est important de n'évaluer la différence en titre des IgG que si les 2 sérums sont testés dans le même « run ».

La positivité des IgM après vaccination était plutôt faible et n'a pas duré longtemps: la plupart des trousses n'ont plus pu détecter les IgM 10 semaines après vaccination.

Les résultats borderline des IgM retrouvés dans le deuxième échantillon par les utilisateurs du Vidas (7 sur 24 utilisateurs) peuvent donner l'impression que le Vidas IgM reste peut être un peu plus

longtemps positif que les autres trousse. Inversement les résultats borderline des IgM trouvés par certaines trousse peuvent donner l'impression que celles-ci sont un peu moins sensibles. Ces conclusions sont néanmoins prématurées étant donné que nous évaluons la réaction immunitaire d'une patiente.

Il est nécessaire que chaque laboratoire contrôle si les valeurs de Cut-Off utilisées pour la positivité des IgG et IgM sont correctes (les valeurs correctes sont, soit celles proposées par la firme, soit les « valeurs corrigées », après évaluation au sein du laboratoire. Ces deux types de valeurs sont correctes, à condition que les valeurs du laboratoire soient validées).

Qu'est une augmentation significative du titre?

Dans la littérature on parle d'une augmentation significative du titre quand on retrouve une augmentation de 4 x sur des échantillons couplés. Il s'agit ici des directives pour les titres obtenus avec e.a. le test d'inhibition de l'hémagglutination ou le test de fixation du complément. Pour les résultats exprimés en UI il n'existe pas de vraies directives. Ceci est probablement dû à la grande variation en UI obtenue avec les trousse de différents fournisseurs. Certaines trousse montrent une augmentation rapide des UI après une infection primaire, d'autres ont une courbe relativement plate. Une bonne connaissance de la trousse utilisée dans le laboratoire est donc d'une grande importance afin de pouvoir estimer si l'augmentation retrouvée doit être considérée comme significative ou non.

Une attitude prudente est de ne parler d'augmentation significative pour les échantillons où les valeurs initiales des IgG ne sont pas très élevées: ces valeurs se trouvent en effet dans la partie linéaire de la courbe standard et sont donc moins sujettes à de faibles variations en DO qu'on retrouve toujours en ELISA. Des valeurs plus élevées sont retrouvées vers la fin de la courbe, ce qui signifie que des faibles variations en DO peuvent donner une grande différence dans le résultat des IgG.

Anne Naessens, UZ VUB, Brussel

6.3. HCV

6.3.1 Les participants

175 laboratoires ont déterminé les anticorps totaux sur l'échantillon S/4665; 174 laboratoires les ont déterminés sur l'échantillon S/8604. Un certain nombre de laboratoires ont effectué plus d'un test pour cette détermination des anticorps totaux. Quelques laboratoires ont effectué 2 fois le même test avec le même réactif et ont obtenu les mêmes résultats pour ces 2 déterminations ; ces laboratoires n'ont été pris en compte qu'une fois dans l'analyse des résultats.

Le tableau 6.3.1 représente le nombre de tests effectués par échantillon.

Tableau 6.3.1. Nombre de tests effectués par échantillon pour les anticorps totaux anti-HCV

Echantillon	1 test	2 tests	Total
S/4665	171	4	175
S/8604	157	17	174

179 tests ont donc été effectués sur l'échantillon S/4665 et 191 tests sur l'échantillon S/8604. La nature de ces tests est représentée dans le tableau 6.3.2.

Tableau 6.3.2. Nature des tests HCV effectués par échantillon

Echantillon	1 test		2 tests		Total
	Elisa	Elisa + Elisa	Elisa + Blot	Elisa + LIA ¹	
S/4665	171	3	-	1	175
S/8604	157	6	5	6	174

¹ LIA = Line ImmunoAssay

Il y avait également un laboratoire de firme qui n'a effectué que les tests « blot » sur les 2 échantillons avec la trousse recomblot HCV IgG 2.0 (avec un résultat négatif pour l'échantillon S/4665 et un résultat positif pour l'échantillon S/8604).

Il reste à mentionner qu'un laboratoire a déterminé les IgM sur l'échantillon S/8604 avec la trousse Enzygnost anti-HCV IgM (résultat positif). Et 1 laboratoire a effectué une PCR (pour la recherche de

l'ARN de l'HCV) sur ce même échantillon : il a utilisé la trousse Cobas Taqman HCV (avec un résultat positif).

6.3.2 Réactifs utilisés

Le tableau 6.3.3. reprend le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs :

Tableau 6.3.3. Réactifs utilisés dans la détermination des Ac totaux anti-HCV

Fabricant	Réactif	S/4665	S/8604
Abbott	AxSYM HCV 3.0	58	60
	Architect HCV	33	33
	PRISM HCV	4	2
	Imx HCV 3.0	3	3
	HCV 3rd generation	3	3
BioRad	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel Dxl 800 ¹	15	15
	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Access ¹	12	12
	Monolisa Anti-HCV Plus Version 2	2	2
	DeciScan HCV Plus	-	1
Diapro	HCV Ab	1	1
Innogenetics	Innotest HCV Ab IV	5	5
	Innolia HCV score	1	6
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomBlot HCV IgG	-	2
Ortho Diagnostics	HCV version 3.0 Elisa	11	12
	Vitros ECI anti-HCV	7	8
	Chiron RIBA HCV 3.0 SIA	-	2
Roche	Cobas e anti-HCV	2	2
	Elecsys anti-HCV	1	1
Siemens	ADVIA Centaur HCV	21	21
Total		179	191

¹ Ces deux appareils sont produits par la firme Analis Beckman

6.3.3 Résultats

6.3.3.1 L'échantillon S/4665

174 laboratoires ont obtenu un résultat négatif (les laboratoires ayant utilisé 2 méthodes différentes ont obtenu des résultats négatifs avec les 2 méthodes). Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

Ce dernier est le seul laboratoire qui enverrait en routine l'échantillon à un centre de référence. Aucun des autres laboratoires ne l'enverrait.

6.3.3.2 L'échantillon S/8604

L'interprétation qualitative des résultats est présentée dans le tableau 6.3.4.

Tableau 6.3.4. Résultats qualitatifs pour HCV pour l'échantillon S/8604

Résultat	Nombre de Laboratoires
Positif	171
Positif/ Borderline ¹	2
Pas d'interprétation qualitative ²	1
Total	174

¹ Deux laboratoires ont obtenu un résultat différent avec les 2 techniques utilisées. Tous les autres laboratoires ayant obtenu 2 méthodes différentes ont obtenu le même résultat (positif) avec ces 2 techniques.

² Un laboratoire a fourni le résultat quantitatif mais pas l'interprétation qualitative (il est possible qu'il s'agisse d'un oubli au moment de remplir le formulaire de réponse).

Il est à remarquer que les 2 résultats borderline ont été obtenus avec des techniques de « blot ».

Pour les troussees les plus utilisées nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand un résultat quantitatif était mentionné) (tableau 6.3.5.). 20 laboratoires ont répondu le résultat > 11.0 pour la trousse Centaur HCV (Siemens).

Tableau 6.3.. Médiane, minimum et maximum pour les anticorps anti-HCV (échantillon S/8604) (les résultats sont exprimés en index (sample/cut-off)).

Fabricant	Réactif	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum
Abbott	Architect HCV	32	13.49	10.67	15.78
	AxSYM HCV 3.0	60	66.68	40.68	99.45
BioRad	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Access	12	7.14	6.63	8.40
	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel	15	7.42	5.68	8.40
Ortho Diagnostics	HCV Version 3.0	11	4.35	1.93	7.62
	Elisa Vitros Eci anti-HCV	8	12.55	11.20	13.80

A la question de savoir si en routine ils enverraient l'échantillon à un centre de référence, 93 laboratoires ont répondu «oui» et 81 ont répondu «non».

Parmi les laboratoires ayant répondu «non», se trouvent des laboratoires ayant réalisé un test «blot» (N=4 ; dont un a également effectué un test PCR) ou un test LIA (N=4). Quatre laboratoires ayant répondu «non» ont mentionné qu'ils effectuent eux-mêmes une confirmation et 2 autres qu'ils effectuent une PCR. Trois laboratoires ont mentionné que la confirmation de la sérologie n'est pas nécessaire mais qu'une détermination de la charge virale serait utile (éventuellement sur un nouveau prélèvement). Un laboratoire demanderait un 2^e échantillon pour contrôle et pour détermination de la charge virale.

Deux laboratoires ayant effectué un test LIA et un laboratoire ayant effectué un test « blot » ont répondu « oui » à cette question. Cinq des autres laboratoires ayant répondu « oui » ont mentionné qu'ils l'enverraient au centre de référence pour effectuer une PCR ou un génotypage (1 laboratoire demanderait un 2^e échantillon à ce propos) ; un laboratoire a mentionné de ne l'envoyer que s'il s'agit d'un patient non-connu ou en cas de suivi du traitement. Un laboratoire a mentionné qu'il demanderait un nouvel échantillon pour contrôle de la sérologie avec une autre technique.

6.3.4 Commentaires HCV

Les résultats attendus étaient : « négatif » pour l'échantillon S/4665 et « positif » pour l'échantillon S/8604.

Tous les laboratoires sauf 1 ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/4665 (174 des 175 labos). Etant donné que le laboratoire ayant obtenu un résultat borderline, enverrait en routine l'échantillon à un centre de référence pour confirmation, le résultat final sera également négatif pour ce laboratoire. Cet échantillon n'a donc pas posé de problèmes.

Tous les laboratoires ont également donné la réponse correcte pour l'échantillon S/8604. Il est à noter que 107 des 174 laboratoires (61,5%) n'effectuant pas de test de confirmation ou n'examinant pas l'échantillon par PCR enverraient en routine cet échantillon à un centre de référence. Les réponses ne permettent pas de distinguer si cette attitude est déterminée par l'intensité du résultat positif ou le contexte clinique de jaunisse.

Même si les tests actuels sont relativement spécifiques, la faible valeur prédictive positive d'un test dans une population à basse prévalence peut donner lieu à des résultats faux positifs si un seul test de dépistage est utilisé. Le contrôle du résultat est absolument nécessaire dans des cas pareils. La valeur prédictive positive du test est acceptable dans le contexte clinique de jaunisse. Et, comme mentionné par un laboratoire, il n'est pas nécessaire de confirmer un résultat positif s'il s'agit d'un patient connu.

Les tests Blot ou LIA ne sont pas les seules manières de confirmer un résultat sérologique. Si on obtient un résultat positif avec deux tests qui utilisent un antigène différent, on peut continuer en demandant la charge virale.

La façon de travailler d'un labo peut entre autres être déterminée par la disponibilité de certains tests dans le labo. Si un résultat de dépistage positif est immédiatement suivi par une PCR qualitative ou la détermination de la charge virale, le résultat positif du test moléculaire peut être considéré comme une confirmation de la

sérologie. En cas d'un résultat négatif on reste dans le doute sur le statut sérologique du patient. En effet, le patient peut avoir des anticorps anti-HCV d'une infection ancienne pendant que l'ARN d'HCV reste en dessous du seuil de détection. Dans ces cas il est conseillé de contrôler le statut sérologique du patient par un test blot ou un LIA. Même si la présence des anticorps anti-HCV ne distingue pas entre les infections récentes ou anciennes, un résultat positif confirmé doit donner lieu à une évaluation médicale complémentaire et à l'information du patient.

Une manière de limiter le nombre des tests de confirmation sérologique (chers) est d'utiliser l'intensité du résultat positif (le ratio « signal vis-à-vis cut-off ») et de ne faire confirmer les échantillons qui se trouvent en dessous d'un certain seuil de ce ratio « signal vis-à-vis cut-off »¹.

Il faut remarquer que le remboursement des tests moléculaires d'HCV et donc les demandes sont liés à certaines conditions. Nous référons à l'AR du 19 mars 2008 (paru dans le *Moniteur belge* du 18 avril 2008). Comme certains laboratoires l'ont remarqué à juste titre, il est conseillé de prélever un nouvel échantillon pour l'exécution des tests moléculaires.

Marjan Van Esbroeck, ITG, Antwerpen

REFERENCES

1. Guidelines for Laboratory Testing and Result Reporting of Antibody to Hepatitis C Virus. MMWR Recommendations and Reports. 2003;52(RR-3): 1-13.