

**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**

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2010/03

Microbiologie

Actinobacillus actinomycetemcomitans
Fusobacterium nucleatum
Haemophilus parainfluenzae
Salmonella Typhimurium var. Copenhagen
Streptococcus gallolyticus

Parasitologie

Schistosoma mansoni
Absence de parasites

Sérologie

Hépatite B
Hépatite C
VIH

ISP-10/03/Micro/Séro/Para/81

Service Biologie Clinique
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS EN MICRO/SERO/PARA

ISP (secrétariat)	:	02/642.55.21 – FAX : 02/642.56.45
(Dr. VERNELEN K.)	:	02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coordinateur)	:	e-mail : kris.vernelen@wiv-isp.be
Pharm. BOEL An	:	053/72.47.85 – FAX : 053/72.45.88
	:	e-mail : an.boel@olvz-aalst.be
Dr. CLAEYS Geert	:	09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
	:	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
Pharm. LONTIE Marc	:	016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
	:	e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. MAGERMAN Koen	:	011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
	:	e-mail : koen.magerman@jessazh.be
Dr. NAESSENS Anne	:	02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
	:	e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PADALKO Elizaveta	:	09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
	:	e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be
Dr. REYNDERS Marijke	:	050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
	:	e-mail : marijke.reynders@azsintjan.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

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm

I. Remarques générales

Pour la 3^e enquête du cycle 2010 (enquête 2010/3), le matériel suivant a été expédié le 4 octobre 2010.

1.1. Quatre échantillons lyophilisés pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés. Les laboratoires avec numéros d'agrément pairs et impairs ont reçu des germes différents portant le numéro d'échantillon M/10605.

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

1.3. Quatre échantillons de plasma pour la sérologie de l'HIV, de l'hépatite B et de l'hépatite C.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1. Pour les identifications et antibiogrammes:	171
2. Pour la parasitologie:	162
3. Pour la sérologie	
HIV:	170
HBV:	171
HCV:	165

Nous remercions Marc Lontie pour la mise à disposition des photographies dans ce rapport global.

Vous pouvez retrouver tous les échantillons, envoyés dans les différentes enquêtes sur notre site web aux pages suivantes:

Pour la bactériologie :

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/microbiologie.htm

et puis cliquer sous « Codes » sur « Germes envoyés »

Pour la parasitologie :

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm

et puis cliquer sous « Codes » sur « Parasites déjà envoyés »

Pour la sérologie infectieuse :

http://www.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/fr/inf_serologie.htm

et puis cliquer sur « Liste des paramètres évalués »

II. Identifications

2.1. Culture M/10237 *Streptococcus gallolyticus*

Taxonomie, biologie, identification et infections

S. gallolyticus était identifié antérieurement comme *S. bovis*, dont on distinguait un certain nombre de biotypes: grâce aux nouvelles connaissances taxonomiques, l'espèce est maintenant sub-divisée en sous-espèces et même en espèces telles que *S. equinus*, *S. gallolyticus*, *S. infantarius*, *S. pasteurianus* et *S. alactolyticus*. En cas de tels changements de noms, il est toujours difficile de choisir entre le nom scientifiquement correct et le nom connu par les médecins et utilisé dans la littérature ancienne. *S. bovis* et *S. gallolyticus* peuvent donc tous les deux être utilisés et pour la communication et nous pouvons même accepter *S. gallolyticus (bovis)*.

Ces espèces ont des caractéristiques en commun aussi bien avec les entérocoques (commensal intestinal, croissance sur BEA, positif à l'esculine, présence de l'antigène D de Lancefield) qu'avec les streptocoques viridans (sensibilité aux antibiotiques, non-hémolytiques, pas de croissance sur milieu avec NaCl 6,5%). Pour cette raison cette espèce n'est probablement pas ou mal identifiée dans beaucoup d'échantillons si on utilise des schémas d'identification simples. Pour les hémocultures on effectue d'habitude une identification plus approfondie, ce qui mène plus facilement à une identification correcte.

La fréquence dans les échantillons "simples" n'est pas très bien connue, mais la (sous)espèce *gallolyticus* est associée aux endocardites (17 % des agents causatifs d'endocardite) et à une malignité gastro-intestinale sous-jacente (retrouvé dans 77 % des cas) et la (sous)espèce *pasteurianus* aux méningites (le plus souvent chez les jeunes enfants).

Pour une identification complète du groupe *S. bovis* et des streptocoques en général, nous référons aux manuels et à la littérature de base.

Traitement :

En ce qui concerne la sensibilité aux antibiotiques, *S. gallolyticus* est proche des streptocoques viridans, et il est presque toujours sensible à la pénicilline. Pour le traitement des endocardites nous devons être plus précis et la valeur de la CMI est importante pour le choix correct de la combinaison d'antibiotiques et la durée du traitement. Ci-dessous nous reprenons le schéma conseillé par l'American Heart Association (qui est plus développé dans le Sanford guide). Une durée plus courte peut évidemment être utilisée en cas d'absence d'endocardite et il est également conseillé de rechercher une pathologie intestinale.

CMI \leq 0.12

B-lactame (PenG High Dose ou Ceftriaxone) + gentamicine: 2 semaines

B-lactame seule: 4 semaines (> 65, ou fonction rénale diminuée, ou lésion au nerf auditif)

6 semaines en cas de valve artificielle

0.5 \geq CMI > 0.12

B-lactame 4 semaines + gentamicine 2 semaines

B-lactame 6 semaines + gentamicine 2 semaines en cas de valve artificielle

CMI > 0.5 (et sensible)

Ampicilline ou pénicilline 4 – 6 semaines + gentamicine 2 semaines

6 semaines en cas de valve artificielle

Intolérance aux B-lactames :

Vancomycine 4 semaines, 6 semaines en cas de valve artificielle

D'autres modifications sont basées sur la durée de l'infection avant le diagnostic: 4 semaines si < 3 mois, à prolonger à 6 semaines en cas d'une durée > 3 mois

C'est une nécessité de tester la résistance à haut niveau des aminosides en cas d'endocardite par entérocoques; si une telle résistance est présente, nous ne pouvons pas conseiller la combinaison d'une pénicilline avec un aminoside. Cette forme de résistance est pour le moment probablement peu fréquente chez *S. viridans* et *S. gallolyticus*, il n'existe pas de directives techniques claires dans les directives du CLSI et de l'EUCAST, mais probablement il sera utile dans le futur d'inclure la détection de cette résistance si on teste ces espèces.

Geert Claeys, UGent

Références

1. Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus subsp. gallolyticus subsp. nov.*, *S. gallolyticus subsp. macedonicus subsp. nov.* and *S. gallolyticus subsp. pasteurianus subsp. nov.* Schlegel L, Grimont F, Ageron E, Grimont PA, Bouvet A. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2003 May; 53(Pt 3):631-45
2. Comprehensive study of strains previously designated *Streptococcus bovis* consecutively isolated from human blood cultures and emended description of *Streptococcus gallolyticus* and *Streptococcus infantarius subsp. coli.* Beck M, Frodl R, Funke G. *J Clin Microbiol.* 2008 Sep;46(9):2966-72. Epub 2008 Jul 9.
3. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2de en 3rd Edition, (CD-ROM ou livre) Lynne S. Garcia, LSG & Associates. ASM. Press.
4. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed. [2009 Churchill Livingstone \(Cdrom, E-livre, ou livre\)](#)
5. Sanford guide for antimicrobial therapy, Belgian Luxembourg Edition, 2010-2011. Belgische vereniging voor infectiologie en klinische microbiologie/ Société belge d'infectiologie et de microbiologie Clinique.
6. Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. Murray P R, Baron E J, Jorgensen J H, *et al*, eds. ASM Press, 2003.

2.2. Culture M/10452 Salmonella Tyhimurium var. Copenhagen

La souche **M/10452 (EEQ 2010/3)** est une Salmonella Tyhimurium, isolée d'une hémoculture prélevée chez une fille de 2 ans à Lemba, Kinshasa (dr. Lunguya, Institut National de Recherche Biomédicale). Le but de l'envoi était de discuter de la résistance de la souche.

Les **identifications** "Salmonella species" ou "Salmonella groupe B", "Salmonella species O:4,5" donnent une information clinique relevante qui satisfait aux besoins diagnostiques. La figure 1 résume le nom taxonomiquement correct et la façon de décrire la formule antigénique avec une explication. Pour une discussion plus ample nous référons aux rapports 2000/2, 2002/2 et 2004/1. Pour rappel: l'indication actuelle "4" (chiffres arabes) remplace l'ancienne indication "B" des groupes principaux. Dans l'utilisation courante le nom d'espèce "*Salmonella enterica*" (même s'il est microbiologiquement correct) peut prêter à confusion étant donné que les sérovars Salmonella Typhi et Salmonella Paratyphi tombent sous ce nom mais qu'ils ont une autre signification clinique. Une dénomination possible, utilisée dans la littérature anglo-saxonne, est la description "non-typhoïd Salmonella" (NTS), par laquelle on entend tous les sérovars de Salmonella à l'exception de Salmonella Typhi et Paratyphi A, B ou C.

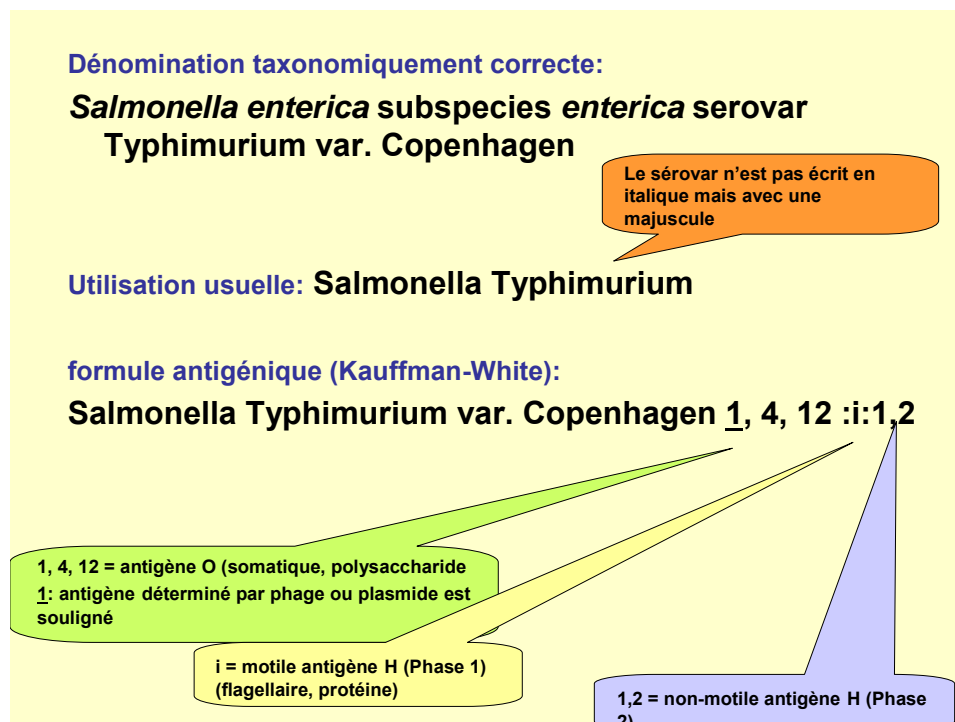


Figure 1. Résumé de la de nomenclature de la souche M/10452 (2010/3)

Cette souche à été isolée à partir du sang. Les directives du CLSI (M100-S20) conseillent, en cas d'isolats à partir des selles, de tester la sensibilité pour l'ampicilline, la triméthoprime-sulfaméthoxazole et une fluoroquinolone. Pour les **isolats extra-intestinaux** elles conseillent de tester également une céphalosporine de troisième génération.

La souche M/10452 est résistante aux **céphalosporines de troisième génération** et est productrice d'une Extended-Spectrum Beta-lactamase (ESBL, Bêta-lactamase à Spectre Etendu, BLSE). Les résultats du comité d'experts ont démontré une CMI pour la céfotaxime et la ceftriaxone de 4 mg/l pour les 2 antibiotiques. L'identification au niveau moléculaire (Prof. Youri Glupczynski) a démontré la présence du gène SHV-2 like (ESBL DNA low-density array, Check-Points, Wageningen, Pays-Bas).

Les nouveaux critères d'interprétation du CLSI (M100-S20) et les directives de l'EUCAST sont adaptés de telle façon que le test de confirmation de la production des BLSE n'est plus nécessaire – le conseil des directives CLSI précédentes pour rechercher la production des BLSE se limitait d'ailleurs aux *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. et *Proteus* spp. Une partie des réponses "sensibles" pour les céphalosporines de troisième génération en utilisant les disques peut être expliquée par l'utilisation d'anciens critères du CLSI.

En plus la souche M/10452 **est résistante aux quinolones** telles que la ciprofloxacine, la moxifloxacine et la levofloxacine. Les résultats du comité d'experts ont démontré une CMI pour la ciprofloxacine de 0.5 mg/l. A cause de leur pénétration intracellulaire, les quinolones sont des antibiotiques efficaces dans le traitement des infections extra-intestinales par *Salmonella* spp., et ils sont par exemple le premier choix pour le traitement de la fièvre typhoïde.

Les breakpoints du CLSI pour la ciprofloxacine pour les *Enterobacteriaceae* sont ≤ 1 mg/l et ≥ 4 mg/l, ceux de l'EUCAST sont ≤ 0.5 mg/l et > 1 mg/l. Les observations cliniques ont montré que certains patients souffrant de la fièvre typhoïde ne réagissaient pas bien au traitement avec les fluoroquinolones, malgré leur sensibilité apparente *in-vitro*. Ces isolats semblaient avoir une "decreased ciprofloxacin susceptibility" ("DCS"), avec des valeurs de CMI entre 0.125 mg/l et 1.0 mg/l. Le mécanisme de résistance est basé sur une mutation ponctuelle dans le gène *gyrA*, qui cause la substitution d'un acide aminé dans l'ADN-gyrase bactérienne, qui forme la cible des fluoroquinolones. Pour la souche M/10453 on a pu démontrer une mutation à la position Asp87 du gène *gyrA* (Dr. Sophie Bertrand, Institut de Santé Publique). La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones peut être détectée avec une bonne précision à l'aide de la résistance à l'acide nalidixique, un précurseur des fluoroquinolones. Les isolats résistants à l'acide nalidixique sont indiqués comme "nalidixic acid resistant *S. Typhi*" ou "NARST". Une petite proportion des souches "DCS" ne peut cependant pas être retrouvée à l'aide de la détection de la résistance à l'acide nalidixique.

Le manuel du CLSI conseille donc en cas d'isolats extra-intestinaux de tester la sensibilité à l'acide nalidixique et en cas de résistance d'informer le clinicien de la possibilité d'échec thérapeutique des quinolones. Les directives de l'EUCAST mentionnent comme alternative de tester l'acide nalidixique dans les versions antérieures mais l'ont supprimée depuis la version 1.2 de décembre 2010, et l'ont complétée avec la "low-level fluoroquinolone resistance", définie comme une valeur de CMI pour la ciprofloxacine > 0.064 mg/l. Il est donc nécessaire d'effectuer la détermination de la CMI pour la ciprofloxacine, qui peut être effectuée avec les E-tests ou languettes similaires (Tableau 1.)

CLSI M100-S21	EUCAST version 1.3
Breakpoints de Ciprofloxacine pour les Enterobacteriaceae: ≤ 1 mg/l et ≥ 4 mg/l	Breakpoints de Ciprofloxacine pour les Enterobacteriaceae: ≤ 0.5 mg/l et > 1 mg/l
Déterminer la résistance à l'acide nalidixique pour tester la "reduced fluoroquinolone susceptibility" en cas d'infections extra-intestinales à Salmonella spp.	"Low level fluoroquinolone resistance" de Salmonella spp. en cas de valeur de CMI de ciprofloxacine > 0.064 mg/l

Tableau 1. Sensibilité diminuée de Salmonella spp. aux fluoroquinolones, approche du manuel du CLSI et directives de l'EUCAST

Pour les infections extra-intestinales à « non-typhi Salmonella species » il existe des observations similaires (mais moins claires) d'échec thérapeutique en cas de 'low-level fluoroquinolone resistance' et aussi bien le manuel du CLSI que les directives de l'EUCAST incluent les NTS. dans les conseils mentionnés ci-dessus.

Le traitement des infections extra-intestinales à Salmonella spp. avec "decreased fluoroquinolone resistance" doit être évalué au cas par cas. Les céphalosporines de troisième génération sont l'alternative pour le traitement intraveineux, pour la thérapie orale on peut utiliser l'azithromycine. Il faut néanmoins remarquer que ni le manuel du CLSI, ni les directives de l'EUCAST ne fournissent des breakpoints pour cet antibiotique. De bons résultats dans le traitement des infections par S. Typhi ont été obtenus avec des valeurs de CMI ≤ 16 mg/l.

Jan Jacobs, ITG

Références

1. Al-Mashhadan M, Hewson R, Vivancos R, Keenan A, Beeching NJ, Wain J, et al. Foreign travel and decreased ciprofloxacin susceptibility in *Salmonella enterica* infections. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jan; [Epub ahead of print] <http://www.cdc.gov/eid/content/17/1/pdfs/10-0999.pdf>
2. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentieth informational supplement. CLSI document M100-S21. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.
3. Effa EE, Bukirwa H. Azithromycin for treating uncomplicated typhoid and paratyphoid fever (enteric fever). *The Cochrane collaboration*, 2008. <http://www2.cochrane.org/reviews/en/ab006083.html>
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.3, January 5, 2011. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v1.3_pdf.pdf
5. Hakanen AJ, Lindgren M, Huovinen P, Jalava J, Siitonen A, Kotilainen P. New quinolone resistance phenomenon in *Salmonella enterica*: nalidixic acid-susceptible isolates with reduced fluoroquinolone susceptibility. *J Clin Microbiol*. 2005; 43: 775-8 <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/43/11/5775>
6. Parry Suitable disk antimicrobial susceptibility breakpoints defining *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates with reduced susceptibility to fluoroquinolones *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Dec;54(12):5201-8. Epub 2010 Sep 13 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2981260/pdf/0963-10.pdf>
7. Slinger R, Desjardins M, McCarthy AE, Ramotar K, Jessamine P, Guibord C, Teye B. Suboptimal clinical response to ciprofloxacin in patients with enteric fever due to *Salmonella* spp. with reduced fluoroquinolone susceptibility: a case series. *BMC Infect Dis*, 2004;4:36 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC521077/pdf/1471-2334-4-36.pdf>

2.3. Culture M/10562 *Fusobacterium nucleatum*

Les *Fusobacteria* sont des bacilles anaérobies à Gram négatif. *Fusobacterium nucleatum* est l'espèce la plus fréquente dans ce genre. Ce microorganisme consiste en des bacilles très fins, peu colorés avec des extrémités en forme d'aiguilles tandis que les autres *Fusobacteria* existent sous forme de bacilles longs pléomorphes avec des extrémités rondes (voir figure). La morphologie en forme d'aiguille de *Fusobacterium nucleatum* est également retrouvée chez les *Capnocytophaga* spp. et *Leptotrichia* spp. microaérophiles dont ils doivent être distingués par un test méticuleux d'aérotolérance et leur positivité à l'indole.

Fusobacterium nucleatum est positif à l'indole et a une croissance jusqu'au bord du disque de vert brillant mais est inhibé par la bile. Il est sensible à la kanamycine et à la colistine mais résistant à la vancomycine. Ces caractéristiques et la morphologie à la coloration de Gram sont suffisantes pour l'identifier avec un degré acceptable de certitude. Les systèmes commerciaux obtiennent d'habitude de bons résultats pour le genre, mais pas toujours jusqu'au niveau de l'espèce (Blairon *et al.* 2010, *Anaerobe* 16:355).

Dans le genre *Fusobacterium*, c'est *F. nucleatum* qui est le plus fréquemment isolé dans les infections cliniques. Ce microorganisme est retrouvé dans la bouche, les voies aériennes supérieures, les voies génitales et gastro-intestinales. Il est souvent retrouvé dans des infections mixtes, en particulier dans les infections orales ou pleuro-pulmonaires, mais il peut parfois être isolé comme unique pathogène à partir d'empyèmes. Il est moins pathogène que *F. necrophorum*, souvent présent dans les infections sérieuses de la bouche et de voies aériennes supérieures, tel le syndrome de Lemierre. Il est presque toujours très sensible à tous les antibiotiques anti-anaérobies et la production d'une β -lactamase est exceptionnelle.

Il n'est pas très difficile de faire pousser cet anaérobie strict sur des milieux anaérobies qui contiennent toujours du sang, à condition qu'on atteigne une bonne atmosphère anaérobie. Les résultats des participants ont montré que ceci est le plus souvent le cas dans les labos belges, mais ça reste un facteur critique. Seuls 18 laboratoires n'ont pas obtenu de croissance, mais il faut cependant remarquer que 15 des 16 laboratoires ayant demandé un second envoi ont obtenu une croissance pour ce 2^e échantillon.

D. Pierard, UZ Brussel



Figure 1: morphologie de *F. nucleatum* dans la coloration de Gram.

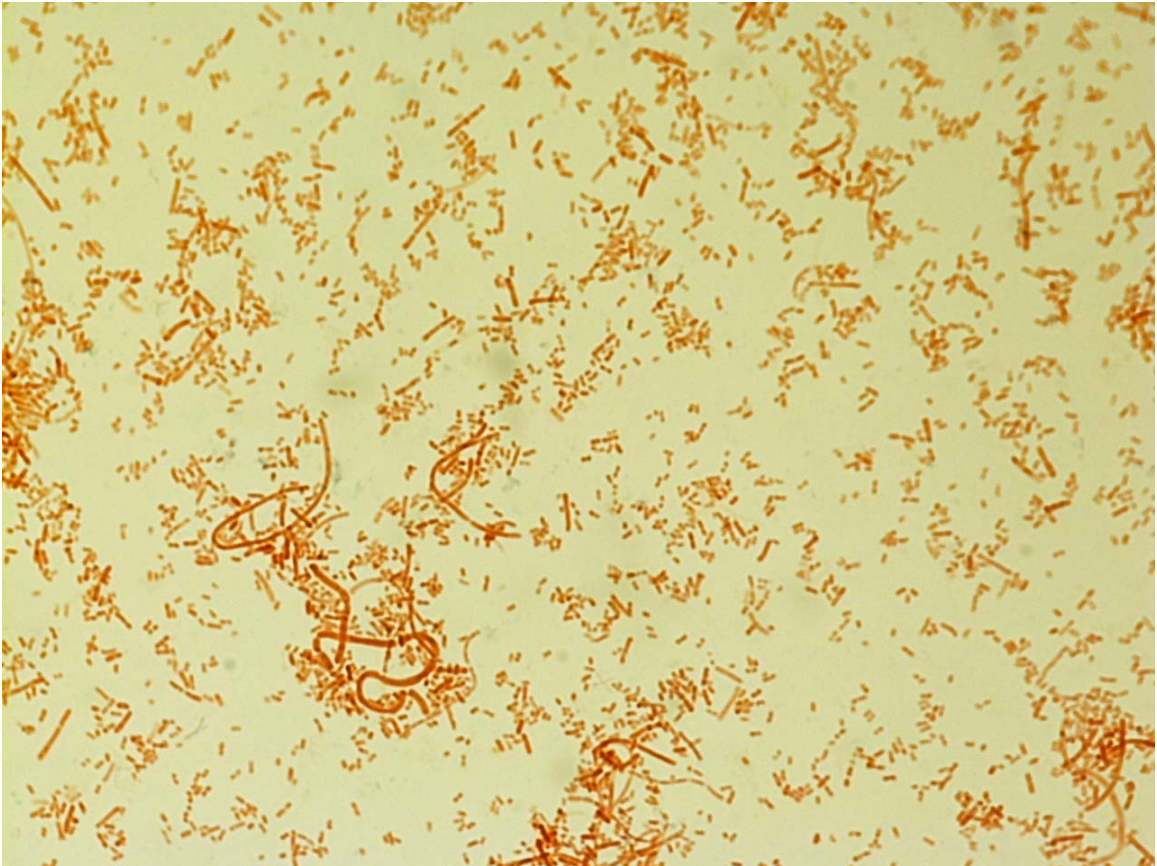


Figure 2: morphologie de *F. necrophorum* dans la coloration de Gram.

2.4. Culture M/10605 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* et *Haemophilus parainfluenzae*

Les échantillons M/10605, envoyés comme isolats d'hémocultures chez des personnes avec symptômes d'endocardite étaient respectivement *Haemophilus parainfluenzae* (labos impairs) et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (anciennement *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) (Aa.) (labos pairs).

Taxonomie, biologie et infections

Les 2 espèces appartiennent au groupe HACEK, l'acronyme de *Haemophilus aphrophilus* (qui est maintenant également placé dans le genre *Aggregatibacter*) et *H. parainfluenzae*, *Aa.*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* et *Kingella* (le plus souvent) *kingae*.

Haemophilus parainfluenzae appartient au genre *Haemophilus*, est un habitant du nasopharynx, est également retrouvé dans la plaque dentaire, ne joue presque aucun rôle dans les infections respiratoires et invasives (contrairement à l'autre espèce *H. influenzae*) mais peut de temps en temps causer des endocardites (ou autres infections profondes).

La bactérie qu'on appelait jadis *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a récemment été renommée comme *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Cette espèce est un commensal de la bouche, retrouvée dans la plaque supra-et sousgingivale et est fréquemment associée aux parodontites. Récemment on considère que l'association est plutôt la cause que la conséquence de beaucoup de formes adultes de parodontites, et qu'il n'y a qu'une relation causale pour certaines formes agressives, juvéniles. Les facteurs génétiques ont certainement leur importance et on fait une distinction entre les sérotypes virulents et non virulents. Cette espèce produit beaucoup de facteurs immunomodulateurs et de virulence. La morphologie des colonies des Aa. est décrite comme typiquement en forme d'étoile, mais l'expérience prouve que ceci n'est pas toujours caractéristique et dans la souche envoyée, 2 types de colonies étaient présents: certaines très sèches et en forme d'étoile et d'autres rondes et plutôt lisses.

Ces deux bactéries forment avec les autres membres du groupe HACEK, un défi d'identification quand elles sont isolées en culture pure à partir du sang (éventuellement aussi du liquide céphalo-rachidien et d'autres sites profonds): elles ne sont pas faciles à identifier et en plus elles sont souvent retrouvées chez des patients avec une évolution d'infection qui n'est pas tellement claire. A l'inverse, l'identification de ces espèces mène à une forte suspicion d'endocardite. L'évolution subaiguë est typique; dans beaucoup d'infections il y a une lente évolution qui dure de plusieurs semaines à plusieurs mois. Au moment où les hémocultures sont positives, il y a donc souvent déjà de grandes végétations, des infections métastatiques et même une cardiopathie chronique.

Les membres du groupe HACEK ne sont pas les seules bactéries fastidieuses qui sont retrouvées dans les hémocultures, en cas d'endocardite ou non. Dans le cas de la culture de l'*H. parainfluenzae* on a par exemple pensé aussi bien à l'examen de Gram (petits coccobacilles à Gram négatif) que cliniquement (femme agricultrice avec fièvre de source inconnue (FECI)) à une Brucellose, mais cette dernière a été exclue à cause de l'absence d'activité uréase. En cas de bactéries fastidieuses dans les hémocultures, il faut également penser aux Capnocytophaga (les espèces humaines et le *C. canimorsus*), *N. gonorrhoeae*, *Bordetella*, CDC DF3 et EF4, *Abiotropha* et *Streptobacillus*. Pour finir il y a le problème de suspicion clinique d'endocardite avec hémocultures négatives. Citons le Mandell: avec les milieux de cultures et les appareils pour hémocultures actuels, il n'est plus nécessaire de prolonger le temps d'incubation mais « Specialized methods, and not extended incubation times, are recommended for recovery of fastidious agents of IE. » Il s'agit d'agents causatifs d'endocardites très rares comme *Coxiella*, *Chlamydia*, *Legionella*, *Bartonella*, *Tropheryma*, *Spirillum minus* e.a., pour lesquels la sérologie et la détection moléculaire sont nécessaires.

Dans cette panoplie de bactéries fastidieuses à Gram négatif le microbiologiste classique peut s'en donner à cœur joie. Il n'existe pas de galeries qui comprennent tous les genres et groupes et en plus elles ne sont pas très précises. Plusieurs jours sont souvent nécessaires à l'identification de tels isolats. Les techniques moléculaires semblent prometteuses et l'analyse du matériel génétique est efficace, mais elles sont limitées à quelques centres et habituellement elles ne sont pas effectuées rapidement. Dans un futur proche l'analyse par spectrométrie de masse avec Malditof semble très prometteuse (identification le jour même de la croissance d'une colonie), et bientôt nous pouvons espérer que les heureux propriétaires d'un Malditof pourront effectuer l'identification des souches envoyées par d'autres laboratoires moins heureux.

Identification:

Il n'est pas dans notre intention de décrire l'identification complète du groupe HACEK et bactéries apparentées; les manuels de référence sont là pour ça. Nous nous limitons à une orientation générale.

Commençons par l'uréase (*Brucella* !), catalase, oxydase, facteurs X et V, un certain nombre de fermentations de sucres (le sucrose, le lactose, ... évt. le mannitol et le maltose), qui peuvent fournir déjà beaucoup d'informations utiles, et une bonne description de l'aspect macroscopique et microscopique.

- Une forte odeur d'*Haemophilus* (faites attention si vous sentez à des colonies (CAVE *Brucella*), colonies corrosives qui se répandent, bacilles relativement longs avec extrémités coupés: *Eikenella corrodens* (asaccharolytique)
- Petites colonies rondes, qui ne se répandent pas, coccobacillaires: *H. parainfluenzae* (facteur X (ou V?) +), *H. aphrophilus* et *A.a.* (X et V indépendant)
- Colonies corrodantes, qui n'ont pas d'odeur, bacilles longs et irréguliers avec 'courbes et bulles', indole (faible) +: *Cardiobacterium hominis*
- Très forte activité d'uréase, très petites colonies après 2-3 jours: *Brucella species*
- Gros diplococcobacilles, colonies souvent corrodantes: *Kingella (kingae)*
- Colonies qui se répandent (lipophiles), pas d'odeur, fines fusiformes (aérobie): *Capnocytophaga spp.*

Traitement :

Les bactéries HACEK sont traditionnellement sensibles à l'ampicilline, mais vu l'augmentation de la résistance on préconise actuellement la ceftriaxone 2 grammes par jour pendant 4 semaines (6 semaines en cas d'infection d'une valve artificielle). D'autres antibiotiques (par exemple ampicilline + gentamicine) peuvent être considérés sur base d'une détermination de la CMI.

Geert Claeys, UGent

Références

1. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. [Nørskov-Lauritsen N](#), [Kilian M](#). *Int J Syst Evol Microbiol*. 2006 Sep;56:2135-46.
2. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2de en 3rd Edition, (CD-ROM ou livre) Lynne S. Garcia, LSG & Associates. ASM. Press.
3. Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. Murray P R, Baron E J, Jorgensen J H, *et al*, eds. ASM Press, 2003.
4. Mandell: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed. 2009 Churchill Livingstone (Cdrom, E-livre, ou livre)
5. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. [EJ Baron](#), [JD Scott](#), [LS Tompkins](#) Clin Infect Dis (2005) 41: 1677-80.
6. Sanford guide for antimicrobial therapy, Belgian Luxembourg Edition, 2010-2011. Belgische vereniging voor infectiologie en klinische microbiologie/ Société belge d' infectiologie et de microbiologie Clinique.

III. Résultats des identifications

171 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse.
Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1. Culture M/10237 *Streptococcus_gallolyticus/bovis* (endocardite)

<u><i>Streptococcus gallolyticus ssp. gallolyticus</i></u>	25	14.6%
<u><i>Streptococcus gallolyticus</i></u>	36	21.1%
<u><i>Streptococcus type D gallolyticus</i></u>	1	0.6%
<u><i>Streptococcus gallolyticus (bovis)</i></u>	14	8.2%
<u><i>Streptococcus gallolyticus (bovis I)</i></u>	1	0.6%
<i>Streptococcus gallolyticus ssp. pasteurianus</i> (biotype II/2)	1	0.6%
<u><i>Streptococcus bovis</i></u>	55	32.2%
<u><i>Streptococcus bovis I</i></u>	5	2.9%
<i>Streptococcus bovis II</i>	3	1.7%
<i>Streptococcus mutans</i>	23	
<i>Streptococcus gallactolyticus</i>	1	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1	
<i>Streptococcus milleri</i> groupe	1	
<i>Streptococcus viridans</i>	1	
<i>Streptococcus species</i>	2	
Cocques à Gram positif	1	

Résumé des réponses à la question de savoir si cet échantillon serait envoyé en routine:

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	5
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	23
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	3
N'est pas envoyé	137
Pas de réponse à la question	3
Total	171

¹ Cinq laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme (3 laboratoires ont explicitement déclaré qu'il s'agit de la détermination de la CMI).

3.2. Culture M/10452 *Salmonella Typhimurium* var. Copenhagen (hémoculture)

<u><i>Salmonella</i> species</u>	115	67.3%
<u><i>Salmonella</i> species O:4,5</u>	1	0.6%
<u><i>Salmonella</i> groupe B</u>	40	23.4%
<u><i>Salmonella</i> groupe B O:4,5</u>	2	1.2%
<i>Salmonella</i> groupe B O4: +; Hi: -; H1,2:+	1	0.6%
<u><i>Salmonella</i> groupe B Vi négatif</u>	1	0.6%
<u><i>Salmonella Typhimurium</i></u>	4	2.4%
<u><i>Salmonella enterica</i></u>	4	2.4%
<u><i>Salmonella enterica</i> groupe B</u>	1	0.6%
<i>Salmonella paratyphi A</i> groupe B	1	
<i>Salmonella</i> groupe D	1	

36 laboratoires mentionnent explicitement la présence d'une BLSE lors de l'identification. Un laboratoire mentionne la présence d'une BLSE et la résistance aux quinolones.

Résumé des réponses à la question de savoir si cet échantillon serait envoyé en routine:

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	65
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	20
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	72
Dans un but épidémiologique + pour d'autres raisons (non spécifiées)	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + pour d'autres raisons (non spécifiées)	1
La raison pour l'envoi n'est pas spécifiée	1
N'est pas envoyé	11
Total	171

¹ Quatre laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification (sérotypage) ; un laboratoire a déclaré qu'il s'agit de la détermination de l'antibiogramme de l'acide nalidixique.

² Quatorze laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification (détermination de l'espèce, sérotypage) ; deux laboratoires ont déclaré qu'il s'agit de la détermination de l'antibiogramme.

3.3. Culture M/10561 *Fusobacterium nucleatum* (empyème)

<i>Fusobacterium</i> species	69	40.4%
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	70	40.9%
<i>Fusobacterium necroforum/nucleatum</i>	1	0.6%
<i>Fusobacterium necroforum</i>	2	
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	1	
Germe anaérobie: <i>Fusobacterium</i> ?	1	
Bacille fusiforme à Gram négatif	1	
Bacille fusiforme anaérobie à Gram négatif; pas de croissance pour effectuer une identification approfondie: La coloration de Gram montre une image de <i>Fusobacterium</i>	1	
Bactérie fusiforme anaérobie à Gram négatif	1	
Bacille fusiforme à Gram négatif; culture en aérobie et en anaérobie négatif	1	
Suspicion de <i>Fusobacterium</i> à l'examen direct; culture négatif	1	
En anaérobie 1 colonie de bacilles gram - longs fins, n'ayant plus repoussé après repiquage	1	
Pas de croissance; coloration de Gram: bacille long, fusiforme à Gram négatif	1	
Pas de croissance; coloration de Gram: bacille fin à Gram négatif	1	
Pas de croissance; coloration de Gram: bacille à Gram positif	1	
Pas de croissance	10	
Pas de présence de pathogènes en aérobie; envoyer pour recherche d'anaérobies	1	
<i>Leptotrichia</i> species	1	
<i>Prevotella</i> species	1	
<i>Propionibacterium acnes</i>	2	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	
<i>Streptococcus bovis</i>	1	
<i>Tissierella praeacuta</i>	1	

Les réponses mentionnant « anaérobie » et où le laboratoire a déclaré qu'en routine l'échantillon serait envoyé pour identification, sont considérées comme acceptables.

Résumé des réponses à la question de savoir si cet échantillon serait envoyé en routine:

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	15
Dans un but épidémiologique + recherches d'anaérobies	1
En cas de doute les anaérobies sont envoyées	1
N'est pas envoyé	128
Pas de réponse à la question	25
Total	171

¹ Trois laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification.

3.4. Culture M/10605 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (labos pairs ; N = 101) et *Haemophilus parainfluenzae* (labos impairs ; N = 70) (hémoculture)

Labos avec numéro d'agrément pair

<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	40	39.6%
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	14	13.8%
<i>Actinobacillus (Aggregatibacter) actinomycetemcomitans</i>	3	3.0%
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> ou <i>Brucella</i> species: envoi au laboratoire de référence	1	1.0%
<i>Haemophilus actinomycetemcomitans</i>	1	
<i>Actinobacillus hominis</i>	1	
<i>Actinobacillus</i> species	3	
<i>Haemophilus</i> species	1	
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	3	
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	2	
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	2	
<i>Brucella</i> species	2	
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	
<i>Francisella tularensis</i>	2	
<i>Gemella haemolysans</i>	1	
<i>Pasteurella</i> species	4	
<i>Pasteurella multocida</i>	10	
<i>Pasteurella canis</i>	1	
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	
Bacille à Gram négatif, non fermentant fastidieux; envoi pour identification	1	
Bacille à Gram négatif, non identifié	1	
Petit bacille à Gram négatif, de 2 aspects morphologiques différents - non identifié	1	
Cocco-bacille à Gram négatif	1	
Parvobactérie à Gram négatif	1	

Résumé des réponses à la question de savoir si cet échantillon serait envoyé en routine:

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme [†]	42
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	3
N'est pas envoyé	50
Pas de réponse à la question	5
Total	101

[†] Quatre laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification.

Labos avec numéro d'agrément impair

<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	57	81.4%
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> biotype II	1	1.4%
<i>Haemophilus parainfluenzae/aphrophilus</i>	1	1.4%
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	
<i>Haemophilus species</i>	2	
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	2	
<i>Actinobacillus equuli</i>	1	
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1	
<i>Actinobacillus species</i>	1	
<i>Aerococcus viridans</i>	1	
<i>Pasteurella canis</i>	1	
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1	

Résumé des réponses à la question de savoir si cet échantillon serait envoyé en routine:

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	2
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	11
N'est pas envoyé	55
Pas de réponse à la question	2
Total	70

¹ Deux laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification.

Le fait que certains laboratoires aient fourni le résultat appartenant à l'autre groupe, nous laisse à penser que quelques-uns pourraient s'être consultés par téléphone. Même s'il vous est évidemment possible de délibérer, nous vous conseillons de toujours répondre le résultat obtenu dans la mesure où il n'est pas évident que tous les laboratoires aient reçu les mêmes échantillons.

Nous enverrons encore dans le futur ce type d'envois divisés.

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.

Un laboratoire n'a pas renvoyé de résultat pour l'antibiogramme de l'échantillon M/10237 mais a mentionné qu'en routine l'antibiogramme de ce germe est envoyé à un autre laboratoire. Un autre laboratoire n'a pas renvoyé de résultat pour l'antibiogramme du M/10237 sans préciser la raison. Un troisième laboratoire n'a renvoyé de résultats pour aucun des 2 souches.

En d'autres termes, 168 antibiogrammes ont donc été effectués pour le M/10237 et 170 pour le M/10452.

4.1 Culture M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*)

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

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes ; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat le plus résistant dans le tableau suivant. Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs céphalosporines de 3e génération.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline	S	164	135 ¹	21	1	7 ²
Vancomycine	S	161	159 ³	-	-	1 ⁴
Céphalosporines de 3e génération						
Ceftazidime	S	19	18	-	-	1 ⁵
Ceftriaxone	S	54	49 ⁶	1	1	3 ⁷
Céfotaxime	S	76	72	-	3	1 ⁸
Céfépime	S	2	2	-	-	-
Céfixime		1	-	-	1	-
Céphalosporines de 3e génération ⁹	S	4	4	-	-	-

¹ Deux laboratoires ont cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

² Six laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'ils n'effectuent pas) est nécessaire. Un laboratoire (avec un résultat de 0.185 mg/L pour le test MICE) a répondu: « le dosage de l'antibiotique est modifié en fonction de la CMI ».

³ Un laboratoire a cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

⁴ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

⁵ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

⁶ Un laboratoire a cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

⁷ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire. Un deuxième laboratoire a mentionné que la sensibilité aux céphalosporines dépend de la sensibilité à la pénicilline (pour laquelle une détermination de la CMI, qu'il n'effectue pas, est nécessaire). Un troisième laboratoire (avec un résultat de 0.75 mg/L pour le test MICE) a répondu: « le dosage de l'antibiotique est modifié en fonction de la CMI ».

⁸ Un laboratoire a mentionné que la sensibilité aux céphalosporines dépend de la sensibilité à la pénicilline (pour laquelle une détermination de la CMI, qu'il n'effectue pas, est nécessaire).

⁹ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la céphalosporine utilisée.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.11. 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 ayant utilisé l'appareil Osiris pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans le tableau 4.1.10.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			*
					S	I	R	
Pénicilline	12 (15)	6 ¹	29	10 – 34	10	1	1	3 ²
Vancomycine	25 (29)	30	21	13 – 25	26	-	-	3 ³
Céphalosporines de 3e génération								
Ceftazidime	3 (4)	30	30	18 – 30	3	-	-	1 ⁴
Ceftriaxone	12 (12)	30	28	24 – 31	10	-	1	1 ⁵
Céfotaxime	14 (14)	30	30	22 – 38	13	-	1	-

¹ 6 µg = 10 U.

² Trois laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire. Deux d'entre eux n'effectuent pas eux-mêmes cette détermination; le troisième l'a effectué avec résultat « I ».

³ Trois laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire. Deux d'entre eux n'effectuent pas eux-mêmes cette détermination; le troisième l'a effectué avec résultat « S ».

⁴ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

⁵ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs ("old") et avec les nouvelles charges CLSI séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.1.3. a en b. Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres de ces disques sont repris dans les tableaux 4.1.11 a et b.

Tableau 4.1.3.a. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	48 (53)	5	28	21 – 38	47	4	-	2 ¹
Vancomycine	51 (58)	5	20	17 – 35	58 ²	-	-	-
Céphalosporines de 3e génération								
Ceftazidime	9 (11)	30	28	25 – 31	11	-	-	-
Ceftriaxone	17 (19)	30	30	20 – 36	17 ³	1	-	1 ⁴
Céfotaxime	21 (21)	30	32	28 – 40	19	-	1	1 ⁵
Céfépime	1(1)	30	30	30 – 30	1	-	-	-

¹ Deux laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire. Un n'effectue pas lui-même cette détermination; l'autre l'a effectué avec résultat « I ».

² Un laboratoire a cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

³ Un laboratoire a cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

⁴ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

⁵ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire.

Tableau 4.1.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline	4 (5)	6 ¹	35	30 – 36	4 ²	-	-	1 ³
Vancomycine	2 (2)	30	23.5	22 – 25	2	-	-	-
Céphalosporines de 3e génération								
Céfotaxime	- (2)	2 charges ≠	-	-	2	-	-	-

¹ 6µg = 10 U

² Deux laboratoires ont cependant conseillé de confirmer ce résultat par une détermination de la CMI.

³ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI (qu'il n'effectue pas) est nécessaire

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/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

	Nombre de laboratoires	*	CMI (mg/L)								Résultat			
			≤0.016	0.016 – 0.032	0.032 – 0.064	0.064 – 0.128	0.128 – 0.256	0.256 – 0.512	0.512 – 1.024	1.024 – 2.048	S	I	R	
Pénicilline	46	1 ¹	1		5	34	5					40	6	-
Vancomycine	27	3 ²					15	6	2	1		27	-	-
Céphalosporines de 3e génération														
Ceftriaxone	16				9	5	2					16	-	-
Céfotaxime	17				5	11		1				17	-	-
Céphalosporine 3 ^e gén	1				1			1				2	-	-

¹ En plus un laboratoire a mentionné une CMI <0.125 mg/L.

² En plus un laboratoire a mentionné une CMI <0.5 mg/L.

Les résultats obtenus avec le test MICE sont repris dans le tableau 4.1.5.

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec le test MICE pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

	Nombre de laboratoires	CMI (mg/L)				Résultat			
		0.12 – 0.24	0.24 – 0.48	0.48 – 0.96	0.96 – 1.92	S	I	R	*
Pénicilline	19	8	11			9	9	-	1 ¹
Vancomycine	12	3		8	1	12	-	-	-
Céphalosporines de 3e génération									
Ceftriaxone	3	2	2	1		2	-	-	1 ²
Céfotaxime	10	1	9		2	10	-	-	-

¹ Un laboratoire (avec un résultat de 0.185 mg/L pour le test MICE) a répondu: « le dosage de l'antibiotique est modifié en fonction de la CMI ».

² Un laboratoire (avec un résultat de 0.75 mg/L pour le test MICE) a répondu: « le dosage de l'antibiotique est modifié en fonction de la CMI ».

Les résultats obtenus avec le MIC Test Strip test sont repris dans le tableau 4.1.6.

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec le MIC Test Strip test pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Pénicilline	3	2 x S 1 x I	0.032 mg/L; 0.064 mg/L 0.25 mg/L
Vancomycine	1	1 x S	0.25 mg/L
Céphalosporines de 3e génération			
Ceftriaxone	1	1 x S	0.19 mg/L
Céfotaxime	1	1 x S	0.5 mg/L

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.1.7.

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Pénicilline	8	-	-	≤0.12	6 (8)	4	-	-	≤0.12	3 (4)
Vancomycine	8	-	-	≤0.5	8 (8)	5	-	-	≤0.5	4 (5)
Céphalosporines de 3e génération										
Ceftazidime	2	-	-	0.12	1 (2)	-	-	-	-	-
Céfotaxime	-	-	-	-	-	1	-	-	≤1	1 (1)
Céfixime	-	-	-	-	-	-	-	1	-	- (1)
Céphalosporine de 3e gén	-	-	-	-	-	1	-	-	-	- (1)

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

- pour la pénicilline, un laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.06 mg/L pour le Vitek 2 et un autre laboratoire une CMI ≤ 0.1

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.1.8.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	S	I	R
Pénicilline	14	1	-
Vancomycine	17	-	-
Céphalosporines de 3e génération			
Céfotaxime	12	-	1
Céphalosporine de 3e génération	1	-	-

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.1.9.

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pénicilline	5	-	-	0.125	4 (5)
Vancomycine	6	-	-	≤0.5	3 (6)
Céphalosporines de 3e génération					
Ceftriaxone	1	-	-	0.25	1 (1)
Céfotaxime	4	-	-	≤0.5	3 (4)

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

- pour la pénicilline 1 laboratoire a retrouvé une CMI de 0.25 mg/L
- pour la vancomycine 2 laboratoires ont retrouvé une CMI de 0.25 mg/L et 1 laboratoire a retrouvé une CMI ≤ 1 mg/L
- pour la céfotaxime 1 laboratoire a retrouvé une CMI de 0.125 mg/L

Les résultats obtenus avec les appareils Osiris et Sirscan sont repris dans les tableaux 4.1.10. et 4.1.11 a et b.

Etant donné que la plupart des 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 4.1.10. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	3 (3)	6 ¹	30	30 – 39	3	-	-
Vancomycine	2 (2)	30	22	22 – 22	2	-	-
Céphalosporines de 3e génération							
Ceftazidime	1 (1)	10	21	21 – 21	1	-	-
Ceftriaxone	2 (2)	30	28.5	27 – 30	2	-	-
Céfépime	1 (1)	30	34	34 – 34	1	-	-

¹ 6µg = 10 U

Tableau 4.1.11.a. obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	1 (3)	5	20	20 – 20	2	1	-
Vancomycine	1 (3)	5	20	20 – 20	3	-	-
Céphalosporines de 3e génération							
Ceftriaxone	1 (1)	30	28	28 – 28	1	-	-

Tableau 4.1.11.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10237 (*Streptococcus gallolyticus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline	3 (4)	6 ¹	30	28 – 31	4	-	-
Vancomycine	5 (6)	30	22	20 – 24	6	-	-
Céphalosporines de 3e génération							
Ceftazidime	- (1)	-	-	-	1	-	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	31	31 – 31	1	-	-
Céfotaxime	2 (3)	30	31.5	30 – 33	3	-	-

¹ 6µg = 10 U

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a utilisé le Microscan pour la détermination de la sensibilité à la pénicilline et à la vancomycine (les deux « S »)
- un laboratoire n'a pas mentionné la technique utilisée pour la détermination de la sensibilité à la pénicilline (résultat: « I »)
- un laboratoire a déterminé la sensibilité à la pénicilline avec le disque oxa1 (Rosco classique) diamètre 18, brut S: →pénicilline S
- deux laboratoires ont mentionné qu'il faut effectuer une détermination de la CMI

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:
 - S→I
 - Rosco classique: 2 labos (également basés sur les résultats d'autres techniques)
- La ceftriaxone:
 - I/R→R
 - Disques papier: 1 labo
 - S→I
 - Rosco classique: 1 labo
- La norfloxacine
 - I/R→R
 - Disques papier: 1 labo
 - I→R
 - Rosco classique: 1 labo
 - S→R
 - ATB: 1 labo

4.2 Culture M/10452 (*Salmonella species*)

Tous les laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous les antibiotiques. Certains participants ont déterminé la sensibilité à plusieurs quinolones ou à plusieurs céphalosporines de 3^e génération. Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat le plus résistant dans le tableau suivant.

Un grand nombre de laboratoires ont pourvu leur antibiogramme d'une remarque:

- 75 laboratoires ont mentionné la présence d'une BLSE
- 1 laboratoire a mentionné que la BLSE est négative
- 7 laboratoires ont mentionné de ne pas pouvoir évaluer la sensibilité aux fluoroquinolones étant donné qu'ils n'effectuent pas d'antibiogramme pour l'acide nalidixique
- 21 laboratoires ont mentionné une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones sur base de la résistance à l'acide nalidixique
 - 12 ont interprété les fluoroquinolones comme résistants
 - 3 ont interprété les fluoroquinolones comme intermédiaire sensibles/ résistants
 - 6 ont interprété les fluoroquinolones comme sensibles mais ont ajouté des remarques qu'un échec thérapeutique est possible, que la détermination de la résistance à l'acide nalidixique est nécessaire, que le clinicien serait contacté,...

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Acide nalidixique	R	112	-	-	112	-
Ampicilline	R	164	-	-	162	2 ¹
Céphalosporines de 3e génération						
Céfotaxime	R	86	5	7	74	-
Ceftazidime	R	58	8	4	46	-
Ceftriaxone	R	34	1	7	24	2 ²
Céfépime	R	1	-	-	1	-
Céphalosporine de 3e gén ³	R	5	1	-	4	-
Fluoroquinolones						
Ciprofloxacine		131	38 ⁴	8	79	6 ⁵
Lévofloxacine		25	10	-	15	-
Moxifloxacine		1	-	-	-	1 ⁶
Norfloxacine		11	3	-	7	1 ⁷
Ofloxacine		6	3 ⁸	1	-	2 ⁹
Fluoroquinolone ¹⁰		2	-	-	2	-

¹ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre et le résultat brut (« R ») mais pas le résultat final. Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.

² Un laboratoire a bien mentionné le diamètre et le résultat brut (« R ») mais pas le résultat final. Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.

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

⁴ Un certain nombre de laboratoires ont pourvu la réponse « S » d'une remarque:

- l'acide nalidixique est résistant:→ possibilité de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine: →l'éradication peut être incomplète
- le résultat de la ciprofloxacine est sous réserve étant donné qu'il n'y a pas de résultat pour l'acide nalidixique (envoyé en routine) et qu'il s'agit d'un isolat extra-intestinal

- l'acide nalidixique est résistant:→ contact téléphonique avec le clinicien pour discussion du traitement
 - l'acide nalidixique pourrait indiquer une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine in vivo mais n'est pas testé en routine au labo
 - risque d'échec thérapeutique en cas de traitement avec fluoroquinolones
- ⁵ Cinq laboratoires ont mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'ils ne testent pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones. Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire
- ⁶ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.
- ⁷ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.
- ⁸ Un laboratoire a mentionné que l'acide nalidixique est résistant:→ sensibilité diminuée aux fluoroquinolones in vivo (détermination de la CMI nécessaire).
- ⁹ Deux laboratoires ont mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'ils ne testent pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.
- ¹⁰ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la fluoroquinolone 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.

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

Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Osiris pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans le tableau 4.2.8.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Acide nalidixique	10 (11)	30	6	6 – 11	-	-	11	-
Ampicilline	20 (21)	10	6	6 – 10	-	-	20	1 ¹
Céphalosporines de 3 ^e génération								
Céfotaxime	10 (11)	30	18.5	15 – 22	-	4	7	-
Ceftazidime	6 (7)	30	22	13 – 23	3	-	4	-
Ceftriaxone	6 (6)	30	18.5	16 – 24	1	1	3	1 ²
Fluoroquinolones								
Ciprofloxacine	14 (15)	5	25	21 – 26	9 ³	-	4	2 ⁴
Lévofloxacine	3 (3)	5	20	18 – 23	1	-	2	-
Norfloxacine	1 (1)	10	13	13 – 13	-	1	-	-
Ofloxacine	- (2)	2 charges ≠	-	-	1	-	-	1 ⁵

¹ Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.

² Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.

³ Un laboratoire a pourvu la réponse « S » d'une remarque: « l'acide nalidixique pourrait indiquer une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine in vivo mais n'est pas testé en routine au labo »

⁴ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones. Un laboratoire a mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.

⁵ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.

Comme lors des rapports précédents, nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les disques avec charges classiques Neosensitabs ("old") et avec les nouvelles charges CLSI séparément. Vous trouvez ces résultats dans les tableaux 4.1.3. a et b. Les résultats des laboratoires ayant utilisé l'appareil Sirscan pour l'interprétation des diamètres 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 (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Acide nalidixique	17 (23)	130	9 ¹	9 – 10	-	-	23	-
Ampicilline	24 (31)	33	9 ²	9 – 12	-	-	30	1 ³
Céphalosporines de 3e génération								
Céfotaxime	14 (15)	30	22	17 – 26	2	1	12	-
Ceftazidime	8 (10)	30	23.5 ⁴	19 – 26	3	2	5	-
Ceftriaxone	13 (14)	30	19	16 – 22	-	2	11	1 ⁵
Fluoroquinolones								
Ciprofloxacine	20 (22)	10	25	16 – 31	12 ⁶	3	5	2 ⁷
Lévofloxacine	7 (8)	5	19	18 – 24	3	-	5	-
Norfloxacine	1 (1)	10	17	17 – 17	1	-	-	-
Ofloxacine	2 (2)	10	21	20 – 22	2 ⁸	-	-	-

¹ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre égal à « 0 ».

² En outre 2 laboratoires ont mentionné un diamètre égal à « 0 ».

³ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre (10 mm) et le résultat brut (« R ») mais pas le résultat final.

⁴ En outre un laboratoire a mentionné un diamètre égal à « 0 ».

⁵ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre (18 mm) et le résultat brut (« R ») mais pas le résultat final.

⁶ Deux laboratoires ont pourvu la réponse « S » d'une remarque:

- l'acide nalidixique est résistant:→ possibilité de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine: →l'éradication peut être incomplète

- le résultat de la ciprofloxacine est sous réserve étant donné qu'il n'y a pas de résultat pour l'acide nalidixique (envoyé en routine) et qu'il s'agit d'un isolat extra-intestinal

⁷ Deux laboratoires ont mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'ils ne testent pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.

⁸ Un laboratoire a mentionné que l'acide nalidixique est résistant:→ sensibilité diminuée aux fluoroquinolones in vivo (détermination de la CMI nécessaire).

Tableau 4.2.3.b. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Acide nalidixique	3 (3)	30	9	9 – 10	-	-	3	-
Ampicilline	4 (4)	10	9	9 – 10	-	-	4	-
Céphalosporines de 3e génération								
Ceftazidime	1 (1)	30	20	20 – 20	-	-	1	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	21	21 – 21	-	-	1	-
Fluoroquinolones								
Ciprofloxacine	2 (2)	5	23	21 – 25	1	-	-	1 ¹
Moxifloxacine	1 (1)	5	14	14 – 14	-	-	-	1 ¹
Ofloxacine	1 (1)	5	19	19 – 19	-	1	-	-

¹ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.

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/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur CMI (mg/L)
Acide nalidixique	1	1 x R	> 256 mg/L
Ampicilline	2	2 x R	2 x ≥ 256 mg/L
Céphalosporines de 3e génération			
Céfotaxime	1	1 x R	4 mg/L
Ceftriaxone	1	1 x R	4 mg/L
Céphalosporine de 3e génération	1	1 x R	> 32 mg/L
Fluoroquinolones			
Ciprofloxacine	5	4 x R 1 x S	3 x 0.25 mg/L; 1 x 0.38 mg/L 0.38 mg/L

Un laboratoire a utilisé le test MICE pour la ciprofloxacine (CMI 0.5 mg/L; interprétation R, après modification du résultat brut).

Un laboratoire a utilisé le MIC Test Strip pour les céphalosporines de 3^e génération (CMI 12 mg/L; interprétation R).

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

Tableau 4.2.5. obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*)

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Acide nalidixique	-	-	46	≥32	46 (46)	-	-	25	≥32	24 (25)
Ampicilline	-	-	62	≥32	60 (62)	-	-	35	≥32	33 (35)
Céphalosporines de 3 ^e génération										
Céfotaxime	1	1	41	4	42 (43)	1	-	14	4	15 (15)
Ceftazidime	-	2	20	4	20 (22)	1	-	16	4	14 (17)
Ceftriaxone	-	-	2	4	1 (2)	-	-	-	-	-
Céfépime	-	-	-	-	-	-	-	1	≤1	1 (1)
Céphalosporine 3 ^e génération	1	-	2	4	2 (3)	-	-	-	-	-
Fluoroquinolones										
Ciprofloxacine	6 ¹	4	37	0.5	30 (47)	2	-	25	0.5	16 (27)
Lévofloxacine	2	-	8	1	9 (10)	1	-	3	1	4 (4)
Norfloxacine	1	-	5	2	6 (6)	-	-	2	2	2 (2)

¹ Un laboratoire a pourvu la réponse « S » d'une remarque: « l'acide nalidixique est résistant:→ contact téléphonique avec le clinicien pour discussion du traitement »

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 ceftazidime, un laboratoire a mentionné une CMI de 8 mg/L pour le Vitek 2 et un laboratoire la même valeur pour le Vitek 2 compact; un laboratoire a mentionné une CMI de 16 mg/L pour le Vitek 2
- pour les céphalosporines de 3^e génération, un laboratoire a mentionné une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2
- pour la ciprofloxacine, 8 laboratoires ont mentionné une CMI ≤0.25 mg/L pour le Vitek 2 et 4 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact ; 8 laboratoires ont mentionné une CMI 1 mg/L pour Vitek 2 et 6 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact.

Les résultats obtenus avec la méthode ATB sont repris dans le tableau 4.2.6

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Résultat		
	S	I	R
Acide nalidixique	-	-	3
Ampicilline	-	-	2
Céphalosporines de 3e génération			
Céfotaxime	2	-	1
Ceftazidime	1	-	-
Fluoroquinolones			
Ciprofloxacine	1	-	2
Lévofloxacine	1	-	-

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

Tableau 4.2.7 Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	11	>16	7 (11)
Céphalosporines de 3e génération					
Ceftazidime	-	1	1	2 et 4	1 et 1 (2)
Ceftriaxone	-	1	7	≥4	4 (8)
Fluoroquinolones					
Ciprofloxacine	3 ¹	2	3	≤0,5	6 (8)
Lévofloxacine	1	-	1	≤1	2 (2)

¹ Un laboratoire a pourvu la réponse « S » d'une remarque:« risque d'échec thérapeutique en cas de traitement avec fluoroquinolones »

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 de CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'ampicilline, 4 laboratoires ont mentionné une CMI > 8 mg/L
- pour la ceftriaxone, trois laboratoires ont retrouvé une CMI ≥32 mg/L et un laboratoire une CMI de 16 mg/L
- pour la ciprofloxacine, 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 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 la plupart des 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/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline	4 (4)	10	6	6 – 6	-	-	4	-
Céphalosporines de 3e génération								
Céfotaxime	1 (1)	30	20	20 – 20	-	1	-	-
Ceftazidime	1 (2)	30	23	23 – 23	-	1	1	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	16	16 – 16	-	1	-	-
Fluoroquinolones								
Ciprofloxacine	4 (4)	5	25	24 – 26	3	-	-	1 ¹

¹ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.

Tableau 4.2.9.a. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges classiques Neosensitabs) pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Acide nalidixique	2 (2)	130	9	9 – 9	-	-	2
Ampicilline	2 (2)	33	10.5	9 – 12	-	-	2
Céphalosporines de 3 ^e génération							
Céfotaxime	1 (1)	30	32	32 – 32	-	1	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	20	20 – 20	-	1	-
Fluoroquinolones							
Ciprofloxacine	2 (2)	10	29	29 – 29	1	1	-

Tableau 4.2.9.b. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charges nouvelles) pour l'échantillon M/10452 (*Salmonella species*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Acide nalidixique	3 (3)	30	9	9 – 9	-	-	3	-
Ampicilline	5 (5)	10	9	6 – 9	-	-	5	-
Céphalosporines de 3 ^e génération								
Céfotaxime	- (1)	-	-	-	-	1	-	-
Ceftazidime	1 (2)	30	22	22 – 22	1	-	1	-
Ceftriaxone	1 (1)	30	15	15 – 15	-	1	-	-
Céphalosporine 3 ^e gén	1 (1)	30	13	13 – 13	-	-	1	-
Fluoroquinolones								
Ciprofloxacine	3 (4)	5	24	23 – 24	2	-	2	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	27	27 – 27	1	-	-	-
Ofloxacine	1 (1)	5	18	18 – 18	-	-	-	1 ¹

¹ Un laboratoire a mentionné que le résultat de l'acide nalidixique (qu'il ne teste pas) est nécessaire afin de pouvoir évaluer la résistance/sensibilité aux fluoroquinolones.

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire a utilisé le Microscan pour la détermination de la sensibilité à l'ampicilline (« R »), à la ceftriaxone (« R ») et à la lévofloxacine (« S »)
- un laboratoire a considéré que la souche est résistante à la ciprofloxacine sur base de la résistance à l'acide nalidixique

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Souvent cette modification était en relation avec la remarque qu'ils ont fournie (cfr. le début de ce chapitre); certains laboratoires ont effectué ces modifications en se basant sur l'utilisation de différentes méthodes:

- La céfotaxime:
 - o S→I
 - Sirscan classique: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - o S→R
 - Disques papier: 1 labo
 - Rosco classique: 4 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 33 labos (3 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 11 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - o I→R
 - Disques papier: 3 labos
 - Rosco classique: 5 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Osiris: 1 labo
 - ATB: 1 labo
- La ceftazidime:
 - o S→I
 - Rosco classique: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - o S→R
 - Disques papier: 2 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Rosco classique: 4 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Osiris: 1 labo
 - Sirscan nouveau: 1 labo
 - Vitek 2: 16 labos (3 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 9 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - o I→R
 - Disques papier: 1 labo
 - Rosco nouveau: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 1 labo
- La ceftriaxone
 - o S→I
 - Rosco classique: 1 labo
 - Sirscan classique: 1 labo

- S→R
 - Disques papier: 1 labo
 - Rosco classique: 3 labos
 - Rosco nouveau: 1 labo
 - Phoenix: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
- S→R
 - Disques papier: 3 labos
 - Rosco classique: 5 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - E-test: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 1 labo
- La ciprofloxacine
 - S→I
 - Rosco classique: 2 labos (également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Sirscan classique: 1 labo
 - Phoenix: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labos
 - S→R
 - Disques papier: 4 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Rosco classique: 3 labos
 - Sirscan nouveau: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - ATB: 2 labos
 - E-test: 2 labos (également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 2 labos
 - Vitek 2: 33 labos (3 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 18 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - MICE: 1 labo
 - I→R
 - Phoenix: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 2 labos
- La lévofloxacine
 - S→R
 - Disques papier: 2 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Rosco classique: 4 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 1 labo
 - Vitek 2: 3 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 2 labos (1 laboratoire également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - I→R
 - Rosco classique: 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)

- La norfloxacin
 ○ S→R
 - Vitek 2 compact: 3 labos
- L'ofloxacin
 ○ S→I
 - Rosco nouveau: 1 labo

V. Parasitologie

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles formolées ont été envoyés.

163 laboratoires ont participé à l'enquête.

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

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 49.7%. 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/10417

Le patient est un jeune homme originaire du Bénin qui vit depuis 7 mois dans notre pays et qui consulte un médecin pour des plaintes anales. Il s'avère qu'il souffre d'une fistule anale avec des abcédations récidivantes.

P/10603

Un supporter de football a assisté au championnat du monde en Afrique du Sud. Après son retour il se présente chez son généraliste avec une diarrhée et des spasmes abdominaux.

L'échantillon P/10417 contenait des œufs de *Schistosoma mansoni*.

L'échantillon P/10603 ne contenait pas de parasites.

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.

5.2. Les résultats pour l'échantillon P/9274

Les 163 laboratoires ont fourni 176 réponses. Dix-huit laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 133 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, onze laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites et un laboratoire 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/10417

Résultat	Nombre de laboratoires
<i>Schistosoma mansoni</i>	139
<i>Schistosoma haematobium</i>	2
<i>Acanthamoeba</i> species	1
<i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	5
<i>Entamoeba coli</i>	4
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1
<i>Retortamonas intestinalis</i>	1
Absence de parasites	18
Total	176

Deux des laboratoires ayant répondu « Absence », ont probablement interverti les 2 échantillons : en effet, ils ont répondu « *S. mansoni* » pour l'échantillon P/10603; il est possible qu'un des laboratoires ayant répondu « *C. parvum* » a également interverti les 2 échantillons étant donné que ce laboratoire a répondu pour le P/10603 « *S. mansoni* ».

Les combinaisons de 2 parasites, répondues par les laboratoires, sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.2. Stades Combinaisons de 2 parasites répondues pour l'échantillon P/10417

Combinaisons de parasites	Nombre de laboratoires
<i>Schistosoma mansoni</i> + <i>Endolimax nana</i>	5
<i>Schistosoma mansoni</i> + <i>Entamoeba coli</i>	3
<i>Schistosoma mansoni</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Schistosoma mansoni</i> + <i>Retortamonas intestinalis</i>	1
<i>Schistosoma mansoni</i> + <i>Schistosoma haematobium</i>	1
Total	11

Le laboratoire ayant répondu 3 parasites, a mentionné *Schistosoma mansoni* + *Entamoeba coli* + *Blastocystis hominis*.

Les stades d'évolutions répondus par les laboratoires pour *Schistosoma mansoni* sont repris dans le tableau 5.2.3.

Tableau 5.2.3. Stades d'évolution de *Schistosoma mansoni* pour l'échantillon P/10417

Stades d'évolution	Nombre de laboratoires
Œuf	136
Œuf fécondé	1
Kyste	2
Total	139

A l'occasion de cette enquête nous avons pour la première fois demandé aux laboratoires si en routine ils enverraient cet échantillon à un centre de référence. Vingt-et-un laboratoires enverraient l'échantillon ; il s'agit de 18 laboratoires ayant répondu « *Schistosoma mansoni* », un laboratoire ayant répondu « *Schistosoma mansoni* + *Schistosoma haematobium* », un « *Schistosoma mansoni* + *Retortamonas intestinalis* » et un « *Entamoeba hartmanni* ».

Commentaire concernant le *Schistosoma mansoni*

141 (87%) des 162 laboratoires ont retrouvé les œufs de *Schistosoma*. Il n'y a que 2 laboratoires de ce groupe qui ont mal identifié l'espèce. En effet, il est probablement plus difficile de retrouver les œufs les plus fréquents de *Schistosoma* que de les identifier jusqu'au niveau de l'espèce. La concentration des œufs dans l'échantillon de l'EEQ n'était pas très élevée (2-6 œufs par lame). En plus des œufs de *Schistosoma* on pouvait retrouver de temps en temps un *Blastocystis* (difficile à reconnaître) dans l'échantillon.

La schistosomiase est, avec le paludisme, une des maladies parasitaires les plus importantes qui touche chaque année 250 millions de personnes. Les 3 espèces les plus importantes pour l'homme sont *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum* et *Schistosoma haematobium*. *Schistosoma mansoni* est retrouvé en Afrique, dans la péninsule arabique, au Brésil et dans certaines îles des Caraïbes. *Schistosoma haematobium* est présent en Afrique, au Liban, en Syrie, en Iran, dans la péninsule arabique et à Madagascar. *Schistosoma japonicum* est observé en Chine, aux Philippines et autres pays du Sud-est asiatique. D'autres espèces comme *Schistosoma mekongi* (dans le delta du Mékong) et *Schistosoma intercalatum* (dans certaines parties du Cameroun et la République Démocratique du Congo) sont, en raison de leur distribution géographique très limitée, d'une importance moins grande pour l'homme. Même pour les espèces très répandues, la distribution est très focalisée.

Le genre *Schistosoma* appartient à la classe des trématodes.

L'homme s'infecte au contact de l'eau douce dans laquelle se trouve l'hôte intermédiaire (un mollusque spécifique de chaque espèce). Quand l'œuf d'un *Schistosoma* est en contact avec l'eau, la larve, le miracidium, s'échappe de l'œuf et infeste un mollusque.

Celui-ci libère des cercaires dans l'eau, lesquels pénètrent ensuite dans l'hôte à travers de la peau. Chez l'homme, les schistosomules migrent à travers les poumons jusqu'au foie où ils deviennent adultes et s'accouplent. Après copulation, les couples migrent jusqu'aux veines mésentériques ou aux veines autour de la vessie où la femelle dépose ses œufs. Ces derniers traversent la paroi intestinale ou vésicale et sont excrétés dans les selles ou l'urine. La présence des œufs dans les tissus occasionne la formation de granulomes.

Les œufs des *Schistosomes* ont une coque très mince mais ne disposent pas d'un opercule.

Les œufs de *Schistosoma mansoni* mesurent 110-175 µm sur 45-70 µm, sont asymétriques en forme de bouteille ou ovales, et possèdent un grand éperon latéral. Ils contiennent un miracidium. Étant donné que la femelle de *Schistosoma mansoni* produit au maximum 300 œufs par jour dont seule la moitié est excrétée dans les selles, il est important d'utiliser une technique de concentration lors du dépistage. La concentration en formol-éther et ses variations conviennent très bien. La sédimentation en glycérine est une technique moins utilisée (car très complexe), développée spécifiquement pour la détection des œufs des Schistosomes. Il est utile de répéter cet examen afin d'augmenter la probabilité de détecter les œufs.

Il faut faire la distinction entre les œufs d'autres espèces de Schistosomes que l'on peut retrouver dans les selles, et les œufs des Fasciolidae.

Les œufs de *Schistosoma haematobium* ont une taille comparable, 112-170 µm de long sur 40-70 µm de large, et ont souvent une forme ovale symétrique. L'éperon est plus petit que chez le *Schistosoma mansoni* et est terminal.

Les œufs de *Schistosoma japonicum* sont plus petits, 68-100 µm sur 45-80 µm, ovales à ronds, et ont un éperon petit, discret, latéral, légèrement caché dans une déformation de la coque.

Les œufs de *Schistosoma mekongi* mesurent 51 à 73 µm sur 39 à 66 µm, et ont la même morphologie que ceux de *Schistosoma japonicum* mais sont légèrement plus petits.

Les œufs de *Schistosoma intercalatum* mesurent 140-240 µm sur 50-85 µm, sont généralement symétriques, ovales à presque carrés, et possèdent un grand éperon terminal. Ils ne sont pas retrouvés fréquemment dans les selles étant donné qu'ils restent dans le rectum.

Les œufs sont acido-résistants et deviennent rouges avec la coloration de Ziehl-Neelsen, une observation qui peut être utile pour les distinguer des œufs de *Schistosoma haematobium*.

Il est possible que des œufs de différentes espèces de *Schistosoma* soient retrouvés dans un même échantillon de selles.

Les œufs de *Schistosoma mansoni* doivent également être distingués des œufs des Fasciolidae. Ces derniers possèdent un opercule, n'ont pas d'éperon et ne sont pas embryonnés lors de l'excrétion.

Surtout chez *S. haematobium* mais également chez *S. mansoni*, on peut retrouver, longtemps après un traitement efficace, un nombre limité d'œufs dans l'urine ou les selles. Pour cette raison, il peut être important de mentionner la présence d'œufs, vivants ou non, au clinicien. Les miracidiums vivants sont reconnus grâce au mouvement des cellules-flamme ou de l'épithélium cilié. Il est possible d'y apercevoir des détails de la structure des cellules-flamme ou, parfois, des bulles contenant des produits de sécrétion entre le miracidium et la coque. Chez les œufs morts, ces structures deviennent méconnaissables en raison de la calcification. La distinction entre les œufs vivants et morts peut être effectuée lors d'un examen direct ou après sédimentation en glycérine. La concentration en formol-éther tue les miracidiums.

Il faut remarquer que pour l'échantillon P/10603, qui ne contenait pas de parasites, huit laboratoires ont répondu la présence de *Cryptosporidium parvum*. Quatre laboratoires ont retrouvé le *Cryptosporidium* par examen microscopique, dont trois après une coloration acido-résistante et un après une coloration avec le safranine. Trois laboratoires ont détecté le *Cryptosporidium* avec un test immunochromatographique. Il est important de lire la notice et de vérifier si le test peut être utilisé pour des échantillons formolés. Un seul laboratoire a mentionné cette limitation et n'a pas pu confirmer le résultat positif du test immunochromatographique par une coloration acido-résistante. Un laboratoire a obtenu le résultat positif avec un test d'immunofluorescence.

Nous remercions Marc Lontie pour les photos.

Marjan Van Esbroeck, IMT

Figure 1: *S. mansoni* (échantillon P/10417)



Figure 2: *S. mansoni* (échantillon P/10417)

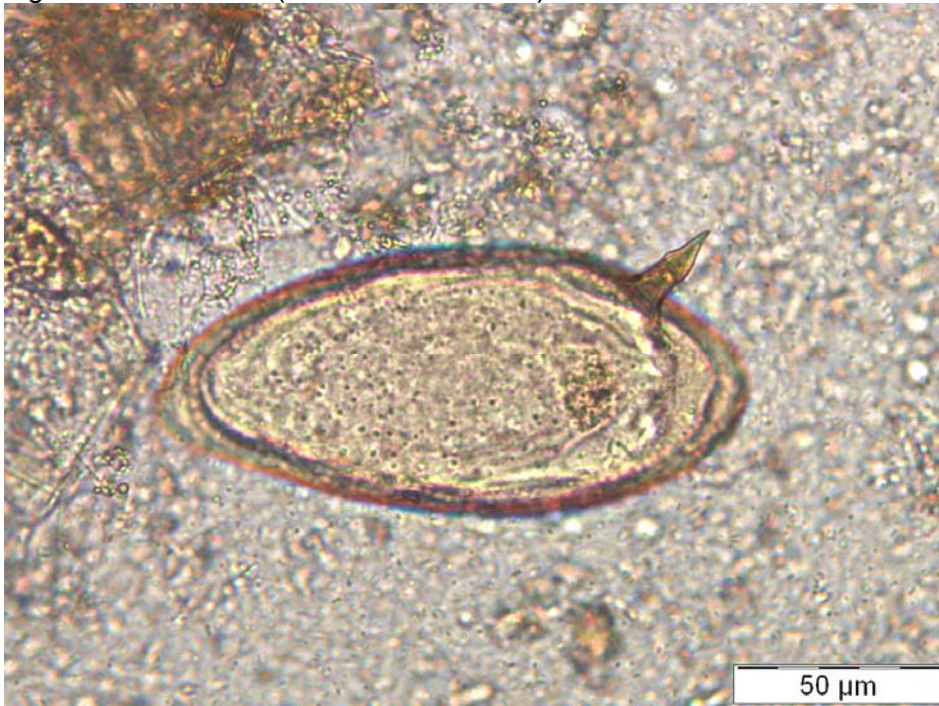


Figure 3: *S. mansoni* (échantillon P/10417)



Figure 4: *S. mansoni* (échantillon P/10417)



Figure 5: *Biomphalaria camerunensis*, originaire de Mayombe, République Démocratique du Congo

Les *Biomphalaria* spp. sont les hôtes intermédiaires de *S. mansoni* (Réf : Ripert C., 1998, Epidémiologie des maladies parasitaires, 2. Helminthoses, p.233, Editions Médicales Internationales, F-94234, Cachan cedex)



5.3 Les résultats pour l'échantillon P/10603

Les 163 laboratoires ont fourni 164 réponses. 145 laboratoires ont répondu "Absence de parasites", 17 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et un laboratoire a répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/10603

Résultat	Nombre
Absence de parasites	145
<i>Cryptosporidium parvum</i>	8
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3
<i>Schistosoma mansoni</i>	3
<i>Blastocystis hominis</i>	1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1
<i>Fasciola gigantica</i>	1
microsporidies	1
<i>Necator americanus</i>	1
Total	164

Les 3 laboratoires ayant répondu « *S. mansoni* » ont probablement interverti les 2 échantillons (cfr. chapitre 5.2).

Cet échantillon a déjà été envoyé lors des enquêtes 2006/1 (P/6695) et 2007/1 (P/7255). Le tableau 5.3.2. montre la comparaison des résultats corrects pour ces 3 enquêtes.

Tableau 5.3.2. Comparaison des résultats corrects des enquêtes 2006/1, 2007/1 et 2010/3. N labos: 189 (P/6695), 178 (P/7255), 162 (P/10603)

	P/6695 (2006/1)	P/7255 (2007/1)	P/10603 (2010/3)
Absence de parasites	86.8%	92.1%	89.0%

Quatre laboratoires enverraient en routine cet échantillon a un laboratoire de référence: 2 laboratoires ayant répondu « Absence », un ayant répondu « *C. parvum* » et un ayant répondu « *C. parvum* + *C. cayetanensis* ».

VI. Sérologie

6.1. VIH

6.1.1 Informations concernant les échantillons

Deux échantillons « prêt-à-l'emploi » (S/5626 et S/8693) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Nous avons également demandé quelle serait l'attitude des laboratoires si les échantillons avaient été prélevés chez un enfant de moins de 6 mois.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon S/5626 était négatif pour les anticorps anti-VIH.

L'échantillon S/8693 était positif pour les anticorps anti-VIH.

6.1.2. Les participants

172 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse : 170 laboratoires belges ou luxembourgeois et 2 autres laboratoires étrangers (France). Ces derniers ne sont pas repris dans le traitement de l'enquête.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests de dépistage effectués par laboratoire. Trois laboratoires ont utilisé 2 fois le même test de dépistage : ces résultats ont été considérés comme 1 résultat.

Plusieurs laboratoires ont effectué 2 tests de dépistage différents par échantillon.

Tableau 6.1.1. Tests de dépistage effectués pour la détermination du VIH

Echantillon	1 test	2 tests	Total
S/5626 (N labos)	157	13	170
S/8693 (N labos)	147	23	170

Au total les laboratoires ont donc effectué 183 tests de dépistage sur l'échantillon S/5626 et 193 sur l'échantillon S/8693.

En outre, 10 participants ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) pour l'échantillon S/5626. Pour l'échantillon S/8693, 9 laboratoires ont rapporté le résultat de l'antigène p24 pour la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA.

Deux laboratoires ont déterminé l'Ag p24 avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux) pour l'échantillon S/5626.

Deux laboratoires ont déterminé l'Ag p24 avec la trousse VIDAS HIV p24 II (bioMérieux) pour l'échantillon S/8693; un laboratoire a utilisé la trousse Innotest HIV Antigen mAb (Innogenetics) dans ce but; 3 laboratoires ont effectué un test de confirmation : ils ont utilisé les trousse suivantes: GENELABS HIV 2.2 BLOT (Genelabs), Inno-LIA HIV I/II score (Innogenetics) et HIV-Blot 2.2 (MP Diagnostics).

6.1.3. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.1.2. Réactifs utilisés pour les tests de dépistage du VIH.

Fabricant	Réactif	S/5626	S/8693
Abbott	Architect HIV Ag/Ab Combo	46	46
	AxSYM HIV Ag/Ab Combo	25	26
	AxSYM HIV-1/2gO	2	2
	PRISM HIV 0 Plus	1	1
Alere Health bioMérieux	Determine HIV-1/2	1	2
	VIDAS HIV DUO ULTRA	20	25
	VIDAS HIV DUO QUICK	10	13
BioRad	Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	3	3
	Access HIV 1/2 New op Unicel DxI 800 ¹	12	12
	Access HIV 1/2 New op Access ¹	5	5
Biotest	Anti-HIV Tetra Elisa	1	1
DiaSorin	Murex HIV Ag/Ab	2	2
Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products anti HIV 1+2	9	9
Roche	Cobas HIV Combi 2 nd Generation	23	23
	Cobas HIV Combi	3	3
	Modular HIV Combi	1	1
Siemens	ADVIA Centaur EHIV	12	12
	ADVIA Centaur HIV Combo	4	4
	Enzygnost HIV Integral II	2	2
	Enzygnost anti-HIV 1/2 PLUS	1	1
Total		183	193

¹ La trousse Access HIV 1/2 New est produite par BioRad ; ces trousse sont néanmoins utilisées sur les appareils distribués par Analis.

6.1.4. Les résultats

6.1.4.1. Echantillon S/5626

169 laboratoires ont obtenu un résultat négatif (les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats négatifs avec ces techniques). Un laboratoire a obtenu un résultat positif (résultat quantitatif juste au-dessus du cut-off).

L'évaluation quantitative de ces résultats n'a pas été effectuée étant donné l'importance limitée sur un résultat négatif.

Tous les résultats des tests Ag p24 étaient négatifs.

6.1.4.2. Echantillon S/8693

169 laboratoires ont obtenu un résultat positif avec les tests de dépistage (les laboratoires ayant utilisé 2 techniques ont obtenu des résultats positifs avec ces techniques). Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et utilisé la même unité). Ils sont présentés dans le tableau 6.1.3.

Tableau 6.1.3. La médiane, le minimum et le maximum obtenu pour les anticorps anti-VIH pour l'échantillon S/8693 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	44	17.21	11.37	25.18	≥ 1.0
AxSYM HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	26	15.18	11.82	22.45	≥ 1.0
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	13	3.53	3.21	4.83	≥ 0.25
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	22	4.15	3.42	6.43	≥ 0.25
Access HIV 1/2 new op Unicef Dxl 800 (index S/CO)	12	53.47	43.60	80.06	≥ 1.0
VITROS ECi anti HIV 1+2 (index)	8	29.80	18.16	32.40	≥ 1.0
Cobas Combi 2 nd generation (index)	23	258.8	231.0	290.7	≥ 1.0
ADVIA Centaur EHIV (index) ¹	11	26.55	16.72	30.45	≥ 1.0

¹ En plus 1 laboratoire a mentionné le résultat >50.

Les 9 laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA, ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé ».

Les résultats de la trousse VIDAS HIV p24 II étaient tous négatifs avec une valeur <3 pg/ml. Le résultat de la trousse Innotest HIV Antigen mAb était également négatif. Les résultats des trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT, Inno-LIA HIV I/II score et HIV-Blot 2.2 étaient tous positifs.

6.1.4.3. Interprétations

Nous avons demandé quelle serait l'attitude des laboratoires si les échantillons étaient prélevés chez un enfant de moins de 6 mois.

Nous avons repris ces dernières données comme informations cliniques; les 2 échantillons étaient prélevés chez des enfants différents (les informations cliniques servaient donc plutôt comme "background" et pas tellement comme base d'interprétation). Cependant, étant donné que nous avons mentionné: "Ces échantillons ont été prélevés chez un enfant de moins de 6 mois", ceci a donné lieu à une certaine confusion: un certain nombre de laboratoires ont supposé que les 2 échantillons ont été prélevés chez le même enfant et ont donc déclaré qu'ils ne disposaient pas de toutes les données pour comparer les 2 échantillons (date de naissance, date de prélèvement des 2 échantillons, données de la mère,...).

Si nous répétions cet exercice dans le futur, nous veillerions à éviter cette confusion.

Néanmoins la majorité des laboratoires ont mentionné quelle est leur attitude concernant des échantillons positifs prélevés chez des enfants en dessous de l'âge de 6 mois. Vous trouverez ci-dessous un aperçu des réponses aux 3 questions posées (pour simplification nous avons essayé de grouper les réponses similaires).

1. Est-ce que l'enfant a été contaminé en cas de test positif?

89 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de l'affirmer ou infirmer avec certitude étant donné que la possibilité existe qu'il s'agit d'anticorps maternels.

11 laboratoires ont répondu "non" étant donné que la possibilité existe qu'il s'agit d'anticorps maternels.

6 laboratoires ont répondu "possible".

2 laboratoires ont répondu "possible, mais des tests de confirmation sont nécessaires pour le confirmer".

14 laboratoires ont répondu "pas nécessairement".

13 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de se prononcer.

4 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de se prononcer mais que des tests de confirmation sont nécessaires.

10 laboratoires ont répondu "non".

3 laboratoires ont répondu "oui".

1 laboratoire a répondu "oui, s'il y a une confirmation du centre de référence".

1 laboratoire a répondu "oui, parce que l'Ag est positif".

8 laboratoires ont répondu qu'il est impossible de répondre à la question étant donné qu'il n'y a pas assez de données pour comparer les 2 échantillons.

6 laboratoires n'ont pas répondu à la question.

2 banques de transfusion ont répondu que la question n'est pas d'application pour eux.

2. Est-ce que ces échantillons (sérum) sont pertinents pour effectuer le diagnostic?

Tableau 6.1.4. Réponses à la question 2 de l'interprétation

Réponse	Nombre de laboratoires
Non	143 ¹
Oui	18 ²
Si séronégatif oui, si séropositif non	1
Impossible d'interpréter. Nécessaire à l'interprétation: date de naissance, dates de prélèvement des 2 échantillons	1
Pas de réponse	5
Pas d'application	2
Total	170

¹ Un laboratoire a clarifié sa réponse par la remarque: "cependant comme 1e étape si le statut VIH de la mère n'est pas connu: prélever chez la mère et l'enfant"

² Quatre laboratoires ont clarifié leur réponse:

- dépendant des tests de confirmation
- les échantillons sont pertinents mais pas la méthode (sérologie)
- par PCR ou détection de l'Ag p24
- Mais afin d'effectuer le diagnostic de VIH chez les enfants il faut démontrer le virus du VIH; avec les anticorps on ne sait rien étant donné qu'ils peuvent être détectés jusque 2 ans après la naissance chez des bébés non-infectés par le VIH

3. Quel type d'échantillon enverriez-vous à un laboratoire de référence?

Tableau 6.1.5. Réponses à la question 3 de l'interprétation

Type de prélèvement	Tests à effectuer	Nombre de laboratoires
Sang (total) EDTA	PCR HIV ADN	11
	PCR HIV ADN et/ou RT-PCR	2
	PCR HIV ADN et/ou PCR HIV ARN/charge virale	1
	PCR HIV ARN/charge virale	7
	PCR HIV	14
	PCR HIV après 1 et 3 mois	1
	Recherche du provirus/progénomme	2
	PCR HIV ou culture de virus sur culture de lymphocytes	1
	Non spécifié	8
Sang (total) EDTA + sérum	PCR HIV ADN et PCR HIV ARN + sérologie après 15 mois ¹	1
	PCR HIV + sérologie après 15 mois	1
	PCR HIV + HIV IgA	1
	Non spécifié	1
Sang (total) EDTA + plasma EDTA congelé	PCR HIV + charge virale	1
	PCR HIV	1
Plasma EDTA	PCR HIV ARN/charge virale	4
	PCR HIV	3
	PCR HIV + dosage HIV Ag	1
Plasma EDTA congelé	PCR HIV	1
	Non spécifié	2
Plasma EDTA frais	Non spécifié	1

Prélèvement sur EDTA	PCR HIV ADN	2	
	PCR HIV ARN	1	
	PCR HIV ADN + PCR HIV ARN + information concernant la mère	1	
	PCR HIV	7	
	PCR HIV ARN + charge virale	1	
	Charge virale	5	
	Diagnostic HIV	1	
	Non spécifié	6	
Prélèvement sur EDTA + sérum	PCR HIV ADN + contrôle sérologie	1	
	PCR HIV + contrôle sérologie	1	
	PCR HIV ADN + charge virale + contrôle sérologie	1	
	PCR HIV + contrôle sérologie (et Western Blot) après 18 mois	1	
	PCR HIV + détermination de l'Ag p24	1	
Sang (total)	PCR HIV ADN	2	
	PCR HIV ADN ou culture du VIH sur lymphocytes	1	
	PCR HIV ADN ou culture du VIH sur lymphocytes ou comptage des lymphocytes CD4	1	
	PCR HIV	5	
	PCR HIV et/ou charge virale	1	
	charge virale	1	
Plasma	PCR HIV ARN	1	
	PCR HIV ADN et/ou PCR HIV ARN et/ou culture	1	
Sérum	Ag p24	1	
	Non spécifié	2	
	Non spécifié, prélèvement chez l'enfant > 6 mois	1	
Sérum ou plasma	Non spécifié	1	
Type de prélèvement non spécifié	PCR HIV ADN	6	
	PCR HIV ADN et/ou PCR HIV ARN/charge virale	2	
	PCR HIV	11	
	PCR HIV sur nouveau prélèvement	2	
	PCR HIV, 2 échantillons positifs après 18 mois	1	
	PCR HIV à 1 et 3 mois, Ac. après 18 mois.	1	
	PCR HIV et/ou culture du virus	1	
	PCR HIV ou détermination de l'Ag p24	1	
	Charge virale	1	
	Western blot + confirmation de la sérologie	1	
	Détermination de l'Ag p24+ contrôle sérologie + immunoblot	1	
	Prélèvement chez la mère et l'enfant	Diagnostic moléculaire	2
		Charge virale	1
PCR HIV + sérologie		1	
Charge virale + sérologie		1	
Prélèvement chez la mère et PCR + dosage du CD4 chez l'enfant		1	
Non spécifié		3	

Schémas Diagnostiques ²		
Diagnostic direct: prélèvement sanguin pour PCR-ARN et ADN pro-viral à 3 jours/1, 3 et 6 mois 1) si +:→confirmation dans 8 jrs: si +: →enfant infecté; 2) si -: →enfant non-infecté		1
Chez l'enfant < 6 mois, si positif:		1
- diagnostic direct: voir les résultats de la charge virale (PCR ARN) sur un plasma dans les jours qui suivent la naissance (jusqu'à 6 mois) et de la PCR quantitative d'ADN proviral		
- diagnostic indirect: toujours 2 techniques comme chez l'adulte (et 2 sérums). A confirmer par Western Blot. Suivre sur 24 mois. Disparition des bandes WB et négatation des tests sérologiques par disparition des Ac maternels si l'enfant n'a pas été contaminé		
Réponses des laboratoires qui ont supposé que les 2 échantillons étaient prélevés chez un enfant (cfr. supra)		
S/8693		6
Les deux		1
Aucun des deux		1
Résultats positifs		1
Impossible : pas de données pour comparer les 2 échantillons		1
Pas de réponse		7
Pas d'application		2
Total		170

¹ Ce laboratoire réfère à la stratégie diagnostique repris dans <http://www.wiv-isp.be/epidemiology/EPIEN/AIDSEN/ARLEN/fCHILD.html>

² Deux laboratoires ont mentionné un schéma diagnostique

6.1.5. Commentaire concernant l'enquête

Les tests qui ont été effectués sur ces deux échantillons par les laboratoires participants posent peu de problèmes. Lorsqu'on signale qu'il s'agit d'échantillons d'enfants de moins de 6 mois, les interprétations varient cependant énormément. Une des raisons de la confusion vient du fait qu'il n'était pas précisé si les deux échantillons venaient du même enfant et dans quel ordre. Chez les petits enfants de mère infectée par le VIH la présence d'anticorps maternels est systématique et peut persister jusqu'au delà de 15 mois. Le diagnostic devra donc faire appel à d'autres méthodes que sérologiques (voir le site des laboratoires de référence SIDA :

<http://www.wiv-isp.be/epidemiology/EPIEN/AIDS/ARLEN/findex.html>) et il est indiqué d'envoyer pour ce faire des échantillons à un laboratoire de référence SIDA, selon le schéma indiqué sur le site. Le test le plus important est la recherche de provirus dans les globules blancs. Ceci nécessite l'envoi de sang complet prélevé sur un anticoagulant compatible. L'EDTA est préféré (le citrate est possible, mais entraîne une certaine dilution, l'héparine n'est pas indiquée car des traces d'héparine inhibent la polymérase dans la réaction de polymérase en chaîne ou PCR). Un échantillon pris rapidement à la naissance permet souvent déjà le diagnostic, mais ne peut être prélevé à partir du cordon, car ceci peut entraîner une contamination avec le sang maternel. Ensuite on prélèvera à 1 mois et 3 mois, éventuellement également à 2 et 6 mois. Il est important d'avoir des résultats positifs sur deux échantillons indépendants avant de conclure à l'infection. Le suivi d'un enfant qui est devenu séronégatif, se fait en sérologie classique.

Réponse aux questions posées :

- 1) Est-ce que l'enfant a été contaminé en cas de test positif? La réponse est « non » ou « il n'est pas possible de le savoir », car le test sérologique utilisé n'est pas adéquat et inutile. Le test positif peut aussi bien être dû à la présence d'anticorps maternels.
- 2) Est-ce que ces échantillons (sérums) sont pertinents pour effectuer le diagnostic? Ces échantillons ne sont pas adéquats. Il faudra du sang prélevé sur EDTA afin de permettre d'effectuer la recherche d'ADN proviral.
- 3) Quel type d'échantillon enverriez-vous à un laboratoire de référence? On enverra un échantillon prélevé sur EDTA, tel que spécifié ci-dessus. Le laboratoire de référence effectuera la recherche du génome proviral éventuellement associé à la recherche d'ARN viral.

Finalement, précisons que dans notre pays, où le traitement des femmes enceintes permet généralement de diminuer leur charge virale sous le seuil de détection, la transmission du VIH de la mère à l'enfant est devenue extrêmement rare.

P. Goubau, Clin. Univ. St-Luc, Bruxelles, pour les LRS

6.2. HBV

6.2.1. Les échantillons

Deux échantillons ont été envoyés: l'échantillon S/6624 était lyophilisé et l'échantillon S/5631 était " prêt-à-l'emploi ".

Les 2 échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :
« Dépistage lors de la grossesse»

Les sérologies d'hépatite B et d'hépatite C devaient être effectuées sur les 2 échantillons. Nous demandions aux laboratoires d'interpréter ces 2 paramètres (HBV et HCV) ensemble.

Les résultats attendus pour l'hépatite B étaient:

S/5631:

HBV: Ag HBs négatif
Ac HBs négatif
Ac HBc négatif
(Ag HBe négatif)
(Ac HBe négatif)

S/6624:

HBV: Ag HBs positif
Ac HBs négatif
Ac HBc positif
Ag HBe négatif
Ac HBe positif

6.2.2. Les participants

171 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont réalisé la sérologie de l'hépatite B.

De plus, 2 laboratoires français (utilisant les trousse Monolisa de Biorad (HBsAg et Ac anti-HBc) et les trousse Axsym d'Abbott (Ac anti-HBs et Ac anti-HBe)) ont aussi réalisé la sérologie d'hépatite B et ont obtenu des résultats corrects.

Pour l'échantillon S/5631, les 171 laboratoires ont effectué 672 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs:	172 tests
- Ag HBs confirmation:	1 test
- Ac anti-HBs:	169 tests
- Ac anti-HBc totaux:	164 tests
- IgM anti-HBc:	3 tests
- Ag HBe:	83 tests
- Ac anti-HBe:	80 tests

Un laboratoire a effectué 1 test, 5 laboratoires 2 tests, 81 laboratoires 3 tests, 5 laboratoires 4 tests, 78 laboratoires 5 tests et un laboratoire 8 tests.

Pour l'échantillon S/6624, les 171 laboratoires ont effectué 738 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs	172 tests
- Ag HBs confirmation:	7 tests
- Ac anti-HBs:	170 tests
- Ac anti-HBc totaux:	164 tests
- IgM anti-HBc:	6 tests
- Ag HBe:	112 tests
- Ac anti-HBe:	107 tests

Un laboratoire a effectué 1 test, 4 laboratoires 2 tests, 52 laboratoires 3 tests, 7 laboratoires 4 tests, 100 laboratoires 5 tests, 5 laboratoires 6 tests, 1 laboratoire 7 tests et un laboratoire 8 tests.

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

Tableau 6.2.1. Combinaison de tests pour la sérologie HBV re

Nombre de tests	Types de tests	S/5631	S/6624
1 test	Ag HBs	1	1
2 tests	Ag HBs + Ac HBs	3	3
	Ag HBs + Ac HBc	2	1
3 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc	78	49
	Ag HBs + Ac HBs + IgM HBc	2	2
	Ag HBs + Ac HBs + Ag HBe	1	1
4 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe	3	4
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBs conf.	1	3
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ac HBe	1	-
5 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	77	99
	Ag HBs + Ac HBs + IgM HBc + Ag HBe + Ac HBe	1	1
6 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + IgM HBc	-	2
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + Ag HBs conf.	-	3
7 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + IgM HBc + Ag HBs conf.	-	1
8 tests	2 Ag HBs + 2 Ac HBs + 2 Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	1	1
Total		171	171

6.2.3. Réactifs utilisés

Les tableaux 6.2.2. à 6.2.8. illustrent le nombre d'utilisateurs des différentes trouses pour les différents paramètres. Tous les laboratoires n'ont pas analysé tous les paramètres.

Tableau 6.2.2.: Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBs

Fabricant	Trousse	S/5631	S/6624
Abbott	Architect HBsAg	49	49
	AxSYM HBsAg	23	23
	Prism HBsAg	1	1
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl HBsAg V3	12	12
	Access HBsAg	8	8
bioMérieux	VIDAS HBs Ag Ultra	12	13
DiaSorin	LIAISON HBsAg	6	6
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg	9	9
Roche	Modular HBsAg II	14	14
	Cobas HBsAg II	7	7
	Elecsys HBsAg	6	5
	Cobas HBsAg	2	2
Siemens	ADVIA Centaur HBsAg	16	16
	Immulite HBs Ag	7	7
Total		172	172

Tableau 6.2.3.: Réactifs utilisés pour la confirmation de l'antigène HBs

Fabricant	Trousse	S/5631	S/6624
Abbott	Architect HBsAg Confirmatory	1	2
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl HBsAg Confirmatory	-	2
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg confirmatory	-	1
Roche	Modular HbsAg Confirmatory	-	2
Total		1	7

Tableau 6.2.4.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBs

Fabricant	Trousse	S/5631	S/6624
Abbott	Architect anti-HBs	47	47
	AxSYM AUSAB	22	22
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl HBsAb	11	11
	Access HBsAb	6	6
bioMérieux	VIDAS anti-HBST Quick	13	13
Dia.Pro Diagnostic Bioproducts	HBs Ab	1	1
DiaSorin	LIAISON anti-HBs	10	10
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBs	9	9
Roche	Modular anti-HBs	13	14
	Cobas anti-HBs	8	8
	Elecsys anti-HBs	6	6
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBs 2	13	13
	Immulite anti-HBs	7	7
	ADVIA Centaur anti-HBs	3	3
Total		169	170

Tableau 6.2.5.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps totaux anti-HBc

Fabricant	Trousse	S/5631	S/6624
Abbott	Architect anti-HBc II	46	46
	AxSYM CORE	21	21
Beckman (distributeur Analis)	Unicel DxI HBcAb	10	10
	Access HBcAb	8	8
bioMérieux	VIDAS anti-HBc Total II	16	16
DiaSorin	LIAISON anti-HBc	9	9
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc	9	9
Roche	Modular anti-HBc	13	13
	Cobas anti-HBc	8	8
	Elecsys anti-HBc	5	5
Siemens	ADVIA Centaur HBc Total	13	13
	Immulite anti-HBc	6	6
Total		164	164

Tableau 6.2.6.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-HBc

Fabricant	Trousse	S/5631	S/6624
Abbott	Architect anti-HBc IgM	-	1
bioMérieux	VIDAS HBc IgM II	1	1
DiaSorin	LIAISON HBc IgM	-	1
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc IgM	1	2
Roche	Modular anti-HBc IgM	1	1
Total		3	6

Tableau 6.2.7.: Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBe

Fabricant	Trousse	S/5631	S/6624
Abbott	Architect HBeAg	19	25
	AxSYM HBe 2.0	10	11
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	29	48
DiaSorin	LIAISON HBeAg	9	9
	ETI-EBK PLUS (HBeAg)	1	1
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBeAg	2	4
Roche	Modular HBeAg	5	5
	Cobas HBeAg	1	2
	Elecsys HBeAg	1	1
Siemens	ADVIA Centaur HBeAg	6	6
Total		83	112

Tableau 6.2.8.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBe

Fabricant	Trousse	S/5631	S/6624
Abbott	Architect anti-HBe	21	26
	AxSYM anti-HBe 2.0	9	10
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	25	43
DiaSorin	LIAISON anti-HBe	9	9
	ETI-AB-EBK PLUS (anti-HBe)	1	1
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBe	2	4
Roche	Modular anti-HBe	5	5
	Cobas anti-HBe	1	2
	Elecsys anti-HBe	1	1
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBe	6	6
Total		80	107

6.2.4. Résultats

6.2.4.1 Echantillon S/5631

Les résultats obtenus pour les différents paramètres pour l'échantillon S/5631 sont présentés dans le tableau 6.2.9.

Tableau 6.2.9.: Résultats pour l'échantillon S/5631

	Ag HBs ¹	Ag HBs conf.	Ac HBs ¹	Ac Tot Hbc ¹	IgM Hbc	Ag HBe	Ac HBe
Positif	5	-	2	-	-	-	-
Borderline	1	-	-	-	-	-	-
Négatif	165	1	166	163	3	83	80
Total	171	1	168	163	3	83	80

¹ Le laboratoire ayant déterminé les Ag HBs, Ac HBs et Ac Hbc avec 2 méthodes, a obtenu des résultats négatifs pour tous ces paramètres avec les 2 méthodes.

Les résultats positifs et borderline ont été obtenus avec les trousse suivantes:

- Ag HBs: VIDAS HBs Ag Ultra (2 labos, positif), Access HBsAg (1 labo, positif), AxSYM HBsAg (V2) (1 labo, positif), Unicel DxI HbsAg V3 (1 labo, positif), Cobas HBsAg II (1 labo, borderline)
- Ac HBs: ADVIA Centaur Anti-HBs 2 (1 labo, positif), LIAISON Anti-HBs (1 labo, positif)

6.2.4.2 Echantillon S/6624

Les résultats obtenus pour les différents paramètres pour l'échantillon S/6624 sont présentés dans le tableau 6.2.10.

Tableau 6.2.10.: Résultats pour l'échantillon S/6624

	Ag HBs ¹	Ag HBs conf.	Ac HBs ¹	Ac Tot Hbc ¹	IgM Hbc	Ag HBe	Ac HBe
Positif	171	7	-	162	-	2	105
Borderline	-	-	-	-	-	-	-
Négatif	-	-	169	1	6	110	2
Total	171	7	169	163	6	112	107

¹ Le laboratoire ayant déterminé les Ag HBs, Ac HBs et Ac Hbc avec 2 méthodes, a obtenu des résultats positifs pour tous ces paramètres avec les 2 méthodes.

Les résultats discordants ont été obtenus avec des trousse différentes:

- Ac Hbc: Access Hbc Ab (1 labo, négatif)
- Ag HBe: AxSYM HBe 2.0 (1 labo, positif), LIAISON HBeAg (1 labo, positif)
- Ac HBe: Architect anti-HBe (1 labo, négatif), LIAISON Anti-HBe (1 labo, négatif)

Les résultats discordants pour les Ag et Ac HBe obtenus avec les trousse LIAISON ont été mentionnés par le même laboratoire.

Pour les trousse les plus utilisées nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand un résultat quantitatif était mentionné) (tableaux 6.2.11. à 6.2.13). Pour les autres trousse, le nombre d'utilisateurs ou de résultats quantitatifs étaient insuffisants pour effectuer des analyses statistiques adéquates.

Tableau 6.2.11. Médiane, minimum et maximum pour l'Ag HBs (échantillon S/6624)

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect HBsAg Qualitative (index s/co) ¹	46	1923.69	1455.09	2199.25	≥ 1.0
AxSYM HBsAg (V2) (index s/co)	23	357.5	159.4	454.8	≥ 1.0
Acces HbsAg (index s/co)	8	411.53	337.00	490.37	≥ 1.0
Unicel Dxl HbsAg V3 (index s/co)	12	450.19	413.30	498.06	≥ 1.0
VIDAS HBs Ag Ultra (valeur test) ²	9	21.58	17.70	29.07	≥ 0.1
Cobas HBsAg II (index)	9	2950	2777	3019	≥ 1.0
Modular HBsAg II (index s/co)	13	2896	2557	3279	≥ 1.0

¹ En outre un laboratoire a répondu un index de 166.

² En outre un laboratoire a répondu une valeur test de 6.81, un laboratoire une valeur test de 8.13 et un laboratoire une valeur test de 9.00.

Il reste à mentionner :

- que pour l'ADVIA Centaur HBsAg, 15 laboratoires ont répondu un résultat > 1000 (index).

Tableau 6.2.12. Médiane, minimum et maximum pour les Ac totaux anti-HBc (échantillon S/6624)

Trousse (unité)	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect anti-HBc II (index s/co)	44	10.97	8.19	12.33	≥ 1.0
AxSYM CORE (index s/co) ¹	20	0.07	0.05	0.10	Les valeurs entre 0.000 et 1.000 sont considérées comme "réactives"
Acces HbcAb (index s/co)	8	129.68	122.18	163.89	≥ 1.0
Unicel Dxl HBc Ab (index s/co)	10	145.6	132.9	166.1	≥ 1.0
Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc (index)	8	0.04	0.02	0.08	Un résultat < 1.00 est indicateur d'un échantillon "réactif".
Cobas anti-HBc (index)	8	0.004	0	0.01	Les échantillons avec un index ≤ 1.0 sont considérés comme "réactifs"
Modular anti-HBc (index s/co) ²	11	0.004	0.004	0.005	Les échantillons avec un index ≤ 1.0 sont considérés comme "réactifs"

¹ En outre un laboratoire a répondu un s/co de 11.6 (interprétation: positif).

² En outre un laboratoire a répondu un index de 0.07 et un laboratoire un index <0.1.

Il reste à mentionner :

- que pour le VIDAS Anti-HBc Total II 14 laboratoires ont répondu une valeur test égale à 0 et un laboratoire a répondu 54 IU/mL
- pour le Liaison anti-HBc 7 laboratoires ont répondu un index <0.10, un laboratoire un index <0.11 et un laboratoire un index <10
- pour l'ADVIA Centaur HBc Total 12 laboratoires ont répondu un index >8.

Tableau 6.2.13. Médiane, minimum et maximum pour l'Ac Hbe (échantillon S/6624)

Trousse (unité)	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-offf
Architect anti-HBe (index s/co)	25	0.02	0.01	0.06	Les échantillons avec un index ≤ 1.0 sont considérés comme "réactifs"
AxSYM anti-HBe 2.0 (index s/co) ¹	9	0.064	0	0.188	Les échantillons avec un index ≤ 1.0 sont considérés comme "réactifs"

¹ En outre un laboratoire a répondu un index de 0.38.

Il reste à mentionner que:

- pour le LIAISON Anti-HBe 7 laboratoires ont répondu un index <0.1 et 2 laboratoires un index <0.01
- pour le VIDAS HBe/anti-HBe 36 laboratoires ont répondu une valeur test égale à "0"

6.3. HCV

6.3.1. Les échantillons

Comme déjà mentionné dans le chapitre 6.2. les sérologies des HBV et HCV devaient être effectuées sur les mêmes échantillons.

Les résultats attendus pour l'hépatite C étaient:

S/5631: HCV: anticorps positifs

S/6624: HCV: anticorps négatifs

6.3.2. Les participants

165 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont déterminé les anticorps anti-HCV. Pour l'échantillon S/5631 nous n'avons obtenu que 164 résultats évaluable étant donné qu'un laboratoire a répondu avoir une quantité d'échantillon insuffisante pour effectuer la détermination des Ac. anti-HCV. Nous voudrions répéter que, en cas de quantité insuffisante ou d'endommagement d'un échantillon, il vous est toujours possible de demander au cours de l'enquête un 2^e échantillon.

En plus 1 laboratoire d'une firme (utilisant le recomBlot HCV IgG 2.0 de Mikrogen) et 2 laboratoires étrangers (utilisant l'HCV Version 3.0 ELISA d'Ortho Diagnostics (et l'Innolia HCV Score (Innogenetics) pour l'échantillon S/5631) et la Monolisa anti-HCV Plus Version 2 de Biorad) ont déterminé les anticorps anti-HCV et ont obtenu des résultats corrects.

Deux laboratoires ont utilisé 2 fois le même test: ces résultats ont été considérés comme 1 seul résultat. Plusieurs laboratoires ont effectué 2 tests différents par échantillon. Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests effectués par laboratoire.

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

Echantillon	1 test	2 tests	Total
S/5631	154	10	164
S/6624	163	2	165

174 tests ont donc été effectués sur l'échantillon S/5631 et 167 tests sur l'échantillon S/6624. La nature de ces tests est représentée dans le tableau 6.3.2.

Tableau 6.3.2. Nature des tests HCV effectués par échantillon, présentée en fonction du nombre de laboratoires.

Echantillon	1 test		2 tests		Total
	Elisa	Elisa + Elisa	Elisa + Blot	Elisa + LIA ¹	
S/5631	154	4	4	2	164
S/6624	163	2	-	-	165

¹ LIA = Line ImmunoAssay

6.3.3. 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 anti-HCV.

Fabricant	Réactifs	S/5631	S/6624
Abbott	Architect HCV	51	51
	AxSYM HCV 3.0	23	23
	IMx HCV 3.0	1	1
	PRISM HCV	1	1
BioRad	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel Dxl 800 ¹	16	16
	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Access ¹	7	7
	Monolisa Anti-HCV Plus Version 2	2	1
	DeciScan HCV Plus	1	-
Innogenetics	Innotest HCV Ab IV	3	2
	Innolia HCV score	2	-
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomBlot HCV IgG 2.0	1	-
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV	11	12
	HCV version 3.0 Elisa	4	4
	Chiron RIBA HCV 3.0 SIA	2	-
Roche	Modular anti-HCV	12	12
	Cobas e anti-HCV	11	11
	Elecsys anti-HCV	6	6
Siemens	ADVIA Centaur HCV	20	20
Total		174	167

¹ Ces deux appareils sont produits par la firme Analis Beckman

6.3.4. Résultats

6.3.4.1. Echantillon S/5631

164 laboratoires ont obtenu un résultat positif avec toutes les méthodes utilisées. Un laboratoire a obtenu un résultat positif pour une méthode et un résultat borderline pour une autre.

Pour les troussees les plus utilisées nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand un résultat quantitatif était mentionné) (tableau 6.3.4.). 19 laboratoires ont répondu le résultat > 11.0 pour la trousse Centaur HCV (Siemens).

Tableau 6.3.4. Médiane, minimum et maximum pour les anticorps anti-HCV (échantillon S/5631) (les résultats sont exprimés en index (sample/cut-off)).

Fabricant	Réactif	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Abbott	Architect HCV ¹	48	12.91	11.06	14.42	≥ 1.0
	AxSYM HCV 3.0	23	43.93	35.39	60.49	≥ 1.0
BioRad	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel	16	9.43	8.42	12.0	≥ 1.0
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV ²	10	27.71	25.10	29.50	≥ 1.0
Roche	Cobas e anti-HCV ³	9	539.3	284.4	699.7	≥ 1.0
	Modular anti-HCV	12	505.2	322.2	696.7	≥ 1.0

¹ En plus un laboratoire a mentionné un index de 40.17

² En plus un laboratoire a mentionné un index de 47.58

³ En plus un laboratoire a mentionné une DO de 905

6.3.4.2. Echantillon S/6624

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif (les laboratoires ayant utilisé 2 méthodes différentes ont obtenu des résultats négatifs avec les 2 méthodes).

6.4. Interprétations pour les échantillons S/5631 et S/6624

A l'occasion de cette enquête nous avons demandé aux laboratoires pour chacun des échantillons d'interpréter l'HBV et l'HCV ensemble.

Des propositions d'interprétation adaptées étaient prévues pour les laboratoires qui n'effectuent qu'un des 2 paramètres.

L'analyse ci-dessous ne se rapporte qu'aux laboratoires de biologie clinique belges et luxembourgeois (cfr. chapitres précédents).

171 laboratoires ont effectué les tests de la sérologie de l'HBV et/ou de l'HCV: 164 laboratoires ont effectué les 2 sérologies sur l'échantillon S/5631 et 165 laboratoires sur l'échantillon S/6624 (un laboratoire a mentionné n'avoir pas assez d'échantillon pour effectuer la sérologie de l'hépatite C sur l'échantillon S/5631). Sept laboratoires ont uniquement effectué la sérologie de l'HBV sur l'échantillon S/5631 et six laboratoires sur l'échantillon S/6624.

169 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse des interprétations.

Les interprétations d'un laboratoire pour les 2 échantillons (détermination de la sérologie HBV et HCV) et d'un autre laboratoire pour l'échantillon S/5631 (seule détermination de la sérologie HBV) se sont avérés inutilisables dans l'analyse des interprétations (utilisation de codes non existants ou de codes qui ne correspondaient pas aux tests effectués).

De plus, un laboratoire a mentionné ne pas pouvoir donner d'interprétation étant donné qu'il n'effectue que l'Ag HBs et envoie les autres tests.

Dans l'analyse suivante nous reprenons donc les interprétations de 166 laboratoires (5 HBV et 161 HBV + HCV) pour l'échantillon S/5631 et de 167 laboratoires (5 HBV et 162 HBV + HCV) pour l'échantillon S/6624.

Les interprétations attendues étaient:

S/5631 : « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires » (code 08)

S/6624 : « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C » (code 01)

6.4.1. L'échantillon S/5631

6.4.1.1. Les laboratoires qui n'ont répondu que l'interprétation de l'HBV

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.1.:

Tableau 6.4.1. Interprétations pour l'échantillon S/5631 (HBV seul).

Interprétation	Nombre de laboratoires
Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B (code 12)	5
Total	5

Sous "remarques" 4 laboratoires ont mentionné qu'une confirmation n'est pas nécessaire et un laboratoire qu'une confirmation est souhaitée par la détermination des Ac anti-HBc (un labo qui n'effectue que l'Ag HBs et les Ac anti-HBs).

6.4.1.2. Les laboratoires qui ont répondu l'interprétation de l'HBV et de l'HCV.

6.4.1.2.1. L'interprétation proprement dite

Pour l'échantillon S/5631 la plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires » (code 08). Quelques laboratoires ont choisi une autre des interprétations proposées. D'autres laboratoires encore ont proposé leur propre interprétation.

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.2.:

Tableau 6.4.2. Interprétations pour l'échantillon S/5631 (HBV et HCV).

Interprétation	Nombre de laboratoires
Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires (code 8)	148
Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; profil sérologique correspondant à une infection par le virus de l'hépatite C. ¹	1
Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; positif pour une infection par le virus de l'hépatite C. ²	1
Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée. ³	1
Antigène HBs positif non confirmé par le test de neutralisation (quantité de l'échantillon insuffisante). Une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires (PCR), le RIBA-HCV étant positif ⁴	1
Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires (code 02). ⁵	5
Immunité vaccinale contre le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires (code 04). ⁶	2
Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; il n'existe également aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C (code 07) ⁷	2
Total	161

¹ Réponse fournie par un laboratoire qui a confirmé les Ac anti-HCV avec la trousse Inno-Lia HCV score.

² Réponse fournie par un laboratoire qui a déterminé les Ac anti-HCV avec une technique ELISA et a obtenu un rapport élevé.

³ Réponse fournie par un laboratoire qui a obtenu des résultats négatifs pour les Ag HBs et Ac HBc (et un résultat positif pour les Ac anti-HCV)

⁴ Réponse fournie par un laboratoire qui a obtenu les résultats suivants pour l'HBV: Ag HBs: +, Ac HBs: -, Ac HBc: -, Ag HBe: - ; Ac HBe : -

⁵ Quatre de ces laboratoires ont obtenu un résultat positif pour l'Ag HBs et des résultats négatifs pour les Ac HBs et Ac HBc; le cinquième laboratoire a obtenu un résultat borderline pour l'Ag HBs et des résultats négatifs pour les Ac HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe.

⁶ Ces deux laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les Ac HBs et des résultats négatifs pour les Ag HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe.

⁷ Ces deux laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les Ac anti-HCV. Etant donné que les 2 laboratoires ont proposé la HCV PCR comme test complémentaire, ils ont probablement rempli le mauvais code pour les interprétations.

6.4.1.2.2. Les remarques pour l'interprétation code 8

140 laboratoires ont formulé une remarque pour l'interprétation attendue « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires ».

Le tableau 6.4.3. reprend ces remarques.

Tableau 6.4.3. Remarques pour l'échantillon S/5631 données par les laboratoires ayant fourni l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires ».

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s)	128
Une confirmation est souhaitée par un prélèvement ultérieur	5
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s) et par un prélèvement ultérieur	4
Une confirmation n'est pas nécessaire	3
Total	140

6.4.1.2.3. Les tests complémentaires pour l'interprétation code 8

Le tableau 6.4.4. reprend les tests complémentaires proposés par les laboratoires..

Tableau 6.4.4. Tests complémentaires proposés par les laboratoires ayant fourni l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires » pour l'échantillon S/5631

Test	Nombre de laboratoires
PCR HCV	81
PCR HCV qualitative	5
PCR HCV + typage de l'HCV	4
PCR HCV + blot (immunoblot ou Western blot)	12
PCR HCV + blot + autre ELISA	2
PCR HCV + dosage des transaminases	2
PCR HCV + éventuellement d'autres tests sérologiques	1
PCR HCV + bilan clinique	1
PCR HCV ou Inno-Lia + demande d'un nouveau prélèvement pour exclure une inversion d'échantillons	1
Charge virale si traitement envisagé	1
ADN HCV	1
Anti-HCV blot	1
Western blot	1
Anti-HCV blot; dépendant du résultat de la PCR HCV	1
1) confirmation des Ac anti-HCV par une 2e technique complémentaire p.ex. ELISA Biorad ou immunoblot 2) recherche de la présence de l'ARN HCV par PCR	1
Inno-Lia HCV	1
Confirmation de l'HCV	3
Confirmation de l'HCV; si positif : ARN HCV	2
Confirmation de l'HCV avec une autre méthode	2
Confirmation de l'HCV avec une autre méthode + immunoblot	1
Confirmation de l'HCV + PCR + typage	2
Confirmation de l'HCV par test RIBA	1
Confirmation de la sérologie de l'HCV vu la grossesse (antécédents?), si sérologie +, déterminer la charge virale	1
Malgré un index de positivité s/co élevé pour la sérologie HCV (screening positif) une recherche qualitative de l'ARN viral est souhaitable. Dans le cas d'une positivité de cette dernière, on aura une confirmation de la sérologie positive ainsi qu'une confirmation du statut infectieux (infection en cours et pas seulement cicatrice sérologique). D'autres analyses biologiques peuvent être utiles pour évaluer la sévérité : AST/ALT, bilirubine, albumine, plaquettes et génotype.	1
Tests complémentaires non mentionnés	3
Total	132

6.4.2. L'échantillon S/6624

6.4.2.1. Les laboratoires qui n'ont répondu que l'interprétation de l'HBV

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.5.:

Tableau 6.4.5. Interprétations pour l'échantillon S/6624 (HBV seul).

Interprétation	Nombre de laboratoires
Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B (code 9)	5
Total	5

Sous "remarques" 3 laboratoires ont mentionné qu'une confirmation n'est pas nécessaire, un laboratoire qu'un nouveau prélèvement est souhaité (pour évaluer si l'Ag HBs se négative) et un laboratoire qu'une confirmation est souhaitée par la détermination des Ac anti-HBc IgM.

6.4.1.2. Les laboratoires qui ont répondu l'interprétation de l'HBV et de l'HCV.

6.4.1.2.1. L'interprétation proprement dite

Pour l'échantillon S/6624 une majorité des laboratoires a choisi l'interprétation « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C » (code 01). Deux laboratoires ont choisi une autre des interprétations proposées et un laboratoire a proposé sa propre interprétation.

Un aperçu des interprétations est repris dans le tableau suivant 6.4.6.:

Tableau 6.4.6. Interprétations pour l'échantillon S/6624 (HBV et HCV).

Interprétation	Nombre de laboratoires
Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C (code 01)	159
Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires (code 02) ¹	2
Soit Hépatite B en phase aiguë en fin d'évolution, soit porteur chronique (persistance de l'Ag HBs > 6 mois) ²	1
Total	162

¹ Ces deux laboratoires ont cependant obtenu un résultat négatif pour les Ac anti-HCV.

² Réponse fournie par un laboratoire qui a obtenu les résultats suivants: Ag HBs: +, Ac HBs: -, Ac HBc: +, Ag HBe: -, Ac HBe: + (Ac anti-HCV:-).

6.4.2.2.2. Les remarques pour l'interprétation code 1

141 laboratoires ont donné une remarque pour l'interprétation attendue « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C ».
Le tableau 6.4.7. reprend ces remarques.

Tableau 6.4.7. Remarques pour l'échantillon S/6624 données par les laboratoires ayant fourni l'interprétation « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C ».

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation n'est pas nécessaire	63
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s)	45
Une confirmation est souhaitée par un prélèvement ultérieur	18
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s) et par un prélèvement ultérieur	5
Suivi de la sérologie de l'HBV pour évaluer l'évolution (disparition de l'Ag HBs et apparition des Ac anti-HBs)	4
Suivi de l'Ag HBs pour exclure l'évolution d'un portage chronique (6 mois)	1
Vérifier à terme l'absence de chronicité et l'apparition des Ac anti-HBs	1
Suivi	1
Bilan clinique et éventuellement PCR HBV	1
Détection quantitative du virus de l'hépatite B (ADN viral) chez patients chroniques positifs pour l'antigène HBs	1
Dans le cadre d'une découverte accidentelle de l'infection par l'HBV: →suivi (min. 1 détermination afin de connaître l'importance de l'infection) de la charge virale afin de pouvoir conseiller la patiente chez le gastro-entérologue (éventuellement un HBV chronique actif qui doit être suivi)	1
Total	141

6.4.2.2.3. Les tests complémentaires pour l'interprétation code 1

Le tableau 6.4.8. reprend les tests complémentaires proposés par les laboratoires.

Tableau 6.4.8. Tests complémentaires proposés par les laboratoires ayant fourni l'interprétation « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C » pour l'échantillon S/6624

Test	Nombre de laboratoires
PCR HBV	12
PCR HBV + Ag HBe	1
PCR HBV + sérologie HBe	1
PCR HBV + transaminases	1
PCR HBV + éventuellement autres tests sérologiques	1
PCR HBV + test hépatiques (ALT)	1
PCR HBV pour recherche d'un mutant « precore » + transaminases	1
PCR HBV pour recherche d'un mutant « precore »	1
PCR HBV si transaminases	1
Ag HBe et Ac anti-Hbe	5
Ag HBe et Ac anti-Hbe, PCR HBV	7
Ag HBe et Ac anti-Hbe, Ac anti-HBc, PCR HBV	1
Ag HBe et Ac anti-Hbe, transaminases	1
Ag HBe; échantillon de suivi	1
Ag HBe (éventuellement rechercher les Ac HBs sur un 2e prélèvement)	1
Confirmation de l'Ag HBs	4
Confirmation de l'Ag HBs + HBc IgM	1
Confirmation de l'Ag HBs + HBc IgM + ADN du HBV pour vérifier si HB chronique répliquative	1
Confirmation de l'Ag HBs + recherche du virus HBV	1
Confirmation de l'Ag HBs, qui a été effectuée et est positive	1
Clinique + confirmation et anti-HBc, anti-Hbe	1
Contrôle du virus HBV	1
Suivi des Ac HBs après un mois	1
Profil sérologique pouvant correspondre à une hépatite chronique active avec mutant « precore » ou à une hépatite chronique chez un porteur asymptomatique. Une mesure quantitative de la charge virale HBV est utile car il existe des seuils de signification clinique. Un contrôle à 6 mois de l'Ag HBs et l'Ac HBs est utile. Une mesure des transaminases (TGO/TGP).	1
PCR HCV	1
Tests complémentaires non mentionnés	1
Total	50

Il reste à mentionner que:

- un laboratoire ayant conseillé un nouveau prélèvement, a mentionné: « si Ag HBs présent > 6 mois: porteur chronique HBV »
- un laboratoire ayant indiqué qu'une confirmation n'était pas nécessaire, a mentionné avoir effectué lui-même déjà une confirmation de l'Ag HBs

6.5. Discussion des résultats de l'enquête

Les 2 échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :
« Dépistage lors de la grossesse »

Echantillon S/5631

Ni les déterminations analytiques, ni les interprétations n'ont posé de grands problèmes pour cet échantillon qui était positif pour les anticorps anti-HCV et négatif pour l'AgHBs, les Ac. anti-HBs et les Ac. anti-HBc. Il faut mentionner qu'il n'est pas nécessaire de déterminer les Ac. anti-HBe et l'AgHBe en cas de négativité de l'AgHBs. L'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité au virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires » a été choisie par 92% (148 des 161) des laboratoires ayant renvoyé leur formulaire de réponse pour l'interprétation combinée de la sérologie HBV et HCV. Quelques laboratoires ont préféré d'autres interprétations: 5 laboratoires ont choisi le code 02 (« Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires »), 2 laboratoires ont préféré le code 04 (« Immunité vaccinale contre le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires ») et 1 laboratoire a fourni sa propre interprétation (« Antigène HBs positif non confirmé par le test de neutralisation (quantité de l'échantillon insuffisante). Une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires (PCR), le RIBA-HCV étant positif »). Même si leurs interprétations correspondent aux résultats qu'ils ont obtenus pour cet échantillon, leurs résultats analytiques pour l'AgHBs ou les Ac anti-HBs n'étaient pas corrects.

La grande majorité des laboratoires qui ont choisi l'interprétation correcte ont formulé des remarques (95%, 140 des 148 laboratoires), qui imposent une confirmation supplémentaire de la sérologie positive de l'HCV. Ces remarques doivent être interprétées dans le cadre d'un protocole validé dans un laboratoire donné: aussi bien la PCR HCV que d'autres EIA ou RIBA ou LIA ou les immunoblots ou même l'absence de confirmation peuvent être considérés comme tests complémentaires corrects. Il faut cependant mentionner que les protocoles internationaux conseillent la confirmation d'une sérologie positive de l'HCV par des techniques sérologiques ou de biologie moléculaire (NHS, CDC). La détermination quantitative de l'ARN de l'HCV et le géotypage de l'HCV ne sont pas nécessaires comme confirmation d'une sérologie positive de l'HCV; détermination de l'ADN HCV est une réponse incorrecte étant donné que l'HCV est un virus ARN.

Echantillon S/6624

En cohérence avec les résultats de l'échantillon précédent, ni les déterminations analytiques, ni les interprétations n'ont posé de grands problèmes: respectivement 100% (171 des 171) et 99% (162 des 163) des laboratoires ont considéré, comme attendu, l'AgHBs et les Ac anti-HBc comme positifs; 100 % (169 des 169) et 100% (165 des 165) des laboratoires ont obtenu des résultats négatifs attendus pour les Ac. anti-HBs et anti-HCV. Contrairement à l'échantillon précédent, il était important d'évaluer les marqueurs HBe sur cet échantillon positif pour l'AgHBs étant donné que dans la situation clinique d'un dépistage lors de la grossesse, le statut des marqueurs HBe va

déterminer si le nouveau-né a, en plus du vaccin, également besoin des immunoglobulines. La grande majorité des laboratoires (98%, 159 des 162) ont choisi l'interprétation avec le code 01 (« Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C »). Les résultats négatifs pour les anticorps anti-HCV ne doivent pas être confirmés, ce qui fait que le code 02 (« Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires ») ne peut pas être considéré comme une interprétation correcte. La majorité des laboratoires (87%, 141 des 162) ont formulé des remarques qui imposent la confirmation complémentaire de l'AgHBs positif ou le suivi clinique, sérologique et éventuellement moléculaire-diagnostique. Ces remarques doivent être interprétées dans le contexte global des tests sérologiques effectués et des algorithmes validés dans un laboratoire donné: dans ce cas aussi bien un nouveau prélèvement pour la détermination de l'AgHBs que la confirmation de l'AgHBs et même l'absence de confirmation de la positivité de l'AgHBs peuvent être considérés comme des remarques correctes. Il faut mentionner qu'au vu d'un suivi postnatal correct d'un nouveau-né, la confirmation de l'AgHBs et les marqueurs HBe sont à préférer et que la charge virale de l'HBV et la recherche des mutants précoce n'apportent pas de valeur supplémentaire dans cette situation clinique.

Elizaveta Padalko, UZ Gent

Références

1. KCE Reports 6B: Recommandation Nationale relative aux Soins Prénatals. Une base pour un itinéraire clinique de suivi de grossesses. 2^e édition (21 nov 2006; 1^e édition 24 déc 2004).
http://www.kce.fgov.be/index_en.aspx?SGREF=5222&CREF=4027
2. NHS NSM – Investigation of Hepatitis C infection by antibody testing or combined antigen/antibody assay.
<http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/vsop/pdf/vsop5.pdf>
3. CDC DVH - HCV Laboratory Testing for Health Professionals.
<http://www.cdc.gov/hepatitis/HCV/LabTesting.htm>