

**EXPERTISE, PRESTATIONS DE SERVICE ET RELATIONS CLIENTS  
QUALITE DES LABORATOIRES MEDICAUX**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE  
COMITE DES EXPERTS**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE  
DES ANALYSES EN BIOLOGIE CLINIQUE**

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF  
MICRO/SERO/PARA  
ENQUETE 2015/1**

**Microbiologie**

Shigella sonnei  
Klebsiella pneumoniae  
Enterobacter cloacae  
Enterococcus faecalis et Enterococcus faecium

**Parasitologie**

Plasmodium ovale  
Plasmodium falciparum

**Sérologie**

Hépatite B  
Hépatite C  
Ag de la legionella

**ISP-2015/01/Micro/Séro/Para/100**

Expertise, prestations de service et relations clients  
Qualité des laboratoires médicaux  
Rue J. Wytsman, 14  
1050 Bruxelles | Belgique

[www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be)

<b>COMITE DES EXPERTS</b>
---------------------------

ISP (secrétariat)	TEL: 02/642.55.22	FAX: 02/642.56.45
Coordinateur d'enquête: Dr. VERNELEN K.	TEL: 02/642.55.29 e-mail: <a href="mailto:kris.vernelen@wiv-isp.be">kris.vernelen@wiv-isp.be</a>	
Remplaçant coordinateur d'enq.: Dr. CHINA B.	TEL: 02/642.53.85 e-mail: <a href="mailto:bernard.china@wiv-isp.be">bernard.china@wiv-isp.be</a>	

Experts:

Pharm. BOEL An	TEL: 053/72.47.85	FAX: 053/72.45.88
	e-mail: <a href="mailto:an.boel@olvz-aalst.be">an.boel@olvz-aalst.be</a>	
Dr. CLAEYS Geert	TEL: 09/332.36.45	FAX: 09/332.49.85
	e-mail: <a href="mailto:geert.claeys@ugent.be">geert.claeys@ugent.be</a>	
Dr. DE BEENHOUWER Hans	TEL: 053/72.42.72	FAX: 053/72.45.88
	e-mail: <a href="mailto:hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be">hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be</a>	
Dr. DE GHELDRE Yves	TEL: 02/340.41.34	FAX: 02/340.41.79
	e-mail: <a href="mailto:yves.degheldre@chirec.be">yves.degheldre@chirec.be</a>	
Dr. DEDISTE Anne	TEL: 02/535.45.42	FAX: /
	e-mail: <a href="mailto:anne_dediste@stpierre-bru.be">anne_dediste@stpierre-bru.be</a>	
Dr. DELFORGE Marie-Luce	TEL: 02/555.34.53	FAX: 02/555.64.59
	e-mail: <a href="mailto:marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be">marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be</a>	
Dr. LAGROU Katrien	TEL: 016/34.70.98	FAX: 016/34.79.31
	e-mail: <a href="mailto:katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be">katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be</a>	
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40	FAX: 011/30.97.50
	e-mail: <a href="mailto:koen.magerman@jessazh.be">koen.magerman@jessazh.be</a>	
Dr. NAESSENS Anne	TEL: 02/477.50.02	FAX: 02/477.50.15
	e-mail: <a href="mailto:anne.naessens@uzbrussel.be">anne.naessens@uzbrussel.be</a>	
Dr. PADALKO Elizaveta	TEL: 09/332.21.08	FAX: 09/332.49.85
	e-mail: <a href="mailto:elizaveta.padalko@uzgent.be">elizaveta.padalko@uzgent.be</a>	
Dr. REYNDERS Marijke	TEL: 050/45.39.27	FAX: 050/45.26.19
	e-mail: <a href="mailto:marijke.reynders@azsintjan.be">marijke.reynders@azsintjan.be</a>	
Dr. VAN ESBROECK Marjan	TEL: 03/247.64.37	FAX: 03/247.64.40
	e-mail: <a href="mailto:mvesbroeck@itg.be">mvesbroeck@itg.be</a>	
Dr. VERROKEN Alexia	TEL: 02/764.67.32	FAX: 02/764.69.33
	e-mail: <a href="mailto:alexia.verroken@uclouvain.be">alexia.verroken@uclouvain.be</a>	
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85	FAX: 056/85.58.86
	e-mail: <a href="mailto:sophie.woestyn@skynet.be">sophie.woestyn@skynet.be</a>	

Réunion du comité d'experts :

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/rapports/fr/rapports\\_annee.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm)**Autorisation de diffusion de rapport:** par Kris Vernelen (Coordinateur d'enquête) le 31/08/2015


## Tables des matières

---

Tables des matières .....	3
I. Remarques générales .....	4
II. Identifications .....	5
2.1 Culture M/7117 Shigella sonnei .....	5
2.2 Culture M/12958 Klebsiella pneumoniae et Culture M/12961 Enterobacter cloacae complex.....	8
2.3 Culture M/13079 Enterococcus faecalis et Enterococcus faecium .....	13
III. Résultats des identifications .....	14
3.1 Culture M/7117 Shigella sonnei (selles) .....	14
3.2 Culture M/12958 Klebsiella pneumoniae (frottis rectal) .....	16
3.3 Culture M/12961 Enterobacter cloacae complex (urine).....	17
3.4 Culture M/13079 Enterococcus faecium (laboratoires pairs) ou Enterococcus faecalis (laboratoires impairs) (hémoculture) .....	18
IV. Antibiogramme.....	19
4.1 Culture M/12958 Klebsiella pneumoniae.....	19
4.2 Culture M/12961 Enterobacter cloacae.....	31
V. Parasitologie .....	40
5.1 Les échantillons .....	40
5.2 Echantillon P/12582.....	41
5.3 Echantillon P/12688.....	45
5.4 Commentaire .....	48
VI. Sérologie.....	51
6.1 Sérologie de l'hépatite B .....	51
6.2 Sérologie de l'hépatite C.....	61
6.3 Interprétations pour les échantillons S/4033 et S/5635 .....	64
6.4. Commentaire .....	70
6.5 Ag de la Legionella .....	71

## I. Remarques générales

---

Pour la 1<sup>e</sup> enquête du cycle 2015 (enquête 2015/1), le matériel suivant a été expédié le 12 janvier 2015.

**1.1. 3 échantillons lyophilisés et 1 échantillon clinique** pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

**1.2. Deux frottis sanguins** pour la recherche de parasites.

**1.3. Deux échantillons de plasma** pour la sérologie **d'hépatite B et C** et **2 échantillons d'urine** pour la détection de **l'Ag de la Legionella**.

### NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	153
2.	Pour la parasitologie :	162
3.	Pour la sérologie	
	HBV :	154
	HCV :	150
	Ag Legionella:	90

Tous les échantillons utilisés dans les EEQ sont approuvés préalablement par les membres des différents comités d'experts.

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 :

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/fr/microbiologie.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/microbiologie.htm)

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

Pour la parasitologie :

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/fr/parasitologie.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm)

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

Pour la sérologie infectieuse :

[https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/fr/inf\\_serologie.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/inf_serologie.htm)

et puis cliquer sur « Liste des paramètres évalués »

## II. Identifications

---

### **2.1 Culture M/7117 *Shigella sonnei***

Nous avons reçu 153 réponses ; parmi celles-ci 111 laboratoires (72.5%) ont identifié correctement *Shigella sonnei* et 13 laboratoires (8.5%) ont répondu *Shigella* sp. Cette dernière réponse est considérée comme correcte.

L'échantillon était constitué d'un mélange de *Proteus* et de *Shigella*.

L'espèce *sonnei* est celle qui est le plus fréquemment isolée en Belgique (67.8% du total en 2013). Voir rapport annuel des CNR <sup>(1)</sup>.

Seulement 81% des laboratoires ont retrouvé le germe pathogène, et nous souhaitons vous communiquer quelques commentaires et rappels quant à la mise en évidence et l'identification des *Shigella*.

#### Méthode de culture :

- Dans les selles : utilisation indispensable d'un milieu sélectif (par exemple Hektoen, SS, SSI, XLD, ...)
- Dans les autres prélèvements : dans les très rares cas de suspicion clinique de shigellose invasive, une attention particulière devra être apportée aux entérobactéries qui ressemblent à des *E. coli* et sont identifiées comme telles, en particulier si la coproculture concomitante est positive pour *Shigella*.  
*Shigella* pousse bien sur tout type de milieux ; en cas de risque de prélèvement polymicrobien, l'utilisation d'une boîte sélective est conseillée, notamment pour éviter l'impossibilité de lecture due à l'envahissement du milieu par un *Proteus*.

Quoi qu'il en soit s'il s'agit d'un prélèvement précieux, un antibiogramme sera réalisé et le patient sera traité correctement.

#### Méthodes d'identification :

- Classique, biochimique : géloses en tubes, galerie API20E, galerie BBL Crystal,... →OK, avec confirmation par agglutination
- Automatisée : Vitek2, Phoenix, ... →OK, avec confirmation par agglutination
- Spectrométrie de masse MALDI-TOF → tests complémentaires indispensables car pas de discrimination possible entre *E. coli* et *Shigella* par cette méthode.

#### Confirmation :

- Agglutination des colonies avec des anti-serums spécifiques. Cette analyse peut être effectuée par le laboratoire de référence.

Comme conséquence de l'utilisation croissante de la spectrométrie de masse comme méthode principale d'identification, le risque d'erreur est réel si une attention particulière n'est pas apportée aux identifications "*E. coli/ Shigella*" en particulier dans les coprocultures. A titre d'exemple, en 2014, 18.2% des souches reçues par le Centre National de référence français n'étaient pas des *Shigella*.

Tests complémentaires suggérés pour l'identification en cas d'utilisation de la spectrométrie de masse comme méthode d'identification de routine:

Préambule<sup>(2)</sup> : -Presque 100% des *Shigella* sont lactose négative (à l'exception de *S. sonnei* pour lesquelles 2% des souches sont lactose +),

-100% des *Shigella* sont Lysine décarboxylase (LDC) négative.

Pour toute souche lactose négative **et** donnant l'identification *Shigella* vs *E. coli*

- Test LDC (Rosco®)
  - o Faire une suspension 4 Mc Farland dans 0.25mL NaCl 0.9%
  - o Recouvrir le tube avec de l'huile de paraffine
  - o Incuber 3 à 4h (Max 24h) à 35-37°C
  - o Lire :
    - Test négatif → identification classique ou par automate ; si réponse = *Shigella* : confirmer par agglutination
    - Test positif → stop, ce n'est pas une *Shigella*

Une identification classique et / ou une agglutination peuvent évidemment être effectuées sur toute souche suspecte, mais cette solution me semble très onéreuse pour peu de résultats positifs.

Envoi des souches au Centre National de Référence (CNR) :

Afin de disposer d'une épidémiologie fiable, il est demandé aux laboratoires d'envoyer au CNR toute souche de *Shigella*.

Les analyses réalisées par le CNR sont : identification à l'espèce, détermination des sérogroupes et sérotypes et, en cas d'épidémie, sous typage moléculaire pour comparer les souches entre elles.

Plus de renseignements et rapports annuels du CNR disponibles sur le site<sup>(1)</sup>.

Anne Dediste, Laboratoire de la Porte de Hal

## Références

---

1. [https://nrchm.wiv-isp.be/fr/centres\\_ref\\_lab/salmonella\\_et\\_shigella\\_spp/default.aspx](https://nrchm.wiv-isp.be/fr/centres_ref_lab/salmonella_et_shigella_spp/default.aspx)
2. J. Versalovic et al ; Manual of Clinical Microbiology, 10<sup>th</sup> ed. 2011.ASM Press.

## 2.2 Culture M/12958 *Klebsiella pneumoniae* et Culture M/12961 *Enterobacter cloacae* complex

La culture **M/12958** était une souche de *Klebsiella pneumoniae* qui présentait une résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques (bêta-lactamines, aminoglycosides, quinolones,...) dont les carbapénèmes. Plus précisément, cette souche présentait une sensibilité réduite ou était résistante in vitro selon les carbapénèmes testés (CMI=1-2 µg/ml au méropénème (Sensibilité limite selon l'EUCAST) et CMI=4 µg/ml à l'ertapénème (résistant selon l'EUCAST). Elle présentait par ailleurs un diamètre diminué par la méthode de diffusion des disques en gélose tant vis-à-vis de l'ertapénème (zone d'inhibition= 16 mm) que vis du méropénème (zone d'inhibition=23 mm). L'EUCAST a défini les valeurs seuils de screening justifiant la confirmation de la présence d'une carbapénémase pour les souches présentant un diamètre d'inhibition <25 mm à un ou deux de ces antibiotiques (ertapénème, méropénème).

Cette souche produisait une carbapénémase de type OXA-48 ainsi qu'une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M-15 (CTX-M-Groupe 1). Par ailleurs trois autres bêta-lactamases (SHV-1, TEM-1 et OXA-1/-30) ainsi qu'une enzyme inactivant par acétylation les aminoglycosides et les fluoroquinolones (AAC(6')-Ib-cr) étaient également présente.

Ces résistances sont médiées par 2 plasmides transférables (plasmide de 62 Kb hébergeant le gène codant pour OXA-48, les autres gènes de résistance (CTX-M-15, OXA-1/-30, AAC(6')-Ib-cr) étant colocalisés sous forme de cassettes de résistance dans un élément génétique de type intégron, lui-même situé sur un plasmide de poids moléculaire de 180 Kb).

OXA-48 est de loin la carbapénémase la plus fréquemment rencontrée en Belgique (Plus de 2/3 de toutes les CPE) et *Klebsiella pneumoniae* représente la première espèce d'Entérobactérie productrice de carbapénémase (70% de toutes les CPE).

L'identification de la souche **M/12958** ne posait pas de problème (95% de réponses correctes au niveau de l'espèce). Bien que cette souche présentait une sensibilité diminuée (sensibilité limite selon les critères EUCAST et CLSI), la majorité des laboratoires (>85%) a suspecté ou reconnu la présence d'une carbapénémase (environ 1/3 des laboratoires indiquaient même spécifiquement la présence d'une carbapénémase de type OXA-48) et a signalé qu'une telle souche si elle était rencontrée en routine serait envoyée au laboratoire pour confirmation de la présence d'une carbapénémase. Ceci constitue une amélioration significative par rapport à une évaluation antérieure réalisée en 2012 dans laquelle seulement 50% des laboratoires avaient suspectés la présence d'une carbapénémase OXA-48 exprimant une résistance similaire de faible niveau aux carbapénèmes (souche **M/11721**; EEQ 2012/3). L'amélioration de la capacité de détection des carbapénémases par les laboratoires belges est également perceptible au travers de la proportion croissante de souches envoyées et confirmées comme CPE par le CNR. Tandis qu'en 2012 seulement 40% des souches reçues étaient bien confirmées comme CPE cette proportion atteignait près de 60% en 2014. Par contre, l'association d'OXA-48 avec une BLSE n'a été mentionnée que par 40 laboratoires, illustrant la difficulté de détection phénotypique de la présence de ce type de résistance en présence d'une carbapénémase. Cependant, la détection d'une BLSE semble d'importance secondaire en présence d'une carbapénémase tant au niveau clinique qu'en matière d'hygiène hospitalière.

La mesure de la sensibilité aux fluoroquinolones constituait une autre difficulté de cette souche. Comme signalé plus haut la souche **M/12958** produisait une enzyme de type AAC(6')-Ib-cr acétylant à la fois les aminoglycosides et les fluoroquinolones. Ce mécanisme de résistance plasmidique entraîne une résistance de niveau aux fluoroquinolones nettement plus faible que celui observé en cas de mécanisme de résistance chromosomique liés à des mutations dans les gènes codant pour les DNA gyrases (en particulier *gyrA*) et affecte typiquement plus la ciprofloxacine que la lévofloxacine. La souche dont question présentait une CMI une double dilution plus haute à la ciprofloxacine (CMI=1 µg/ml) que à la lévofloxacine (0.5 µg/ml).

Ceci pourrait dès lors expliquer le nombre plus élevé de résultats faussement sensibles obtenus par les laboratoires ayant rapporté la mesure de sensibilité avec la lévofloxacine plutôt qu'avec la ciprofloxacine. Une autre constatation était le nombre plus élevé de résultats rapportés sensibles aux quinolones (à nouveau plus fréquemment avec la lévofloxacine qu'avec la ciprofloxacine) par les utilisateurs de systèmes automatisés d'antibiogramme et en particulier par la méthode VITEK 2. Bien que les raisons précises de ces discordances inter-méthodes ne soient pas élucidées, il est possible que les différences de mesures de résultats observés reflètent des variations dans les gammes de concentrations testées (en particulier avec concentrations basses trop élevées que pour détecter une résistance de bas niveau aux fluoroquinolones).

Rappelons brièvement ici que les OXA-48 sont des carbapénémases de classe D (selon la classification d'Ambler) codées par des gènes localisés sur un transposon (Tn1999 ou Tn 1999.2) situé sur un plasmide conjugatif auto-transférable (pOXA48). L'environnement génétique du gène de résistance codant pour OXA-48 est extrêmement stable et le plasmide pOXA-48 qui l'héberge présente une haute fréquence de transfert expliquant la capacité de cette carbapénémase à diffuser largement tant chez *Klebsiella pneumoniae* (diffusion intra-species) que chez d'autres espèces d'entérobactéries (*E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., ...). La diffusion épidémique d'OXA-48 dans plusieurs pays Européens (dont notamment la Belgique et la France) reflète donc plus une épidémie de plasmide qu'une épidémie de souches (clones).

On reconnaît actuellement plusieurs variants alléliques d'OXA-48 qui diffèrent de celle-ci par mutation(s) ponctuelle(s) d'un ou de quelques acides aminés, modifiant ainsi le spectre d'hydrolyse de l'enzyme. Ainsi, OXA-181 et OXA-232 largement prévalents sur le sous-continent indien possèdent une activité hydrolytique accrue sur les carbapénèmes par rapport à OXA-48. Inversement, chez OXA-163, les mutations présentes dans le site actif de l'enzyme entraînent une perte de l'hydrolyse des carbapénèmes et un profil d'activité de type BLSE (hydrolyse des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération, inhibition par le clavulanate et le tazobactam).

Les carbapénémases OXA-48 et la plupart de ses variants hydrolysent faiblement les carbapénèmes, mais n'hydrolysent par contre ni les céphalosporines à large spectre (3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération) ni l'aztréonam. A la différence des carbapénémases de classe A (KPC) et de classe B (métallo-bêta-lactamases) pour lesquelles il existe des inhibiteurs connus (acide aminophényl boronique inhibiteur de classe A et EDTA ou acide dipicolinique (DPA) inhibiteur de classe B), aucun inhibiteur n'est connu à ce jour vis-à-vis des carbapénémases de classe D (OXA-48). Cependant, une caractéristique phénotypique très typique de la carbapénémase OXA-48 est la résistance de haut niveau aux pénicillines associées avec un inhibiteur de bêta-lactamase (clavulanate, tazobactam) et à la témocilline (CMI > 128 µg/ml ; diamètre d'inhibition < 12 mm). Bien que non spécifique, la résistance à ces antibiotiques

constitue un élément intéressant pour la détection de la carbapénémase OXA-48 au laboratoire.

La résistance à la ceftazidime et à la céfépime observée chez la souche **M/12958** s'explique par l'association d'une BLSE de type CTX-M (CTX-M-15) qui est présente dans 80% des cas de souches productrices de carbapénémase OXA-48.

La souche envoyée présentait un diamètre d'inhibition au méropénème de 24 mm et une CMI au méropénème de 1 µg/ml et était donc encore sensible selon les critères définis par l'EUCAST et par le CLSI. Cependant, l'EUCAST a défini une valeur limite (zone d'inhibition < 25 mm) comme seuil de screening pour la recherche et la confirmation de carbapénémase. Il est cependant important de noter près de 30% des souches productrices d'OXA-48 confirmées au laboratoire de référence ont un diamètre d'inhibition au méropénème supérieur à cette valeur seuil. En attendant la confirmation par l'EUCAST (révision de guidelines en cours), il paraît cependant important dans les pays/zones à haute prévalence d'OXA-48 (comme la Belgique) de considérer un diamètre au méropénème <27 mm comme valeur seuil de screening.

L'utilisation de l'ertapénème (valeur seuil de screening <25 mm recommandée par l'EUCAST) améliore la sensibilité de détection des carbapénémases OXA-48 (sensibilité : 97%) mais avec une spécificité nettement moindre (60%) en particulier chez *Enterobacter* spp. (souches productrices de céphalosporinase AmpC et/ou de BLSE avec résistance/diminution de sensibilité par imperméabilité de paroi).

De nombreux tests rapides (diagnostic en 60 à 120 min) pour le screening des carbapénémases sont actuellement disponibles commercialement. La plupart d'entre eux sont basés sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse de l'imipénème (Rapidec<sup>®</sup>, bioMérieux ; Rosco CARBA SCREEN kit, Rosco ; Blue Carb test, Rosco). Ces tests rapides ont une excellente spécificité en cas de résultat négatif (99-100%) et peuvent être utilisés pour exclure la présence d'une carbapénémase en cas de résultat négatif compte tenu de leur valeur prédictive négative très élevée. Parmi les différents tests disponibles, le Rapidec<sup>®</sup> (bioMérieux) montre le taux de sensibilité le plus élevé (>90%) mais des résultats faussement négatifs sont rarement observés pour certaines souches productrices d'OXA-48 (5-10% des cas). Le test de Hodge modifié (MHT ; Modified Hodge Test) montre une bonne sensibilité pour la détection de certaines carbapénémases (notamment KPC et OXA-48) mais manque par contre de sensibilité pour la détection des métallo-bêta-lactamases (classe B), en particulier vis-à-vis des NDM. Des résultats faussement positifs sont parfois observés (souches productrices d'AmpC et/ou de BLSE avec imperméabilité de paroi). Compte tenu de la difficulté de standardisation et de l'interprétation parfois subjective des résultats, l'utilisation du MHT n'est pas recommandée en routine pour le diagnostic des carbapénémases.

La présence de carbapénémase peut également être détectée en 2-3h par spectrométrie de masse en MALDI-TOF (hydrolyse de l'imipénème détectée par la disparition de pics du produit actif et présence de pics correspondant à des produits de dégradation de l'imipénème), mais la réalisation de cette technique reste encore laborieuse et n'est pas recommandée actuellement en première intention dans un contexte de routine.

Des méthodes génotypiques basées sur des techniques de PCR ont été rapportées. Ces techniques nécessitent une infrastructure spécialisée en biologie moléculaire et restent par ailleurs trop coûteuses pour être utilisées en routine. Des méthodes commercialisées rapides et automatisées par PCR multiplex en temps réelles ou par technique d'amplification isothermique (Loop-mediated isothermal amplification [LAMP]) sont également disponibles et permettent l'obtention de résultats (détection

précise du type de CPE) dans un délai d'une heure. Globalement, les méthodes génotypiques ont le désavantage de ne pas permettre la détection de nouveaux types ou de variants de carbapénémases existantes et leur utilisation reste encore limitée aux seuls laboratoires spécialisés et aux centres de référence.

A noter par ailleurs que certaines carbapénémases (plusieurs variants d'OXA-48, variants alléliques d'IMP,...) ne sont pas ciblés par les tests commerciaux et inversement que ceux-ci détectent parfois certains variants (p.ex : OXA-163) dépourvus d'activité carbapénémases (p.ex : OXA-163).

La détection de carbapénémase par test immunochromatographique utilisant des anticorps monoclonaux vis-à-vis d'une protéine recombinante purifiée constitue une avancée diagnostique majeure. Un premier test sera commercialisé très prochainement pour la détection rapide de carbapénémase OXA-48 en moins de 15 min à partir de colonies en culture (OXA-48 K-Set, Coris BioConcept). Les résultats préliminaires issus des premières évaluations semblent extrêmement prometteurs (sensibilité et spécificité: 100%). Par ailleurs, les développements de tests immunochromatographiques pour la détection d'autres types de carbapénémases (p.ex. : KPC, NDM) sont actuellement en cours. Outre son excellente sensibilité et spécificité, cette technologie simple, rapide et peu coûteuse offre l'avantage par les possibilités de multiplexage (détection possible d'antigènes dirigés contre plusieurs types de carbapénémase sur un même test) et est déjà largement utilisée dans les laboratoires clinique pour le diagnostic d'agents pathogènes responsables de différentes maladies infectieuses.

L'échantillon **M/12961** envoyé appartenait au complexe *Enterobacter cloacae*, groupe taxonomiquement hétérogène (regroupant six espèces dont *E. cloacae* stricto sensu, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii* et *E. nimipressuralis*). Dans le cas présent, la souche appartenait à l'espèce *E. cloacae*. Le fait que la majorité des laboratoires (99%) ait répondu correctement au niveau de l'espèce reflète probablement l'utilisation croissante par ceux-ci de la spectrométrie MALDI-TOF MS pour l'identification bactérienne en routine. Cette technique à la différence des méthodes phénotypiques conventionnelles biochimiques identifie en effet aisément les différents taxons au sein du complexe *Enterobacter cloacae*.

Cette souche présentait un profil de multi-résistance classique affectant l'ensemble des  $\beta$ -lactamines (pénicillines, céphalosporines et carbapénèmes) et les aminoglycosides (à l'exception de l'amikacine pour laquelle la sensibilité était limite ; diamètre 16 mm; CMI = 8  $\mu$ g/ml par méthode de microdilution). De manière inhabituelle pour une CPE, cette souche conservait une bonne sensibilité vis-à-vis des fluoroquinolones (ciprofloxacine et lévofloxacine). A la différence de la souche précédente (M/12958), l'isolat **M/12961** présentait une résistance de haut niveau au méropénème (CMI = 16  $\mu$ g/ml), résistant à la fois selon les recommandations de l'EUCAST et du CLSI. Cette souche produisait une métallo- $\beta$ -lactamase (carbapénémase de classe B de Ambler) de type VIM-1 (Verona IMipenemase) et une BLSE de type CTX-M-9.

Les participants dans leur grande majorité (>85% des laboratoires) ont souligné le caractère multi-résistant de la souche et ont soit reconnu soit suspecté la présence d'une carbapénémase en suggérant l'envoi de celle-ci dans un laboratoire de référence pour la confirmation de la présence d'une carbapénémase.

Un screening de détection de la production d'une MBL peut être facilement effectué à l'aide de tests phénotypiques recherchant la présence d'une synergie entre l'imipénème ou le méropénème et l'EDTA ou d'autres types d'inhibiteurs des carbapénémases de type MBL comme le DPA (acide dipicolinique). Plusieurs tests

ou kits commerciaux sont actuellement disponibles sous différents formats: doubles tigettes utilisant des gradients de concentration d'antibiotiques (imipénème vs imipénème/EDTA ou méropénème vs méropénème/DPA) (tests positifs lorsque le ratio des CMI carbapénèmes vs Carbapénème/inhibiteur de MBL est  $\geq 8$ ), ainsi que des disques combinés (imipénème vs imipénème /EDTA ou méropénème vs méropénème/DPA) commercialisés par la firme ROSCO® (positifs lorsque la différence de diamètre observée entre la combinaison carbapénème/inhibiteur MBL est  $\geq 5$  mm à celui en présence du carbapénème seul). La présence d'une BLSE associée est habituellement difficile à détecter, mais elle pouvait être suspectée ici par la résistance à l'aztréonam (cet antibiotique n'étant pas hydrolysé par les MBL). Chez les souches productrices de carbapénémases, la mise en évidence d'une BLSE associée peut être révélée phénotypiquement par l'utilisation de tests de synergie (céfotaxime et ceftazidime +/- clavulanate) en présence d'inhibiteurs spécifiques de carbapénémases (p.ex : EDTA pour les métallo- $\beta$ -lactamases, acide boronique pour les carbapénémases de classe A).

L'importance clinique et épidémiologique qui justifie de détecter la présence de carbapénémases a été largement détaillé antérieurement dans le cadre du commentaire relatif à l'enquête nationale EEQ 2012/3. Vous pouvez retrouver ce texte dans le rapport annuel global 2012 de l'enquête. Nous vous conseillons vivement de consulter ce texte ([https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external\\_quality/rapports/fr/rapports\\_2012.htm](https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_2012.htm))

Les tableaux présentant la classification des carbapénémases acquises, les concentrations et diamètres critiques des carbapénèmes selon les recommandations de l'EUCAST et les méthodes de détection phénotypique sont repris dans ce même rapport annuel comme tableaux 1.2.10, 11 et 12.

Sur toute souche suspecte reçue, le centre national de référence réalise d'abord des tests phénotypiques (confirmation de l'identification bactérienne par MALDI-TOF MS, antibiogramme élargi (16 antibiotiques) par diffusion des disques en gélose, tests d'hydrolyse des carbapénèmes par le carba NP test). En fonction des résultats préliminaires, des tests complémentaires (amplification génique par méthode isotherme de type LAMP) sont réalisés tous les jours). Les résultats positifs pour CPE sont communiqués par courrier électronique et des protocoles définitifs sont édités quotidiennement (par voie électronique et en support papier). En 2014, le turn around time maximum de réponse du CNR des BLSE/Carbapénémase était de 6 jours ouvrables et ne dépassait pas 3 jours ouvrables dans plus de 90% des cas.

Afin d'accélérer le processus de réponse, le centre national de référence demande instamment aux laboratoires extérieurs d'envoyer des cultures fraîches sur milieu gélosé plutôt qu'en tube profond (car dans ce cas, nécessité de procéder à un repiquage sur gélose qui diffère la réalisation des tests de 24 h).

Pr. Y. Glupczynski  
Laboratoire de bactériologie  
CHU Dinant-Godinne UCL  
Responsable du CNR des Bactéries  
Gram-négatif résistantes aux antibiotiques

**2.3 Culture M/13079** *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*

Nous référons aux commentaires précédents concernant les entérocoques (EEQ 2003/1 pour *E. faecium* et EEQ 2002/1 et 2014/3 pour *E. faecalis*).

### III. Résultats des identifications

---

156 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 153 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 laboratoires étrangers et un laboratoire d'une firme. Ces 3 derniers n'ont pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 82.4%. 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, les erreurs d'encodage,...

Même si le Toolkit prévoit la possibilité de répondre « sous-traité », nous vous conseillons d'utiliser cette réponse surtout si vous êtes « bloqué » dans les identifications. **Si en routine vous ne traitez pas une certaine origine d'échantillon** (p.ex. les hémocultures), **nous vous conseillons quand-même d'ensemencer de tels échantillons et de les identifier** (et d'effectuer l'antibiogramme éventuel): **en effet dans beaucoup de cas il s'agit de germes qui peuvent être retrouvés dans d'autres prélèvements.**

Nous voulons également répéter que si, pour quelque raison que ce soit, vous rencontrez des problèmes avec un échantillon donné, il vous est toujours possible de demander un second envoi au cours de l'enquête (ou après clôture pour contrôle de vos résultats).

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

#### **3.1 Culture M/7117** *Shigella sonnei* (selles)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Une femme de 55 ans participe à un barbecue le dimanche. Lundi soir, elle devient malade avec des plaintes de frissons, vomissement et diarrhée. Deux jours plus tard elle est admise à l'hôpital et on prélève un échantillon de selles. Entretemps son époux et son petit-enfant ont développé les mêmes symptômes.

**Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine. »**

<u><i>Shigella sonnei</i></u>	111	72.5%
<u><i>Shigella species</i></u>	13	8.5%
<i>Escheria coli</i>	2	
<i>Escheria coli</i> : STEC	1	
Présence de commensaux (Suspicion de <i>Shigella</i> - colonies suspectes sur Hektoen et DCLS mais impossible d' isoler, envahissement par <i>Proteus</i> sp.)	1	
Absence de pathogènes	23	
Sous-traité	2	

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

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
Dans un but épidémiologique	59
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	11
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme <sup>1</sup>	44
Dans un but épidémiologique + autre raison non précisée	1
Recherche d' <i>E. coli</i> entéro-pathogène	1
N'est pas envoyé	32
Pas de réponse à la question	5
<b>Total</b>	<b>153</b>

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

### **3.2 Culture M/12958 Klebsiella pneumoniae (frottis rectal)**

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Femme de 90 ans : frottis rectal de dépistage (screening à l'admission; hospitalisation dans un service de gériatrie). Transfert d'une MRS (ATCD d'hospitalisation il y a 3 mois).

**Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine et effectuer un antibiogramme si vous le feriez en routine. »**

<u>Klebsiella pneumoniae</u>	98	64.1%
<u>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</u>	45	29.4%
<u>Klebsiella pneumoniae complex</u>	1	0.7%
<u>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</u>	1	
<u>Klebsiella terrigena</u>	1	
<u>Raoultella terrigena</u>	3	
<u>Klebsiella pneumoniae/ Raoultella terrigena</u>	1	
Absence de pathogènes	1	
Sous-traité	2	

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

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
Dans un but épidémiologique	14
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme <sup>1</sup>	39
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme <sup>2</sup>	72
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autre raison non précisée	2
Dans un but épidémiologique + autre raison non précisée	1
Autre raison non précisée	1
N'est pas envoyé	21
Pas de réponse à la question	3
<b>Total</b>	<b>153</b>

<sup>1</sup> Treize laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme: 12 de ceux-ci ont mentionné explicitement qu'il s'agit du contrôle de CPE/carbapénèmase.

<sup>2</sup> Quinze laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme: 13 de ceux-ci ont mentionné explicitement qu'il s'agit du contrôle de CPE/carbapénèmase.

### **3.3 Culture M/12961 *Enterobacter cloacae* complex (urine)**

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Homme de 73 ans : hospitalisation en gériatrie. Prélèvement urinaire (Infection urinaire acquise sur sondage de la vessie pour rétention urinaire pendant le séjour).

**Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine et n'effectuer un antibiogramme que pour les germes qui sont pathogènes pour ce site de prélèvement. »**

<u><i>Enterobacter cloacae</i></u>	119	77.8%
<u><i>Enterobacter cloacae ssp. cloacae</i></u>	20	13.1%
<u><i>Enterobacter cloacae complex</i></u>	11	7.2%
<u><i>Enterobacter cloacae/asburiae</i></u>	2	1.3%
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	

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

<b>Réponse</b>	<b>N labos</b>
Dans un but épidémiologique	20
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme <sup>1</sup>	42
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme <sup>2</sup>	64
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autre raison non précisée	3
Autre raison non précisée	1
N'est pas envoyé	22
Pas de réponse à la question	1
<b>Total</b>	<b>153</b>

<sup>1</sup> Dix-sept laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme et plus particulièrement du contrôle de CPE/carbapénémase.

<sup>2</sup> Douze laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme: 11 de ceux-ci ont mentionné explicitement qu'il s'agit du contrôle de CPE/carbapénémase.

**3.4 Culture M/13079** *Enterococcus faecium* (laboratoires pairs) ou *Enterococcus faecalis* (laboratoires impairs) (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémocultures prélevées chez une patient de 75 ans avec une endocardite. Six flacons positifs.

**Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine. »**

Des échantillons différents ont été envoyés aux laboratoires avec des numéros d'agrément pair et impair sous ce même numéro.

**Laboratoires avec numéro d'agrément pair (N = 88)**

<i>Enterococcus faecium</i>	86	97.7%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique	10
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme <sup>1</sup>	9
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme <sup>2</sup>	16
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autre raison non précisée	2
Autre raison non précisée	1
N'est pas envoyé	48
Pas de réponse à la question	2
<b>Total</b>	<b>88</b>

<sup>1</sup> Trois laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme et plus particulièrement du contrôle de la résistance à la vancomycine.

<sup>2</sup> Quatre laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme: 3 de ceux-ci ont mentionné explicitement qu'il s'agit du contrôle de la résistance à la vancomycine.

**Laboratoires avec numéro d'agrément pair (N = 65)**

<i>Enterococcus faecalis</i>	62	95.4%
Sous-traité	3	

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

Réponse	N labos
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	2
Dans un but épidémiologique + Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	2
N'est pas envoyé	59
Pas de réponse à la question	2
<b>Total</b>	<b>65</b>

## IV. Antibiogramme

---

Un aperçu général des résultats est présenté au début de la discussion. 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 et du centre de référence.

Pour l'échantillon M/12958, six laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme:

- les 2 laboratoires qui ont mentionné qu'ils sous-traitaient ce genre d'échantillons
- le laboratoire qui a répondu « absence de pathogènes »
- un laboratoire qui a mentionné ne pas effectuer d'antibiogramme étant donné qu'il s'agit d'un échantillon de dépistage (ce laboratoire a bien mentionné: « BLSE +, CPE classe D + »)
- 2 laboratoires qui n'ont pas mentionné la raison pour laquelle ils n'ont pas effectué d'antibiogramme; un des deux a bien mentionné: « BLSE +, CPE classe D + »; l'autre a mentionné envoyer cette souche pour détection carbapénèmase.

Pour l'échantillon M/12961 un laboratoire n'a pas effectué d'antibiogramme: il a mentionné envoyer cette souche pour détection de carbapénèmase.

### **4.1 Culture M/12958 *Klebsiella pneumoniae***

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 le résultat le plus résistant dans le tableau suivant (4.1.1).

Un grand nombre de laboratoires ont donné des remarques (parfois étendues) pour clarifier leur réponse; pour des raisons de simplicité et de lisibilité nous avons regroupés ci-dessous ces remarques dans de grandes lignes:

- Présence de carbapénèmase, (probablement) OXA-48: 40 labos
  - o 15 d'entre eux: + ESBL
  - o 1 d'entre eux: ESBL négatif
- Présence de carbapénèmase, probablement OXA-48 ou NDM: 1 labo
- Présence de carbapénèmase, OXA-62: 1 labo
- Présence de carbapénèmase, probablement OXA-54: 2 labos
  - o 1 d'entre eux: + ESBL
- Présence de carbapénèmase, probablement OXA-52 (+ BLSE): 1 labo
- Présence de carbapénèmase, probablement KPC: 1 labo
- Présence de carbapénèmase de classe D: 1 labo
- (Suspicion de) présence de carbapénèmase: 56 labos
  - o 22 d'entre eux: + (suspicion de) ESBL
- Présence de BLSE: 7 labos

**Tableau 4.1.1.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat attendu</i>	<i>Total</i>	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>*</i>
Pipéracilline-tazobactame	R	141	-	4	136	1 <sup>1</sup>
Ceftazidime		143	10	60	72	1 <sup>2</sup>
Céfépime		138	37	69	31	1 <sup>3</sup>
Céfazoline <sup>4</sup>		1	-	-	1	-
Céfoxitine <sup>5</sup>		1	1	-	-	-
Ceftriaxone <sup>5</sup>		1	-	-	1	-
Céfuroxime <sup>4,6</sup>		2	-	-	2	-
Méropénème		148	88	34	25	1 <sup>7</sup>
Imipénème <sup>8</sup>		3	1	1	1	-
Ertapénème <sup>8,9</sup>		8	-	2	6	-
Témocilline	R	127	-	-	127	-
Ciprofloxacine	I/R	139	32	39	68	-
Lévofloxacine	I/R	78	52	2	24	-
Ofloxacine <sup>10</sup>		1	-	-	1	-
Amikacine	S	129	127	1	1	-
Gentamicine <sup>11</sup>		2	-	-	2	-

<sup>1</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert (« I ») mais a laissé ouvert le résultat final.

<sup>2</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert (« R ») mais a laissé ouvert le résultat final.

<sup>3</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert ("R") mais a répondu « ? » pour le résultat final.

<sup>4</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfazoline et à la céfuroxime.

<sup>5</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfoxitine.

<sup>6</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la ceftriaxone et à la céfuroxime.

<sup>7</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat brut (« S ») mais a répondu « suspicion de carbapénémase » pour le résultat final.

<sup>8</sup> Trois laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'imipénème et à l'ertapénème.

<sup>9</sup> Quatre laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'ertapénème. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ertapénème au lieu du méropénème.

<sup>10</sup> Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la lévofloxacine.

<sup>11</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à l'amikacine également la sensibilité à la gentamicine.

Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.13. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats des laboratoires ayant lu le diamètre des disques en papier manuellement sont repris dans le tableau 4.1.2. 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 les appareils Osiris, Adagio ou Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans les tableaux 4.1.3., 4.1.4 et 4.1.5. Etant donné le nombre limité de participants de l'Osiris pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

**Tableau 4.1.2.** Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(17)				-	-	17
	10	30 + 6	9	6 – 14	-	-	10
	7	100 + 10	13	6 – 16	-	-	7
Ceftazidime <sup>1</sup>	(18)				5	5	8
	8	10	19	15 – 21	-	4	4
	10	30	21	17 – 24	5	1	4
Céfépime	13 (13)	30	24	20 – 27	8	3	2
Céfoxitine	1 (1)	30	28	-	1	-	-
Méropénème	17 (17)	10	22	19 – 25	7	7	3
Imipénème	1 (1)	10	23	-	1	-	-
Ertapénème	2 (3)	10	16	13 – 19	-	-	3
Témocilline	18 (18)	30	6	6 – 9	-	-	18
Ciprofloxacine	16 (16)	5	17	14 – 20	1	4	11
Lévofloxacine	5 (5)	5	22	15 – 23	3	1	1
Amikacine	16 (16)	30	21	16 – 25	16	-	-

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques.

**Tableau 4.1.3.** Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Ceftazidime	1	-	1	-
Céfépime	2	2	-	-
Méropénème	2	2	-	-
Témocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacine	2	-	-	2
Amikacine	2	2	-	-

**Tableau 4.1.4.** Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(6)				-	-	6
	1	30 + 6	6	-	-	-	1
	5	100 + 10	12	11 – 15	-	-	5
Ceftazidime <sup>1</sup>	(6)				1	1	4
	2	10	17.5	17 – 18	-	-	2
	4	30	22	21 – 22	1	1	2
Céfépime	6 (6)	30	23	17 – 25	2	3	1
Céfazoline	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Céfuroxime	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Méropénème	6 (6)	10	23	20 – 23	2	3	1
Imipénème	1 (1)	10	21	-	-	1	-
Ertapénème	1 (1)	10	14	-	-	-	1
Témocilline	5 (5)	30	6	6 – 8	-	-	5
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	(4)				-	-	4
	3	5	16	15 – 17	-	-	3
	1	30	16	-	-	-	1
Lévofloxacine	2 (2)	5	19.5	19 – 20	1	1	-
Ofloxacine	1 (1)	5	18	-	-	-	1
Amikacine	6 (6)	30	20	18 – 21	6	-	-
Gentamicine	1 (1)	10	6	-	-	-	1

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques.

**Tableau 4.1.5.** Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(7)				-	-	7
	6	30 + 6	15	14 – 16	-	-	6
	1	100 + 10	16	-	-	-	1
Ceftazidime <sup>1</sup>	(8)				-	-	8
	7	10	16	6 – 18	-	-	7
	1	30	19	-	-	-	1
Céfépime	8 (8)	30	23	20 – 26	2	4	2
Méropénème	6 (6)	10	22	16 - 23	3	3	-
Témocilline	7 (7)	30	6	6 – 6	-	-	7
Ciprofloxacine	6 (6)	5	18	16 – 19	-	1	5
Lévofloxacine	1 (2)	5	25	-	-	-	2
Amikacine	7 (7)	30	20	18 – 22	7	-	-

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques.

Dans les tableaux 4.1.6. a et b nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les résultats obtenus par lecture manuelle. Uniquement pour les disques avec charge nouvelle (« new »), il y avait assez de participants pour déterminer de façon statistiquement significative les médianes, minima et maxima.

Le tableau 4.1.7. reprend les résultats des disques avec charge nouvelle, lus par le Sirscan.

Aucun laboratoire n'a lu les résultats des disques Neosensitabs avec charges classiques Neosensitabs (« old ») avec le Sirscan.

**Tableau 4.1.6a.** Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge classique Neosensitabs) pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	1	-	-	1
Méropénème	1	1	-	-
Témocilline	4	-	-	4
Lévofloxacine	1	1	-	-
Amikacine	1	-	1	-

**Tableau 4.1.6b.** Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(12)				-	-	12	-
	5 <sup>2</sup>	30 + 6	9	9 – 11	-	-	5	-
Ceftazidime <sup>1</sup>	6	100 + 10	15	9 – 16	-	-	6	-
	(12)				-	2	10	-
Céfépime	5	10	15	14 – 17	-	-	5	-
	7	30	20	15 – 23	-	2	5	-
Méropénème	9 (9)	30	23	9 – 25	3	2	4	-
Témocilline	12 (12)	10	23	15 – 24	3	5	3	1 <sup>3</sup>
Ciprofloxacine	11 (11)	30	10	9 – 12	-	-	11	-
Lévofloxacine	10 (10)	5	17	16 – 18	-	4	6	-
Amikacine	3 (3)	5	24	22 – 26	3	-	-	-
	9 (11)	30	20	18 – 22	10	-	1	-

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques.

<sup>2</sup> De plus, un laboratoire a mentionné un diamètre <9 mm (« R »).

<sup>3</sup> Un laboratoire a référé au résultat (« S ») de la détermination de la CMI qu'il a effectué.

**Tableau 4.1.7.** Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Céfépime	1	-	1	-
Méropénème	2	1	1	-
Témocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacine	1	-	-	1
Lévofloxacine	1	1	-	-
Amikacine	2	2	-	-

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau 4.1.8.

**Tableau 4.1.8.** Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultats	Valeur CMI (mg/L)
Pipéracilline-tazobactame	3	3 x R	2 x 96 mg/L; ≥256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x I	4 mg/L
Céfépime	4	3 x I 1 x R	2 x 1.5 mg/L; 2 mg/L 4 mg/L
Méropénème	19	15 x S 1 x I 3 x R	4 x 0.25 mg/L; 0.38 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 2 x 0.75 mg/L; 4 x 1 mg/L; 1.5 mg/L; 2 mg/L 4 mg/L 8 mg/L; 2 x 32 mg/L
Imipénème	2	1 x S 1 x R	1 mg/L 3 mg/L
Ertapénème	2	1 x I 1 x R	0.75 mg/L 32 mg/L
Témocilline	12	12 x R	2 x 128 mg/L; 192 mg/L; 256 mg/L; 8 x ≥ 1024 mg/L
Ciprofloxacine	4	1 x I 3 x R	2 mg/L 1.5 mg/L; 3 mg/L; 4 mg/L
Lévofloxacine	2	2 x S	2 x 0.5 mg/L
Amikacine	3	3 x S	1.5 mg/L; 2 x 3 mg/L

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau 4.1.9.

**Tableau 4.1.9.** Résultats obtenus avec le test MICE pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre de laboratoires</b>	<b>Résultats</b>	<b>Valeur CMI (mg/L)</b>
Méropénème	7	4 x S 1 x I 1 x R 1 x suspicion de carbapénémase <sup>1</sup>	0.25 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 1 mg/L 2 mg/L 6 mg/L 2 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x R	2 mg/L

<sup>1</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat brut (« S ») mais a répondu « suspicion de carbapénémase » pour le résultat final.

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau 4.1.10.

**Tableau 4.1.10.** Résultats obtenus avec le MIC test Strip pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre de laboratoires</b>	<b>Résultats</b>	<b>Valeur CMI (mg/L)</b>
Méropénème	12	8 x S  2 x I 2 x R	0.25 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 0.75 mg/L; 1 mg/L; 2 x 1.5 mg/L; 4 mg/L 2 x 2 mg/L 2x > 32 mg/L
Ertapénème	1	1 x R	>32 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x I	1.5 mg/L

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.1.11.

**Tableau 4.1.11.** Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*)

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			
Pipéracilline-tazobactame	-	1	49	1 <sup>1</sup>	≥128	42 (51)	-	1	33	≥128	26 (34)	
Ceftazidime	5	25	21	1 <sup>2</sup>	4	49 (52)	1	14	18	4	30 (33)	
Céfépime	14	31	5	1 <sup>3</sup>	≤1	47 (51)	3	20	9	≤1	31 (32)	
Méropénème	31	11	9	-	1	40 (51)	15	7	7	1	23 (29)	
Ertapénème	-	1	1	-	4 et ≥8	1 et 1 (2)	-	-	-	-	-	
Témocilline	-	-	40	-	≥32	39 (40)	-	-	24	≥32	24 (24)	
Ciprofloxacine	18	17	15	-	1	33 (50)	14	15	5	1	30 (34)	
Lévofloxacine	22	-	6	-	1	28 (28)	18	-	5	1	19 (23)	
Amikacine	42	-	-	-	≤2	42 (42)	28	-	-	≤2	27 (28)	
Gentamicine	-	-	1	-	≥16	1 (1)	-	-	-	-	-	

<sup>1</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert (« I ») mais a laissé ouvert le résultat final.

<sup>2</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert (« R ») mais a laissé ouvert le résultat final.

<sup>3</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat expert ("R") mais a répondu' « ? » pour le résultat final.

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 pipéracilline-tazobactame, 5 laboratoires ont mentionné une CMI de 32 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 64 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a trouvé une CMI de 16 mg/L, 6 laboratoires une CMI de 32 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 64 mg/L
- pour la ceftazidime, 1 1 laboratoire a trouvé une CMI de ≥4 mg/L et 2 laboratoires une CMI de 16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 1 laboratoire a trouvé une CMI de 16 mg/L et 2 laboratoires une CMI ≥64 mg/L
- pour la céfépime, 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 2 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a trouvé une CMI ≥64 mg/L
- pour le méropénème, 1 laboratoire a trouvé une CMI de 0.25 mg/L, 3 laboratoires une CMI de 2 mg/L, 6 laboratoires une CMI de 4 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≥16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a trouvé une CMI de 2 mg/L, 1 laboratoire une CMI de 4 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≥16 mg/L
- pour la témocilline, 1 laboratoire a trouvé une CMI de 128 mg/L pour le Vitek 2
- pour la ciprofloxacine, 17 laboratoires ont mentionné une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2 et 4 laboratoires cette même valeur pour le Vitek 2 compact
- pour la lévofloxacine, 1 laboratoire a trouvé une CMI de 0.5 mg/L pour le Vitek 2 compact
- pour l'amikacine, 1 laboratoire a trouvé une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2 compact

Trois laboratoires ont utilisé la méthode ATB pour la détermination de la sensibilité: les sont repris dans le tableau 4.1.12.

**Tableau 4.1.12.** Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Céfépime	2	1	-	1
Méropénème	2	1	-	1
Ciprofloxacine	2	-	-	2
Lévofloxacine	2	1	-	1
Amikacine	3	3	-	-

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.1.13.

**Tableau 4.1.13.** Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/12958 (*Klebsiella pneumoniae*)

Antibiotique	Résultat			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labs ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pipéracilline-tazobactame	-	-	17	≥16/4	16 (17)
Ceftazidime	-	13	3	4	15 (16)
Céfépime	4	8	5	2	6 (17)
Ceftriaxone	-	-	1	>4	1 (1)
Céfuroxime	-	-	1	>8	1 (1)
Méropénème	13	1	1	1	9 (15)
Témocilline	-	-	14	>32	14 (14)
Ciprofloxacine	-	1	16	>1	16 (17)
Lévofloxacine	2	-	8	≤0.5	5 (10)
Amikacine	17	-	-	≤4	16 (17)

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 pipéracilline-tazobactame, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 64 mg/L
- pour la ceftazidime, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 2 mg/L
- pour la céfépime, 5 laboratoires ont mentionné une CMI ≤1 mg/L, 2 laboratoires une CMI de 4 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 8 mg/L
- pour le méropénème, 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 2 mg/L
- pour la ciprofloxacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 1 mg/L

- pour la lévofloxacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI  $\leq 0.25$  mg/L et 4 laboratoires une CMI de 1 mg/L
- pour l'amikacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI  $\leq 2$  mg/L

Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité: un des 2 a obtenu les résultats « S » pour le méropénème et l'amikacine, « I » pour la pipéracilline-tazobactame et « R » pour la ceftazidime, la céfépime, la ciprofloxacine et la lévofloxacine; l'autre les résultats « S » pour la céfépime, le méropénème, la lévofloxacine et l'amikacine et « I » pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime et la ciprofloxacine.

Un laboratoire a utilisé la microdilution pour la détermination de la sensibilité: il a obtenu les résultats « S » pour l'amikacine, « I » pour la ceftazidime et la céfépime et « R » pour la pipéracilline-tazobactame, le méropénème, la témocilline et la ciprofloxacine.

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Certains laboratoires ont effectué ces modifications en se basant sur l'utilisation de différentes méthodes:

- La pipéracilline-tazobactame:
  - o S→R
    - Vitek 2 compact: 1 labo
  - o I→R
    - Vitek 2: 2 labos
- La ceftazidime:
  - o S→R
    - Disques en papier: 3 labos
    - Osiris: 1 labo
    - Disques en papier, lus avec le Sirscan: 1 labo
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 3 labos (également sur base d'autres techniques)
    - Neosensitabs (nouvelle charge), lus avec le Sirscan: 1 labo
    - Vitek 2: 14 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 7 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Microscan: 1 labo
  - o S→I
    - Osiris: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2: 8 labos
    - Vitek 2 compact: 4 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
  - o I→R
    - Disques en papier: 1 labo
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2: 6 labos (dont 2 également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 5 labos
    - ATB: 2 labos
    - Phoenix: 3 labos

- La céfépime:
  - o S→R
    - Disques en papier: 1 labo
    - Disques en papier, lus avec le Sirscan: 1 labo
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 2 labos (également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2: 5 labos
    - Vitek 2 compact: 7 labos
    - Microscan: 1 labo
  - o S→I
    - Disques en papier: 1 labo
    - Osiris: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Disques en papier, lus avec le Sirscan: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2: 28 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 20 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Phoenix: 1 labo
  - o I→R
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo
    - ATB: 1 labo
    - Phoenix: 1 labo
- Le méropénème:
  - o S→R
    - Disques en papier: 2 labos (également sur base 'autres techniques)
    - Osiris: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2: 3 labos
    - Vitek 2 compact: 5 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Phoenix: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
  - o S→I
    - Disques en papier: 1 labo
    - Osiris: 1 labo
    - Disques en papier, lus avec le Sirscan: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - MICE: 1 labo
    - Mic test Strip: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2: 7 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 6 labos (dont 2 également sur base d'autres techniques)
    - Phoenix: 1 labo

- I→R
  - Neosensitabs (nouvelle charge): 2 labos (également sur base d'autres techniques)
  - Vitek 2: 2 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
  - Vitek 2 compact: 1 labo
  - ATB: 1 labo
- L'imipénème:
  - I→R
    - E-test: 1 labo
- La ciprofloxacine:
  - S→R
    - Vitek 2: 1 labo
  - I→R
    - Disques en papier: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Osiris: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Disques en papier, lus avec le Sirscan: 1 labo
    - Vitek 2: 6 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 1 labo
- La lévofloxacine:
  - S→R
    - Disques en papier: 1 labo
    - Disques en papier, lus avec le Sirscan: 1 labo
    - Vitek 2: 5 labos
    - Vitek 2 compact: 4 labos (dont 2 également sur base d'autres techniques)
    - Phoenix: 5 labos
    - Microscan: 1 labo
  - I→R
    - Vitek 2: 1 labo
    - Vitek 2 compact: 1 labo
    - ATB: 1 labo

#### **4.2 Culture M/12961 *Enterobacter cloacae***

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 le résultat le plus résistant dans le tableau suivant (4.2.1) (à l'exception du méropème : voir tableau).

Un grand nombre de laboratoires ont donné des remarques (parfois étendues) pour clarifier leur réponse; pour des raisons de simplicité et de lisibilité nous avons regroupés ci-dessous ces remarques dans de grandes lignes:

- Présence de carbapénèmase, (probablement) VIM métallo-betalactamase: 13 labos
  - o 2 d'entre eux: + ESBL
  - o 1 d'entre eux: ESBL négatif
- Présence de carbapénèmase, probablement métallo-betalactamase: 23 labos
  - o 1 d'entre eux: ESBL négatif
- Présence de carbapénèmase, probablement KPC ou métallo-betalactamase: 1 labo
- Présence de carbapénèmase, probablement OXA-48: 5 labos
- Présence de carbapénèmase, non OXA-48 ou KPC: 1 labo
- (Suspicion de) présence de carbapénèmase: 55 labos
  - o 7 d'entre eux: + (suspicion de) ESBL
  - o 2 d'entre eux: ESBL négatif

**Tableau 4.2.1.** Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

<b>Antibiotique</b>	<b>Résultat attendu</b>	<b>Total</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>*</b>
Pipéracilline-tazobactame	R	147	-	-	147	-
Ceftazidime	R	149	-	1	148	-
Céfépime	R	143	-	15	128	-
Céfazoline <sup>1</sup>		1	-	-	1	-
Céfotaxime <sup>2</sup>		1	-	-	1	-
Ceftriaxone <sup>3</sup>		1	-	-	1	-
Céfuroxime <sup>1,2,3</sup>		3	-	-	3	-
Méropénème	R	154	3	22	124	5 <sup>4</sup>
Imipénème <sup>5</sup>		3	-	1	2	-
Ertapénème <sup>5,6</sup>		7	-	-	7	-
Témocilline	R	130	-	-	130	-
Ciprofloxacine	S	144	142	1	1	-
Lévofloxacine	S	71	69	1	1	-
Ofloxacine <sup>7</sup>		1	1	-	-	-
Norfloxacine <sup>7</sup>		1	1	-	-	-
Amikacine	S/I	130	67	53	10	-
Gentamicine <sup>8</sup>		3	-	1	2	-

<sup>1</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfazoline et à la céfuroxime.

<sup>2</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la céfotaxime et à la céfuroxime.

<sup>3</sup> Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la ceftazidime et à la céfépime également la sensibilité à la ceftriaxone et à la céfuroxime.

- <sup>4</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat brut (« S ») mais a répondu « suspicion de carbapénèmase » pour le résultat final. Quatre laboratoires ont obtenu le résultat « S » pour la diffusion sur disque et ont ensuite effectué une détermination de la CMI qui a donné le résultat « I »;
- <sup>5</sup> Trois laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'imipénème et à l'ertapénème.
- <sup>6</sup> Quatre laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité au méropénème également la sensibilité à l'ertapénème.
- <sup>7</sup> Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'ofloxacine et à la norfloxacine au lieu de la lévofloxacine.
- <sup>8</sup> Deux laboratoires ont en plus de la sensibilité à l'amikacine également la sensibilité à la gentamicine.  
Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine au lieu de l'amikacine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.13. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats des laboratoires ayant lu le diamètre des disques en papier manuellement sont repris dans le tableau 4.2.2. 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. **En cas de croissance jusqu'au bord du disque, vous devez mentionner le diamètre du disque (et pas « 0 »).**

Les résultats des laboratoires ayant utilisé les appareils Osiris, Adagio ou Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans les tableaux 4.2.3., 4.2.4 et 4.2.5. Etant donné le nombre limité de participants de l'Osiris pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

**Tableau 4.2.2.** Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(19)				-	-	19
	11	30 + 6	6	6 – 13	-	-	11
	8	100 + 10	8	6 – 9	-	-	8
Ceftazidime <sup>1</sup>	(19)				-	1	18
	8	10	6	6 – 6	-	-	8
	11	30	6	6 – 7	-	1	10
Céfépime	14 (14)	30	11.5	6 – 15	-	-	14
Méropénème	17 (17)	10	16	9 – 20	-	8	9
Imipénème	1 (1)	10	16	-	-	-	1
Ertapénème	2 (3)	10	18.5	18 – 19	-	-	3
Témocilline	17 (18)	30	6	6 – 10	-	-	18
Ciprofloxacine	18 (18)	5	31.5	23 – 38	18	-	-
Lévofloxacine	6 (6)	5	27.5	23 – 33	6	-	-
Amikacine	19 (19)	30	17	14 – 20	13	4	2

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques

**Tableau 4.2.3.** Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Ceftazidime	1	-	-	1
Céfépime	2	-	-	2
Méropénème	2	-	1	1
Témocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacine	2	2	-	-
Amikacine	2	2	-	-

**Tableau 4.2.4.** Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(6)				-	-	6
	2	30 + 6	6	6 – 6	-	-	2
	4	100 + 10	7.5	6 – 9	-	-	4
Ceftazidime <sup>1</sup>	(6)				-	-	6
	2	10	6	6 – 6	-	-	2
	4	30	6	6 – 6	-	-	4
Céfépime	6 (6)	30	11	10 – 14	-	-	6
Céfazoline	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Céfuroxime	1 (1)	30	6	-	-	-	1
Méropénème	5 (5)	10	15	12 – 17	-	-	5
Imipénème	1 (1)	10	14	-	-	-	1
Ertapénème	1 (1)	10	17	-	-	-	1
Témocilline	5 (5)	30	6	6 – 6	-	-	5
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	(4)				4	-	-
	3	5	32	30 – 35	3	-	-
	1	30	18	-	1	-	-
Lévofloxacine	2 (2)	5	28.5	25 – 32	2	-	-
Ofloxacine	1 (1)	5	27	-	1	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	30	-	1	-	-
Amikacine	6 (6)	30	17	15 – 22	4	2	-
Gentamicine	1 (1)	10	13	-	-	-	1

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques

**Tableau 4.2.5.** Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(6)				-	-	6
	5	30 + 6	10	6 – 12	-	-	5
	1	100 + 10	13	-	-	-	1
Ceftazidime <sup>1</sup>	(7)				-	-	7
	6	10	6	6 – 6	-	-	6
	1	30	6	-	-	-	1
Céfépime	7 (7)	30	14	6 – 16	-	1	6
Méropénème	6 (6)	10	17	14 – 19	1	2	3
Témocilline	6 (6)	30	6	6 – 9	-	-	6
Ciprofloxacine	5 (6) <sup>2</sup>	5	38	26 – 38	5	-	1
Lévofloxacine	1 (1)	5	36	-	1	-	-
Amikacine	6 (6)	30	18	16 – 18	5	1	-

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques

<sup>2</sup> Le laboratoire qui a répondu « R », a mentionné un diamètre de 5 mm.

Dans les tableaux 4.2.6. a et b nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les résultats obtenus par lecture manuelle. Uniquement pour les disques avec charge nouvelle (« new »), il y avait assez de participants pour déterminer de façon statistiquement significative les médianes, minima et maxima.

Le tableau 4.2.7. reprend les résultats des disques avec charge nouvelle, lus par le Sirscan.

Aucun laboratoire n'a lu les résultats des disques Neosensitabs avec charges classiques Neosensitabs (« old ») avec le Sirscan.

**Tableau 4.2.6a.** Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge classique Neosensitabs) pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	1	-	-	1
Témocilline	4	-	-	4
Lévofloxacine	1	-	1	-
Amikacine	1	-	-	1

**Tableau 4.2.6b.** Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactame <sup>1</sup>	(11)				-	-	11	-
	4 <sup>2</sup>	30 + 6	9	9 – 11	-	-	4	-
	6	100 + 10	10	9 – 12	-	-	6	-
Ceftazidime <sup>1</sup>	(12)				-	-	12	-
	4 <sup>3</sup>	10	9	9 – 11	-	-	4	-
	6 <sup>4</sup>	30	10	10 – 9	-	-	6	-
Céfépime	8 (10) <sup>5</sup>	30	12.5	9 – 15	-	-	10	-
Méropénème	9 (11) <sup>6</sup>	10	17	11 – 30	-	2	8	1 <sup>7</sup>
Témocilline	9 (11) <sup>8</sup>	30	9	9 – 11	-	-	11	-
Ciprofloxacine	10 (10)	5	31	20 – 37	9	1	-	-
Lévofloxacine	3 (3)	5	25	23 – 30	3	-	-	-
Amikacine	9 (11)	30	17	16 – 18	6	4	1	-

<sup>1</sup> Les laboratoires ont mentionné deux charges différentes pour ces antibiotiques.

<sup>2</sup> De plus, un laboratoire a mentionné un diamètre <9 mm (« R »).

<sup>3</sup> De plus, un laboratoire a mentionné un diamètre <9 mm (« R »).

<sup>4</sup> De plus, un laboratoire a mentionné un diamètre <10 mm (« R »).

<sup>5</sup> De plus, un laboratoire a mentionné un diamètre <9 mm (« R ») et un laboratoire un diamètre < 10 mm ("R").

<sup>6</sup> De plus, un laboratoire a mentionné un diamètre <10 mm (« R »).

<sup>7</sup> Un laboratoire a référé au résultat ("I") de la CMI qu'il a effectué.

<sup>8</sup> De plus, un laboratoire a mentionné un diamètre <9 mm (« R ») et un laboratoire a répondu un diamètre de « 0 ».

**Tableau 4.2.7** Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pipéracilline-tazobactame	3	-	-	3
Ceftazidime	2	-	-	2
Céfépime	2	-	-	2
Méropénème	3	1	2	-
Témocilline	2	-	-	2
Ciprofloxacine	1	1	-	-
Lévofloxacine	1	1	-	-
Amikacine	2	2	-	-

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau 4.2.8.

**Tableau 4.2.8.** Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre de laboratoires</b>	<b>Résultats</b>	<b>Valeur CMI (mg/L)</b>
Pipéracilline-tazobactame	4	4 x R	4 x ≥256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x R	≥256 mg/L
Céfépime	3	3 x R	32 mg/L; 48 mg/L; ≥256 mg/L
Méropénème	17	2 x S 4 x I 11 x R	1.5 mg/L; 2 mg/L 2 x 2 mg/L; 3 mg/L; 8 mg/L 8 mg/L; 12 mg/L; 16 mg/L; 8 x ≥32 mg/L
Imipénème	2	1 x I 1 x R	3 mg/L ≥32 mg/L
Ertapénème	2	2 x R	2 x ≥32 mg/L
Témocilline	13	13 x R	256 mg/L; 2 x 384 mg/L; 512 mg/L; 9 x ≥1024 mg/L
Ciprofloxacine	4	4 x S	0.012 mg/L; 0.016 mg/L; 2 x 0.25 mg/L
Lévofloxacine	2	2 x S	2 x 0.064 mg/L
Amikacine	2	2 x I	2 x 12 mg/L

Huit laboratoires ont utilisé le test MICE pour la détermination de la sensibilité à la pénicilline; les résultats sont repris dans le tableau 4.2.9.

**Tableau 4.2.9.** Résultats obtenus avec le test MICE pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre de laboratoires</b>	<b>Résultats</b>	<b>Valeur CMI (mg/L)</b>
Méropénème	8	1 x S 2 x I 4 x R 1 x suspicion de carbapénémase <sup>1</sup>	1 mg/L 3 mg/L; >4 mg/L 4 mg/L; 12 mg/L; 2 x >32 mg/L 2 mg/L

<sup>1</sup> Un laboratoire a bien donné une réponse pour le résultat brut (« S ») mais a répondu « suspicion de carbapénémase » pour le résultat final.

Les résultats obtenus avec le MIC test Strip sont repris dans le tableau 4.2.10.

**Tableau 4.2.10.** Résultats obtenus avec le MIC test Strip pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*).

<b>Antibiotique</b>	<b>Nombre de laboratoires</b>	<b>Résultats</b>	<b>Valeur CMI (mg/L)</b>
Méropénème	12	2 x S 4 x I 6 x R	0.5 mg/L; 1.5 mg/L 0.5 mg/L; 2 mg/L; 2 x 3 mg/L 24 mg/L; 5x ≥32 mg/L
Ertapénème	1	1 x R	1 mg/L

Les résultats obtenus avec le Vitek sont repris dans le tableau 4.2.11.

**Tableau 4.2.11.** Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	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			S	I	R		
Pipéracilline-tazobactame	-	-	54	≥128	54 (54)	-	-	36	≥128	36 (36)
Ceftazidime	-	-	56	≥64	55 (56)	-	-	36	≥64	36 (36)
Céfépime	-	8	47	16	30 (55)	-	6	29	16	23 (35)
Céfotaxime	-	-	-	-	-	-	-	1	≥64	1 (1)
Céfuroxime	-	-	-	-	-	-	-	1	≥64	1 (1)
Méropénème	-	1	51	≥16	52 (52)	-	-	30	≥16	30 (30)
Ertapénème	-	-	-	-	-	-	-	1	4	1 (1)
Témocilline	-	-	42	≥32	42 (42)	-	-	26	≥32	26 (26)
Ciprofloxacine	54	-	-	≤0.25	54 (54)	34	-	-	≤0.25	33 (34)
Lévofloxacine	31	1	1	1	13 (31)	22	-	-	1	9 (22)
Amikacine	12	28	3	16	36 (43)	9	18	2	16	24 (29)
Gentamicine	-	-	1	8	1 (1)	-	1	-	4	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 ceftazidime, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥32 mg/L pour le Vitek 2
- pour la céfépime, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 4 mg/L, 4 laboratoires une CMI de 32 mg/L et 20 laboratoires une CMI ≥64 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI de 32 mg/L et 11 laboratoires une CMI ≥64 mg/L
- pour la ciprofloxacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.5 mg/L pour le Vitek 2
- pour la lévofloxacine, 11 laboratoires ont mentionné une CMI ≤0.12 mg/L, 3 laboratoires une CMI ≤0.25 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 0.5 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 8 laboratoires ont mentionné une CMI ≤0.12 mg/L et 5 laboratoires une CMI de 0.5 mg/L
- pour l'amikacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI de 4 mg/L, 4 laboratoires une CMI de 8 mg/L et 2 laboratoires une CMI de 32 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI de 4 mg/L, 1 laboratoire une CMI de 8 mg/L et 3 laboratoires une CMI de 32 mg/L

Trois laboratoires ont utilisé la méthode ATB pour la détermination de la sensibilité : les résultats sont repris dans le tableau 4.2.12.

**Tableau 4.2.12** R Résultats obtenus avec la méthode ATB pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

<i>Antibiotique</i>	<i>Nombre d'utilisateurs</i>	<i>Résultat</i>		
		<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Pipéracilline-tazobactame	2	-	-	2
Ceftazidime	2	-	-	2
Céfépime	2	-	-	2
Méropénème	2	-	-	2
Ciprofloxacine	2	2	-	-
Lévofloxacine	2	1	-	1
Amikacine	2	1	-	1

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.2.13.

**Tableau 4.2.13.** Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/12961 (*Enterobacter cloacae*)

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>			<i>Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)</i>	<i>Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)</i>
	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>		
Pipéracilline-tazobactame	-	-	18	≥16/4	17 (18)
Ceftazidime	-	-	17	>8	16 (17)
Céfépime	-	-	18	>8	18 (18)
Ceftriaxone	-	-	1	>4	1 (1)
Céfuroxime	-	-	1	>8	1 (1)
Méropénème	-	5	12	>8	10 (17)
Témocilline	-	-	12	>32	12 (12)
Ciprofloxacine	18	-	-	≤0.25	17 (18)
Lévofloxacine	2	-	-	≤0.5	2 (2)
Amikacine	17	1	-	8	18 (18)

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 pipéracilline-tazobactame, 1 laboratoire a mentionné une CMI >64 mg/L
- pour la ceftazidime, 1 laboratoire a mentionné une CMI >16 mg/L
- pour le méropénème, 7 laboratoires ont mentionné une CMI de 8 mg/L
- pour la ciprofloxacine, 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.125 mg/L

Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité: les 2 ont obtenu un résultat « R » pour la pipéracilline-tazobactame, la ceftazidime et la céfépime et un résultat « S » pour la ciprofloxacine, la lévofloxacine et l'amikacine; pour le méropénème un laboratoire a obtenu le résultat « I » et l'autre le résultat « R ».

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Certains laboratoires ont effectué ces modifications en se basant sur l'utilisation de différentes méthodes:

- La céfépime:
  - o I→R
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo (également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2: 7 labos (dont 2 également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 3 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
- Méropénème:
  - o S→I
    - E-test: 1 labo
    - MICE: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
  - o I→R
    - Neosensitabs (nouvelle charge): 2 labos (également sur base d'autres techniques)
    - Phoenix: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
  - o R→I
    - Vitek 2: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
- Amikacine:
  - o S→I
    - Vitek 2: 8 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Vitek 2 compact: 4 labos (dont 1 également sur base d'autres techniques)
    - Phoenix: 1 labo (également sur base d'autres techniques)
  - o I→R
    - Disques en papier: 1 labo
    - Vitek 2: 1 labo
- Gentamicine:
  - o I→R
    - Vitek 2: 1 labo

### **5.1 Les échantillons**

A l'occasion de cette enquête 2 frottis de sang ont été envoyés.

162 laboratoires ont participé à l'enquête.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 91.4%. 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,...

Si vous souhaitez répondre plusieurs stades d'évolution d'un même parasite pour un échantillon, vous pouvez introduire ce même parasite 2 (ou 3) fois par échantillon avec chaque fois un autre stade d'évolution.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/12582

Un homme est allé il y a 8 semaines en république démocratique du Congo. Il a de la fièvre tous les 2 jours depuis une semaine. Il n'a pas de diarrhée ni de toux.

P/12688

Une femme de 58 ans a fait un voyage au Mali. Elle n'a pas pris de prophylaxie. Quelques jours après son voyage elle développe une fièvre plutôt modérée. Elle ne se sent pas trop malade.

L'échantillon P/12582 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium ovale*.

L'échantillon P/ P/12688 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.

Les résultats des 2 échantillons été confirmés par PCR.

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<sup>e</sup> échantillon.

## **5.2 Echantillon P/12582**

161 laboratoires ont envoyé une réponse : ils ont identifié 162 parasites. 160 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 1 laboratoire a répondu la présence de 2 parasites. Nous rappelons que si vous n'avez pas observé de parasites, il faut répondre « Absence de parasites » et ne pas laisser la réponse ouverte.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

**Tableau 5.2.1** Résultats pour l'échantillon P/12582

<b>Résultat</b>	<b>Nombre</b>
<i>Plasmodium ovale</i>	84
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	48
<i>Plasmodium species</i>	1
<i>Plasmodium vivax</i>	20
<i>Plasmodium malariae</i>	3
<i>Plasmodium falciparum</i>	6
<b>Total</b>	<b>162</b>

Le laboratoire qui a répondu la présence de 2 parasites, a mentionné « *P. ovale* + *P. vivax* ».

Plusieurs laboratoires (avec différentes réponses) ont mentionné rechercher en routine également l'antigène.

Deux laboratoires qui ont répondu *P. ovale*, ont mentionné qu'en routine ils répondraient *Plasmodium non-falciparum*; un laboratoire qui a répondu *P. ovale*, a mentionné dans une remarque « *P. ovale* of *P. vivax* ».

Deux laboratoires qui ont répondu *Plasmodium non-falciparum*, ont mentionné qu'il s'agit probablement de *P. ovale*; deux ont mentionné qu'il s'agit de *P. ovale* ou *P. vivax* et un qu'il s'agit de *P. malariae*, *P. ovale* ou les deux.

Un certain nombre de laboratoires ont eu des problèmes à obtenir une coloration optimale.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium ovale* sont repris dans le tableau 5.2.2. 62 laboratoires ont répondu un stade d'évolution, 19 laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution et 3 laboratoires trois stades d'évolution

Les combinaisons des stades d'évolution sont reprises dans le tableau 5.2.3.

**Tableau 5.2.2** Stades d'évolution de *Plasmodium ovale* pour l'échantillon P/12582

<b>Stade d'évolution</b>	<b>Nombre</b>
Trophozoïte	80
Schizonte	22
Gamétocyte	7
<b>Total</b>	<b>109</b>

**Tableau 5.2.3** Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium ovale* pour l'échantillon P/12582

<b>Nombre de stades</b>	<b>Stades d'évolution</b>	<b>N</b>
1 stade d'évolution	Trophozoïte	58
	Schizonte	4
2 stades d'évolution	Trophozoïte + schizonte	15
	Trophozoïte + gamétocyte	4
3 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte	3
<b>Total</b>		<b>84</b>

Un laboratoire a mentionné la présence de 1 à 2 schizontes par lame. Pour les autres laboratoires le tableau 5.2.4. montre le nombre de parasites par stade d'évolution.

**Tableau 5.2.4** Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium ovale* pour l'échantillon P/12582

<b>%</b>	<b>Nombre labos</b>		
	<b>Trophozoïte</b>	<b>Gamétocyte</b>	<b>Schizonte</b>
<1	36	7	17
1	15		2
1 à 2	10		
2	5		2
2 à 3	2		
3 à 4	2		
4	1		
5	3		
6	1		
8	1		
5 à 10	2		
10	2		

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium non-falciparum* sont repris dans le tableau 5.2.5. 39 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution (trophozoïte) et 9 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution (6 trophozoïte + schizonte et 3 trophozoïte + gamétocyte).

**Tableau 5.2.5** Stades d'évolution de *Plasmodium non-falciparum* pour l'échantillon P/12582

<b>Stade d'évolution</b>	<b>Nombre</b>
Trophozoïte	48
Schizonte	6
Gamétocyte	3
<b>Total</b>	<b>57</b>

Un laboratoire a mentionné la présence de 1 gamétocyte par lame. Pour les autres laboratoires le tableau 5.2.6. montre le nombre de parasites par stade d'évolution.

**Tableau 5.2.6** Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/12582

%o	Nombre labos		
	Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte
<1	24	2	4
1	10		
1 à 2	6		
2	2		1
2 à 3			1
3	2		
5	1		
7	2		
5 à 10	1		

102 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification : 46 laboratoires ayant répondu *P. ovale*, 39 laboratoires ayant répondu *Plasmodium* non-falciparum, 10 laboratoires ayant répondu *P. vivax*, 4 laboratoires ayant répondu *P. falciparum*, 1 laboratoire ayant répondu *P. malariae*, 1 laboratoire ayant répondu *P. ovale* + *P. vivax* et le laboratoire qui avait laissé ouverte la réponse.

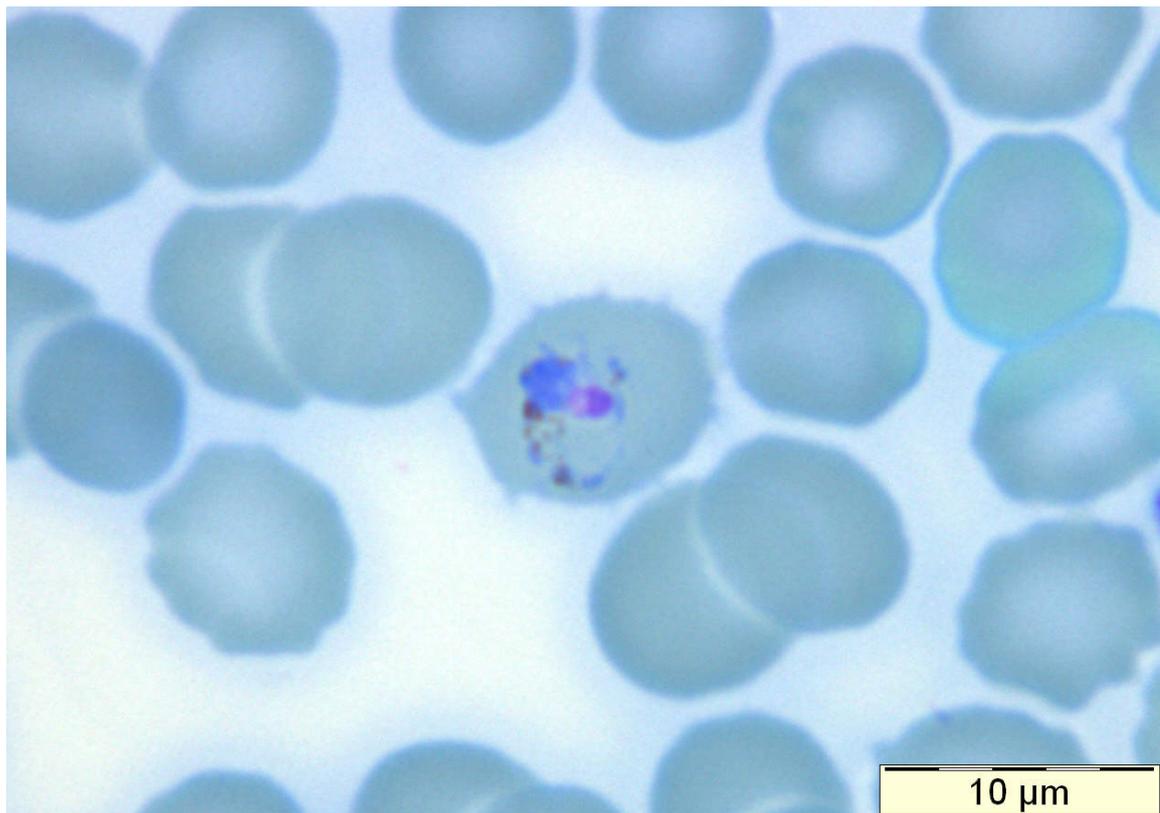


Figure 5.1. P/12582 *P. ovale* (fimbriated Red Blood cell)

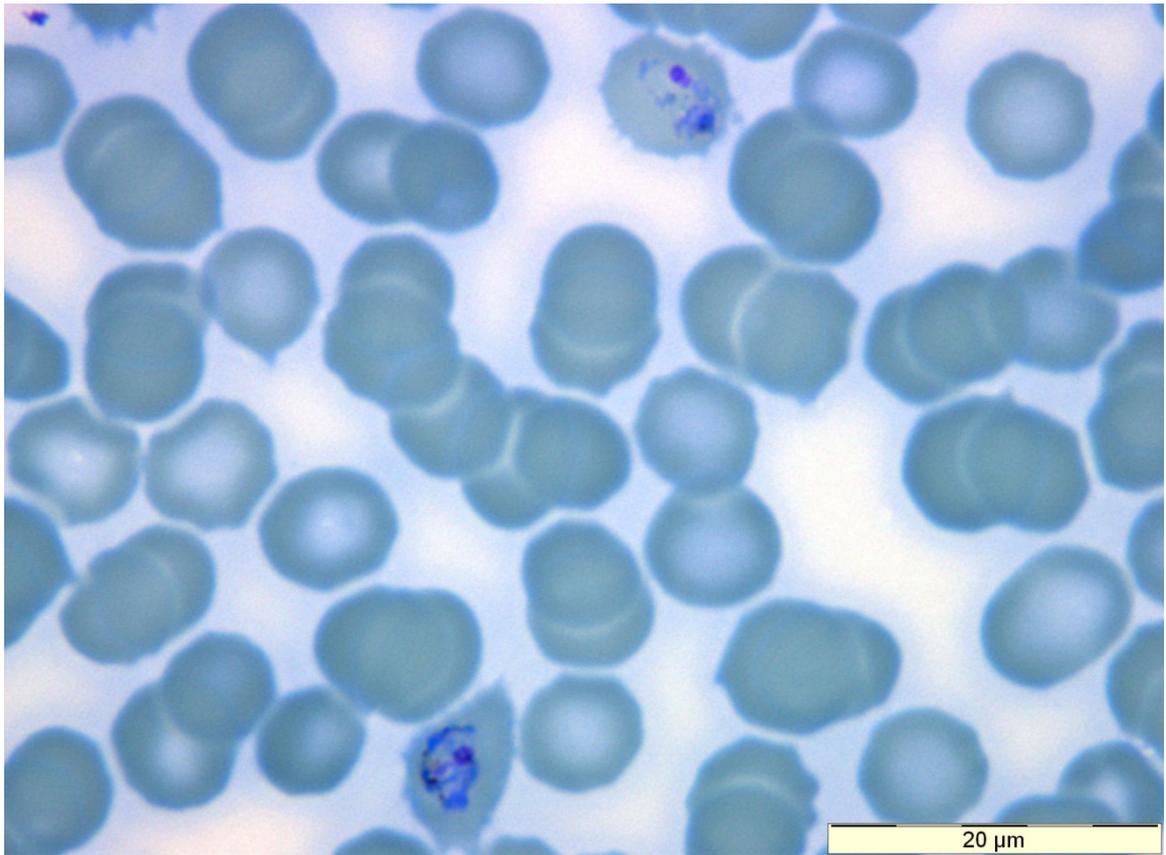


Figure 5.2. P/12582 *P. ovale*

### **5.3 Echantillon P/12688**

Les 162 laboratoires ont fourni 164 réponses. Trois laboratoires ont répondu « Absence de parasites », 157 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 2 laboratoires la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

**Tableau 5.3.1** Résultats pour l'échantillon P/12688

<b>Résultat</b>	<b>Nombre</b>
<i>Plasmodium falciparum</i>	151
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	3
<i>Plasmodium vivax</i>	3
<i>Plasmodium malariae</i>	2
<i>Babesia species</i>	2
Absence de parasites	3
<b>Total</b>	<b>164</b>

Les laboratoires qui ont mentionné la combinaison de 2 parasites, ont répondu respectivement « *P. falciparum* + *P. malariae* » et « *P. falciparum* + *P. vivax* ».

Pour les laboratoires qui ont répondu *P. falciparum*:

- 4 ont mentionné effectuer la recherche de l'antigène et d'envoyer l'échantillon au centre de référence
- 3 ont mentionné effectuer la recherche de l'antigène
- 2 ont mentionné explicitement envoyer l'échantillon au centre de référence pour cause de la faible parasitémie
- 3 autres ont mentionné également la présence d'une faible parasitémie
- 1 a mentionné qu'il est impossible d'exclure une infection mixte

Un des laboratoires qui ont répondu *Babesia species*, a mentionné effectuer la recherche de l'antigène pour exclure un *Plasmodium*. Un des laboratoires qui a répondu « absence », a mentionné qu'une goutte épaisse est nécessaire (entre autre parce qu'ils ont eu des problèmes à obtenir une coloration correcte).

Un certain nombre de laboratoires ont eu des problèmes à obtenir une coloration optimale.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium falciparum* sont repris dans le tableau 5.3.2. 146 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution et 6 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution. Les combinaisons des stades d'évolution sont reprises dans le tableau 5.3.3.

**Tableau 5.3.2** Stades d'évolution de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/12688

<b>Stade d'évolution</b>	<b>Nombre</b>
Trophozoïte	150
Gamétocyte	4
Schizonte	2
<b>Total</b>	<b>156</b>

**Tableau 5.3.3** Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/12688

<b>Nombre de stade d'évolution</b>	<b>Stade d'évolution</b>	<b>Nombre</b>
1 stade d'évolution	Trophozoïte	145
	Schizonte	1
2 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte	4
	Trophozoïte + schizonte	1
<b>Total</b>		<b>151</b>

Un laboratoire a mentionné la présence de 2 trophozoïtes par lame, un la présence de 5 à 10 trophozoïtes par lame et un la présence de 10 trophozoïtes par lame. Pour les autres laboratoires le tableau 5.3.4. montre le nombre de parasites par stade d'évolution.

**Tableau 5.2.4** Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/12688

%o	<b>Nombre labos</b>		
	<b>Trophozoïte</b>	<b>Gamétocyte</b>	<b>Schizonte</b>
<1	49	2	1
1	26	2	
1 à 2	25		
2	10		
2 à 3	13		
3	6		
3 à 4	2		
4	5		
5	3		
6	1		
7	3		
8	1		1
5 à 10	1		
10	2		

92 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification: 84 laboratoires ayant répondu *P. falciparum*, 3 laboratoires ayant répondu *P. non-falciparum*, 1 laboratoire ayant répondu *P. vivax*, 1 laboratoire ayant répondu *P. falciparum* + *P. malariae*, 2 laboratoires ayant répondu *Babesia* species et 1 laboratoire ayant répondu « absence » (il s'agit du laboratoire mentionné plus haut, qui demanderait également la goutte épaisse).

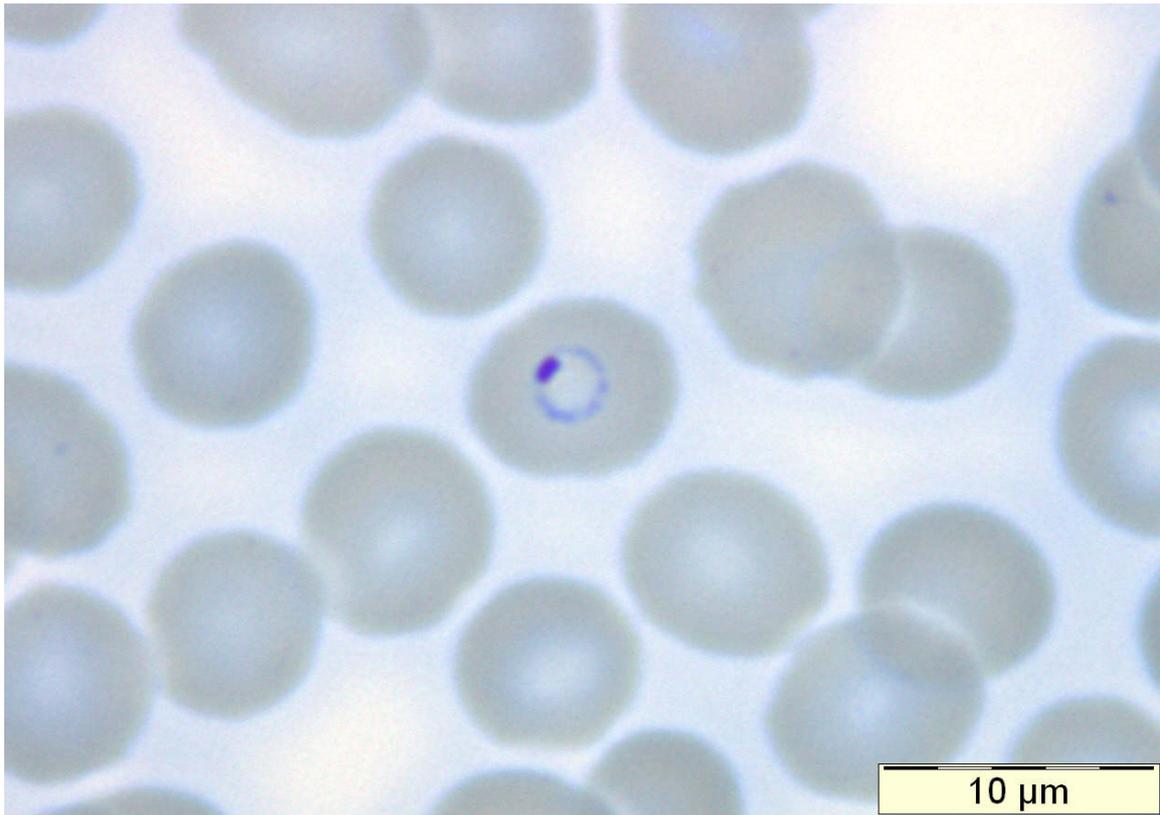


Figure 5.3. P/12688 *P. falciparum*

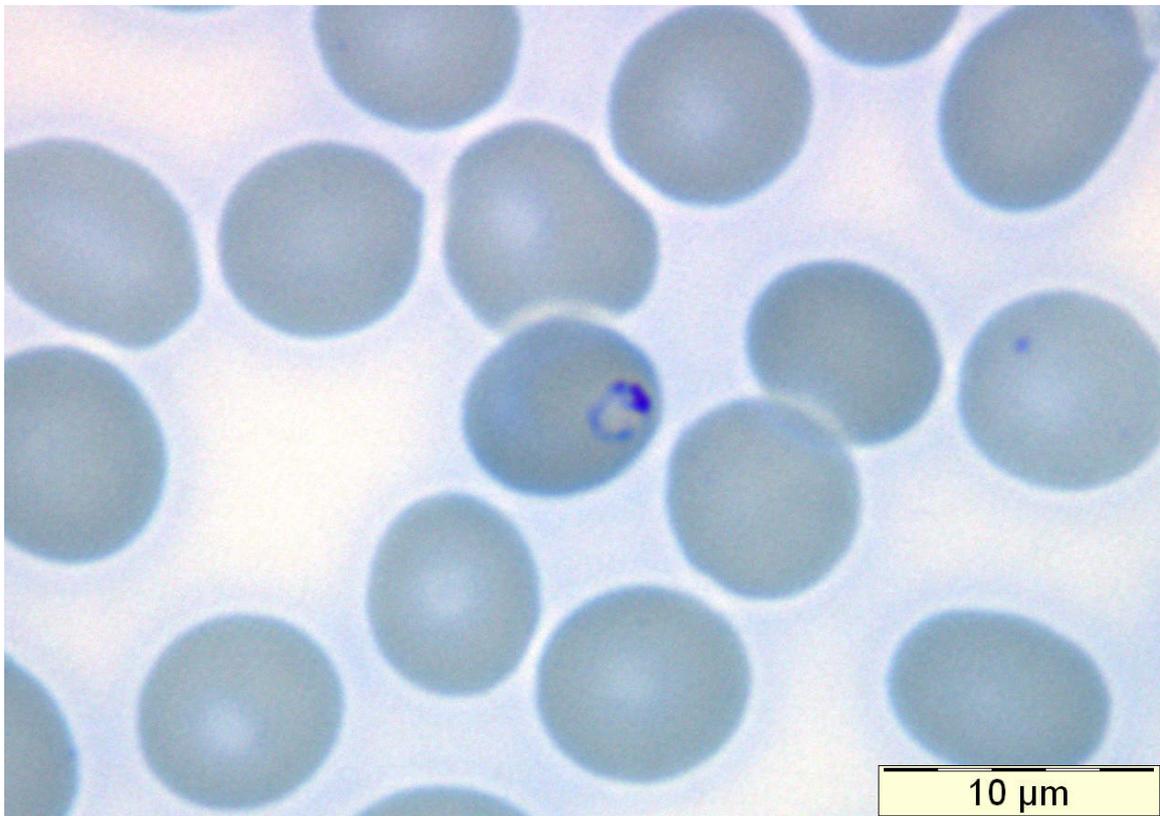


Figure 5.4. P/12688 *P. falciparum*

## **5.4 Commentaire**

En analogie avec les enquêtes précédentes contenant les parasites dans le sang, les tableaux 1 et 2 reprennent la division en résultats corrects et erreurs *majeures* et *mineures* où i) ne pas trouver un *P. falciparum* ou de le répondre erronément et ii) répondre *Plasmodium* species sans s'être exprimé sur la présence ou l'absence d'un *P. falciparum* sont considérés comme « erreurs majeures ». La raison est que le traitement d'une infection à *P. falciparum* est différent de celui d'une infection à *P. non-falciparum*.

Comme plusieurs laboratoires l'ont mentionné, en routine on peut disposer des résultats du test d'Ag pour guider la réponse, à condition que la parasitémie soit suffisamment élevée. Les évaluations ci-dessus ne concernent que le résultat microscopique.

**Tableau 1** Evaluation des résultats pour l'échantillon P/12582

<b>Groupe</b>	<b>Réponse</b>	<b>Commentaire</b>	<b>Score (n, %)</b>
Groupe I	<i>P. ovale</i>	Correct	83 (51.6%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , probablement <i>P. ovale</i>		2 (1.2%)
Groupe II	<i>Plasmodium non-falciparum</i>	Erreur mineure Acceptable	43 (26.7%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , <i>P. ovale</i> ou <i>P. vivax</i>		2 (1.2%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , <i>P. ovale</i> et/ou <i>P. malariae</i>		1 (0.6%)
	<i>P. vivax</i>		19 (11.8%)
	<i>P. malariae</i>		3 (1.9%)
	<i>P. ovale</i> + <i>P. vivax</i>		1 (0.6%)
Groupe III	<i>P. falciparum</i>	Erreur majeure*	6 (3.7%)
	<i>Plasmodium</i> species		1 (0.6%)

**Tableau 2** Evaluation des résultats pour l'échantillon P/12688

Groupe	Réponse	Commentaire	Score (n, %)
Groupe I	<i>P. falciparum</i>	Correct	149 (92.0%)
Groupe II	<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	Erreur mineure Acceptable	1 (0.6%)
	<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>		1 (0.6%)
Groupe III	<i>Plasmodium non-falciparum</i>	Erreur majeure*	3 (1.9%)
	<i>P. vivax</i>		2 (1.2%)
	<i>P. malariae</i>		1 (0.6%)
	<i>Babesia sp.</i>		2 (1.2%)
	Absence de parasites		3 (1.9%)

La distribution de la parasitémie des 2 échantillons est reprise dans les figures 1 et 2. Nous ne montrons que la parasitémie des trophozoïtes et pour le calcul de la moyenne <1‰ a été égalisé à 0.5‰, 1 à 2‰ égalisé à 1.5‰ etc Le centre de référence (l'IMT) a rapporté pour les 2 échantillons une (ITG) parasitémie de <1 parasite asexué /1000 globules rouges (<1‰).

Il y a une grande dispersion dans la parasitémie. Nous conseillons aux laboratoires ayant répondu une parasitémie loin au-dessus de la moyenne et de la médiane de revoir leur comptage. La manière pour ce faire est expliquée dans le rapport de l'EEQ 2007/3 (p.. 55-56).

Une estimation correcte de la parasitémie est surtout d'une grande importance pour *P. falciparum* parce que la parasitémie est un de critères sur lequel on se base pour décider si un patient est admis à l'hôpital.

Figure 1. Distribution de la parasitémie pour l'échantillon P/12582.

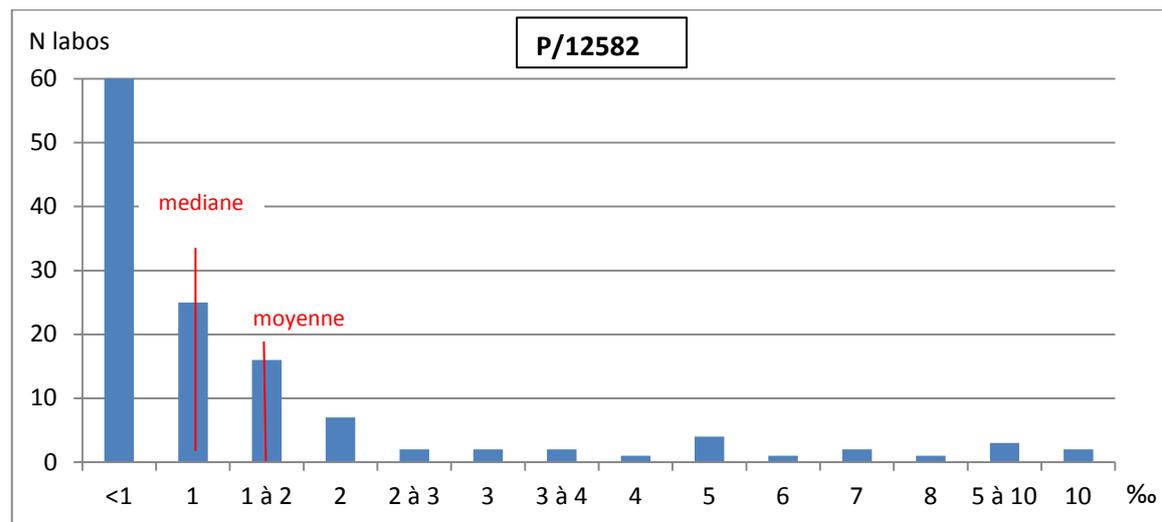
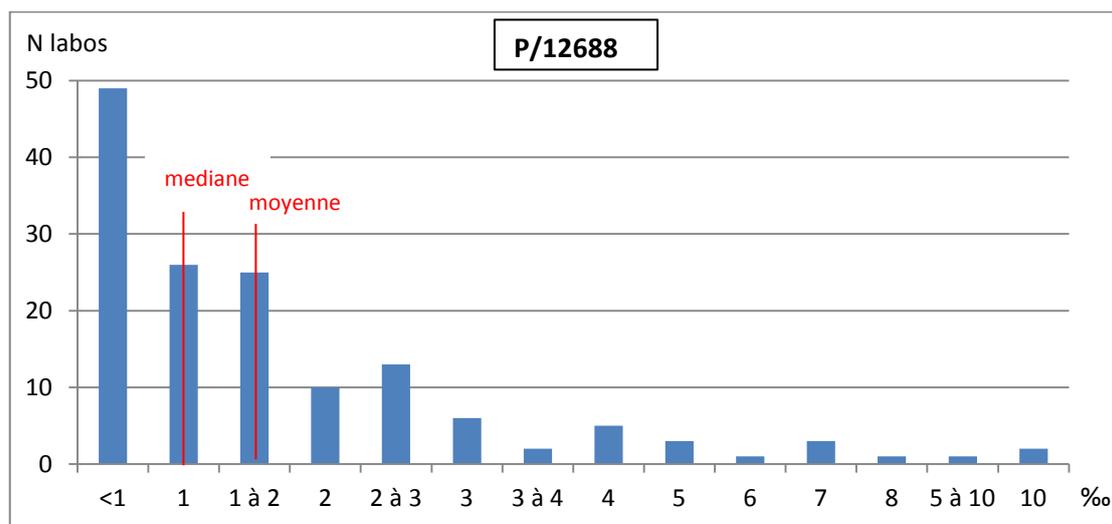


Figure 2 Distribution de la parasitémie pour l'échantillon P/12688.



Sur les 161 laboratoires qui ont envoyé une réponse pour l'échantillon P/12582, 3 laboratoires avec une erreur *majeure* et 18 laboratoires avec une erreur *mineure* n'enverraient pas l'échantillon au laboratoire de référence. Pour l'échantillon P/12688 5 laboratoires des 161 ne l'enverraient pas dont 4 avec une erreur *majeure* et 1 avec une erreur *mineure*. Nous encourageons les laboratoires à accepter l'offre du laboratoire de référence pour confirmer les résultats de malaria. Les résultats des échantillons qui arrivent avant 16h15 au laboratoire, sont rendus le même jour. La PCR est effectuée une fois par semaine en batch. Idéalement il faut envoyer une goutte épaisse –de préférence- non-colorée et un frottis, faits à partir de sang frais et 1 ml de sang prélevé sur EDTA.

### **6.1 Sérologie de l'hépatite B**

#### *6.1.1 Les échantillons*

Deux échantillons ont été envoyés: l'échantillon S/4033 était lyophilisé et l'échantillon S/5635 était « prêt-à-l'emploi » (échantillon liquide).

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

« Deux jeunes hommes ont entrepris un voyage "aventureux" au Brésil, où ils ont eu de multiples contacts avec la population locale. Deux semaines après leur retour ils se présentent chez leur médecin généraliste. Tous les deux ont des signes cliniques de jaunisse et les examens de laboratoire montrent des tests hépatiques anormaux. »

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/4033:

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

S/5635:

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

### 6.1.2. Les participants

154 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont réalisé la sérologie de l'hépatite B. 148 (96.1%) d'entre eux ont répondu par voie électronique ((toolkit).

Pour l'échantillon S/4033, les 154 laboratoires ont effectué 677 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs:	163 tests
- Ag HBs confirmation:	11 tests
- Ac anti-HBs:	152 tests
- Ac anti-HBc totaux:	153 tests
- IgM anti-HBc:	7 tests
- Ag HBe:	97 tests
- Ac anti-HBe:	94 tests

Un laboratoire a effectué 1 test, 3 laboratoires 2 tests, 47 laboratoires 3 tests, 7 laboratoires 4 tests, 82 laboratoires 5 tests, 8 laboratoires 6 tests, 5 laboratoires 7 tests et un laboratoire 8 tests.

Pour l'échantillon S/5635, les 154 laboratoires ont effectué 629 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs:	157 tests
- Ag HBs confirmation:	1 test
- Ac anti-HBs:	152 tests
- Ac anti-HBc totaux:	152 tests
- IgM anti-HBc:	2 tests
- Ag HBe:	84 tests
- Ac anti-HBe:	81 tests

Deux laboratoires ont effectué 1 test, 1 laboratoire 2 tests, 66 laboratoires 3 tests, 4 laboratoires 4 tests, 78 laboratoires 5 tests, 1 laboratoire 6 tests, 1 laboratoire 7 tests et 1 laboratoire 8 tests.

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

**Tableau 6.1.1** Combinaison de tests pour la sérologie HBV

<i>Paramètres effectués</i>		<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
1 test	Ag HBs	1	2
2 tests	Ag HBs + Ac HBs	1	-
	Ag HBs + Ac HBc	1	1
	Ag HBs + Ag HBs conf.	1	-
3 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc	46	64
	Ag HBs + Ac HBs + IgM HBc	1	2
4 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe	3	3
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBs conf.	4	1
5 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	80	78
	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + IgM HBc + Ag HBs conf.	1	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + 2 Ac HBc	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.	1	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	5	1
7 tests	Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + Ag HBs conf. + IgM HBc	3	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe + Ag HBs conf.	1	-
	2 Ag HBs + Ac HBs + 2 Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	1	1
8 tests	2 Ag HBs + 2 Ac HBs + 2 Ac HBc + Ag HBe + Ac HBe	1	1
<b>Total</b>		<b>154</b>	<b>154</b>

### 6.1.3 Réactifs utilisés

Les tableaux 6.1.2. à 6.1.8. illustrent le nombre d'utilisateurs des différentes trousse pour les différents paramètres. Tous les laboratoires n'ont pas analysé tous les paramètres.

**Tableau 6.1.2** Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBs

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect HBsAg Qualitative II	39	39
	Prism HBsAg	1	1
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl HBsAg V3	7	7
	Access HBsAg	4	4
bioMérieux	VIDAS HBs Ag Ultra	17	12
	Hepanostika HBsAg ultra	1	-
Diasorin	LIAISON XL Murex HBsAg Quant	9	9
	LIAISON HBsAg	4	4
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg	8	8
	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg ES	1	1
Roche	Cobas HBsAg II	32	32
	Modular HBsAg II	11	11
	Elecsys HBsAg II	5	5
	Cobas HBsAg	3	3
	Modular HBsAg	1	1
	Elecsys HBsAg	1	1
Siemens	ADVIA Centaur HBsAg II	14	14
	Immulinite HBs Ag	4	4
	Enzygnost HBsAg 6.0	1	1
<b>Total</b>		<b>163</b>	<b>157</b>

**Tableau 6.1.3** Réactifs utilisés pour la confirmation de l'antigène HBs

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect HBsAg Confirmatory	4	1
Diasorin	LIAISON HBsAg Confirmatory test	1	-
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg confirmatory	1	-
Roche	Cobas HBsAg Confirmatory	2	-
	Elecsys HBsAg Confirmatory	1	-
Siemens	ADVIA Centaur HBsAg Confirmatory	1	-
	Enzygnost HBsAg Confirmatory test	1	-
<b>Total</b>		<b>11</b>	<b>1</b>

**Tableau 6.1.4** Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBs

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBs	39	39
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl HBsAb	7	7
	Access HBsAb	4	4
bioMérieux	VIDAS Anti-HBs Total II	9	9
Diasorin	LIAISON anti-HBs II	6	6
	LIAISON anti-HBs	4	4
	LIAISON anti-HBs PLUS	2	2
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBs	8	8
Roche	Cobas anti-HBs	35	35
	Modular anti-HBs	12	12
	Elecsys anti-HBs	7	7
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBs 2	13	14
	Immulite anti-HBs	5	5
	Enzygnost anti HBs II	1	-
<b>Total</b>		<b>152</b>	<b>152</b>

**Tableau 6.1.5** Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBc

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBc II	40	40
Beckman (distributeur Analis)	Unicel Dxl HBcAb	7	7
	Access HBcAb	4	4
bioMérieux	VIDAS anti-HBc Total II	14	13
Diasorin	LIAISON anti-HBc	11	11
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc	9	9
Roche	Cobas anti-HBc	33	33
	Modular anti-HBc	12	12
	Elecsys anti-HBc	6	6
Siemens	ADVIA Centaur HBc Total	13	13
	Immulite anti-HBc	4	4
<b>Total</b>		<b>153</b>	<b>152</b>

**Tableau 6.1.6** Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-HBc

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBc IgM	2	-
bioMérieux	VIDAS HBc IgM II	2	2
Diasorin	LIAISON HBc IgM	1	-
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc IgM	2	-
<b>Total</b>		<b>7</b>	<b>2</b>

**Tableau 6.1.7** Réactifs utilisés pour la détermination de l'antigène HBe

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect HBeAg	22	16
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	36	31
Diasorin	LIAISON HBeAg	9	8
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products HBeAg	3	3
Roche	Cobas HBeAg	12	11
	Modular HBeAg	3	3
	Elecsys HBeAg	3	3
Siemens	ADVIA Centaur HBeAg	9	9
<b>Total</b>		<b>97</b>	<b>84</b>

**Tableau 6.1.8** Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps anti-HBe

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>S/4033</i>	<i>S/5635</i>
Abbott	Architect anti-HBe	21	15
	AxSYM anti-HBe 2.0	1	1
bioMérieux	VIDAS HBe/Anti HBe	33	28
Diasorin	LIAISON anti-HBe	9	8
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBe	3	3
Roche	Cobas anti-HBe	12	11
	Modular anti-HBe	3	3
	Elecsys anti-HBe	3	3
Siemens	ADVIA Centaur anti-HBe	9	9
<b>Total</b>		<b>94</b>	<b>81</b>

## 6.1.4 Résultats

### L'échantillon S/4033

Les résultats obtenus pour les différents paramètres pour l'échantillon S/4033 sont présentés dans le tableau 6.1.9.

**Tableau 6.1.9** Résultats pour l'échantillon S/4033

	Ag HBs <sup>1</sup>	Ag HBs conf.	Ac HBs <sup>2</sup>	Ac Tot Hbc <sup>1</sup>	IgM HBc	Ag HBe	Ac HBe
Positif	154	11	-	150	-	1	93
Borderline	-	-	3	-	-	-	-
Négatif	-	-	148	-	7	96	1
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>11</b>	<b>151</b>	<b>150</b>	<b>7</b>	<b>97</b>	<b>94</b>

<sup>1</sup> Les laboratoires ayant déterminé les Ag HBs et Ac HBe avec 2 méthodes, ont obtenu des résultats positifs pour tous ces paramètres avec les 2 méthodes.

<sup>2</sup> Le laboratoire ayant déterminé les Ac HBs avec 2 méthodes, a obtenu un résultat négatif avec les 2 méthodes.

Le laboratoire ayant répondu positif pour l'Ag Hbe et négatif pour les Ac Hbe a probablement inversé les échantillons.

Pour les trousse avec un nombre suffisant de participants (N ≥6) nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand un résultat quantitatif était mentionné) (tableaux 6.1.10. à 6.1.12).

Pour les autres trousse, le nombre d'utilisateurs ou de résultats quantitatifs étaient insuffisants pour effectuer des analyses statistiques adéquates.

**Tableau 6.1.10** Médiane, minimum et maximum pour l'Ag HBs (échantillon S/4033)

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off
Architect HBsAg Qualitative (index s/co)	39	2634.0	2407.9	2893.0	≥ 1.0
Unicel Dxl HbsAg V3 (index s/co)	7	568.8	528.7	653.5	≥ 1.0
VIDAS HBs Ag Ultra (test value)	16	17.17	7.64	21.58	≥ 1.0
LIAISON XL Murex HBsAg Quant (IU/mL)	9	53	42	64	≥ 0.05
Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg (index S/co)	8	1955	1820	2090	≥ 0.90
Cobas HBsAg II (index s/co)	32	1687	1487	2000	≥ 1.0
Modular HBsAg II (index s/co)	11	1601	1449	1920	≥ 1.0

Pour l'ADVIA Centaur 13 laboratoires ont répondu un index >1000 et un laboratoire un index >250.

**Tableau 6.1.11** Médiane, minimum et maximum pour les Ac totaux anti-HBc (échantillon S/4033)

<i>Trousse (unité)</i>	<i>N labos</i>	<i>Médiane</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Architect anti-HBc II (index s/co) <sup>1</sup>	39	11.80	9.82	15.12	≥ 1.0
Unicel Dxl HBc Ab (index s/co)	7	182.00	133.81	228.37	≥ 1.0

<sup>1</sup> En outre un laboratoire a répondu un s/co de 1.94

Il reste à mentionner que:

- pour le VIDAS Anti-HBc Total II 13 laboratoires ont répondu une valeur test égale à 0
- pour le Liaison anti-HBc 10 laboratoires ont répondu un index <0.10
- pour le Vitros Immunodiagnostic Products anti-HBc 1 laboratoire a répondu un index égal à 0, 7 laboratoires un index de 0.01 et 1 laboratoire un index de 0.02
- pour le Cobas anti-HBc 7 laboratoires ont répondu un index égal à 0, 1 laboratoire un index de 0.0004, 19 laboratoires un index de 0.004, 4 laboratoires un index de 0.005, 1 laboratoire un index de 0.05 et 1 laboratoire un index de 250
- pour l'Elecsys anti-HBc 1 laboratoire a répondu un index égal à 0, 4 laboratoires un index de 0.004 et 1 laboratoire un index de 0.005
- pour le Modular anti-HBc 7 laboratoires ont répondu un index de 0.004, 2 laboratoires un index de 0.005, 1 laboratoire un index de 0.04 et 1 laboratoire un index <0.10
- pour l'ADVIA Centaur HBc Total 13 laboratoires ont répondu un index >8

**Tableau 6.1.12** Médiane, minimum et maximum pour l'Ac Hbe (échantillon S/4033)

<i>Trousse (unité)</i>	<i>N labos</i>	<i>Médiane</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Architect anti-HBe (index s/co)	21	0.01	0.01	0.03	Les échantillons avec un index ≤ 1.0 sont considérés comme "réactifs"
VIDAS HBe/anti-HBe (test value) <sup>1</sup>	31	0.01	0.01	0.04	Les échantillons avec une valeur test <1.0 sont considérés comme "positif"
Cobas anti-HBe (index s/co)	12	0.004	0.000	0.005	Les échantillons avec un index ≤ 1.0 sont considérés comme "réactifs"

<sup>1</sup> En outre un laboratoire a répondu une valeur test de 0.20 et un laboratoire une valeur test de 33

Il reste à mentionner que:

- pour le LIAISON Anti-HBe 9 laboratoires ont répondu un index <0.1
- pour l'ADVIA Centaur Anti-HBe 8 laboratoires ont répondu un index >4.5 et un laboratoire un index >4.0

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné ne pas effectuer certains tests en routine :

- Ac HBs (mais bien Ag HBs et Ac HBc): 1 labo
- Ac HBc (mais bien Ag HBs, Ac HBs, Ag HBe et Ac HBe): 1 labo
- Ag HBe (mais bien Ag HBs, Ac HBs, Ac HBc et Ac HBe): 1 labo
- Ac HBe (mais bien Ag HBs, Ac HBs, Ac HBc et Ag HBe): 1 labo
- Ag HBs conf. (mais bien Ag HBs, Ac HBs, HBc tot.et IgM): 1 labo
- Ag HBe et Ac HBe (mais bien Ag HBs, Ac HBs et Ac HBc): 2 labos
- Ag HBe et Ac HBe (mais bien 2 x Ag HBs, Ac HBs et Ac HBc) : 1 labo
- 1 Ag HBs et 1 Ac HBc (mais bien un 2<sup>e</sup> Ag HBs et Ac HBc; Ac HBs, Ag HBe et Ac HBe): 1 labo
- 1 Ag HBs, 1 HBsAs, et 1 Ac HBc (mais bien un 2<sup>e</sup> Ag HBs, Ac HBs, et Ac HBc; Ag HBe et Ac HBe): 1 labo

## L'échantillon S/5635

Les résultats obtenus pour les différents paramètres pour l'échantillon S/5635 sont présentés dans le tableau 6.1.13.

**Tableau 6.1.13** Résultats pour l'échantillon S/5635

	Ag HBs <sup>1</sup>	Ag HBs conf.	Ac HBs <sup>2</sup>	Ac Tot Hbc <sup>1</sup>	IgM HBc	Ag HBe	Ac HBe
Positif	-	-	-	1	-	-	2
Borderline	1	-	-	-	-	-	-
Négatif	153	1	151	149	2	84	79
<b>Total</b>	<b>154</b>	<b>1</b>	<b>151</b>	<b>150</b>	<b>2</b>	<b>84</b>	<b>81</b>

<sup>1</sup> Les laboratoires ayant déterminé les Ag HBs, Ac HBs et Ac HBc avec 2 méthodes, ont obtenu des résultats négatifs pour tous ces paramètres avec les 2 méthodes

Le résultat borderline pour l'Ag HBs et le résultat positif pour les Ac HBc ont été fournis par un laboratoire, qui a mentionné que l'échantillon restait trouble après centrifugations répétitives. Un des deux laboratoires qui a obtenu un résultat positif pour les Ac HBe suspecte une interférence étant donné la positivité isolée de ce paramètre.

Un certain nombre de laboratoires ont mentionné ne pas effectuer certains tests en routine :

- Ag HBs (mais bien Ac HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe): 2 labos
- Ac HBs (mais bien Ag HBs et Ac HBc): 1 labo
- Ac HBs (mais bien Ag HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe): 1 labo
- IgM HBc (mais bien Ag HBs et Ac HBs): 1 labo
- Ag HBe (mais bien Ag HBs, Ac HBs et Ac HBc): 1 labo
- Ac HBs et Ac HBc (mais bien Ag HBs): 2 labos
- Ac HBs et Ag HBs conf. (mais bien Ag HBs et Ac HBc): 1 labo
- Ag HBe et Ac HBe (mais bien Ag HBs, Ac HBs et Ac HBc): 39 labos
- Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe (mais bien Ag HBs et Ac HBs): 1 labo
- Ac HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe (mais bien Ag HBs): 1 labo
- 1 Ag HBs et 1 Ac HBc (mais bien 2e Ag HBs et Ac HBc; Ac HBs, Ag HBe et Ac HBe): 1 labo
- 1 Ag HBs, 1 HBsAs, et 1 Ac HBc (mais bien 2e Ag HBs Ac HBs, et Ac HBc; Ag HBe et Ac HBe): 1 labo

## **6.2 Sérologie de l'hépatite C**

### *6.2.1 Les échantillons*

Comme déjà mentionné dans le chapitre 6.1. les sérologies des HBV et HCV devaient être effectuées sur les mêmes échantillons.

Les résultats attendus pour l'hépatite C étaient:

S/4033:

HCV: anticorps négatifs

S/5635:

HCV: anticorps positifs

### *6.2.2. Les participants*

150 laboratoires de biologie clinique belges ou luxembourgeois ont déterminé les anticorps anti-HCV (quatre labos n'ont en effet effectué que la sérologie de l'hépatite B). 144 (96.0%) d'entre eux ont répondu par voie électronique ((toolkit).

Plusieurs laboratoires ont effectué plus d'un test par échantillon.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests effectués par laboratoire.

**Tableau 6.2.1** Nombre de tests effectués par échantillon pour les anticorps totaux anti-HCV

<b>Echantillon</b>	<b>1 test</b>	<b>2 tests</b>	<b>3 tests</b>	<b>Total</b>
S/4033	147	3	-	150
S/5635	138	11	1	150

153 tests ont donc été effectués sur l'échantillon S/4033 et 163 tests sur l'échantillon S/5635.

### 6.2.3 Réactifs utilisés

Le tableau 6.2.2. reprend le nombre d'utilisateurs des trousse de réactifs :

**Tableau 6.2.2** Réactifs utilisés dans la détermination des Ac anti-HCV

<b>Fabricant</b>	<b>Réactif</b>	<b>S/4033</b>	<b>S/5635</b>
Abbott	Architect HCV	41	41
	PRISM HCV	1	1
bioMérieux	Vidas anti-HCV	6	10
BioRad	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel Dxl 800 <sup>1</sup>	10	10
	Monolisa HCV Ag-Ab ULTRA Assay	-	1
Diasorin	Liaison XL Murex HCV Ab	8	8
Fujirebio	Innolia HCV score	-	3
Mikrogen (distributeur Euribel)	recomBlot HCV IgG 2.0	1	1
MP Diagnostics	HCV Blot 3.0	-	1
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV	11	11
	HCV version 3.0 Elisa	2	2
Roche	Cobas e anti-HCV II	29	29
	Cobas e anti-HCV	12	12
	Modular anti-HCV II	6	6
	Modular anti-HCV	4	4
	Elecsys anti-HCV	3	3
	Elecsys anti-HCV II	1	2
Siemens	ADVIA Centaur HCV	18	18
<b>Total</b>		<b>153</b>	<b>163</b>

<sup>1</sup> Cet appareil est produit par la firme Analis Beckman

## 6.2.4 Résultats

### L'échantillon S/4033

149 laboratoires ont obtenu un résultat négatif avec toutes les méthodes utilisées. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

Quatre laboratoires ont mentionné ne pas effectuer un test en routine: pour un d'entre eux c'est le seul test qu'il effectue, pour les trois autres il s'agit d'un des 2 tests qu'ils utilisent.

### L'échantillon S/5635

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif avec toutes les méthodes utilisées.

Pour les trousse avec un nombre suffisant de participants ( $N \geq 6$ ), nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand un résultat quantitatif était mentionné) (tableau 6.2.3.). 18 laboratoires ont répondu le résultat  $> 11.0$  pour la trousse Centaur HCV (Siemens).

**Tableau 6.2.3** Médiane, minimum et maximum pour les anticorps anti-HCV (échantillon S/5635) (les résultats sont exprimés en index (unité = sample/cut-off, sauf pour le VIDAS, qui a comme unité « valeur test »)).

<i>Fabricant</i>	<i>Réactif</i>	<i>N labos</i>	<i>Médiane</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Cut-off</i>
Abbott	Architect HCV	41	10.8	9.3	12.1	$\geq 1.0$
bioMérieux	Vidas anti-HCV	10	21.93	19.40	25.76	$\geq 1.0$
BioRad	Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel	10	6.21	5.47	7.79	$\geq 1.0$
Diasorin	Liaison XL Murex HCV Ab	8	5.2	4.8	6.7	$\geq 1.0$
Ortho Diagnostics	Vitros Immunodiagnostic Products anti-HCV	11	26.9	24.5	30.0	$\geq 1.0$
Roche	Cobas e anti-HCV	12	189.1	164.5	202.8	$\geq 1.0$
	Cobas e anti-HCV II	29	182.4	110.2	224.1	$\geq 1.0$
	Modular anti-HCV II	6	184.8	168.1	208.6	$\geq 1.0$

Deux laboratoires ont mentionné ne pas effectuer un test en routine: un laboratoire qui a utilisé 2 tests et le laboratoire qui utilise 3 tests.

### **6.3 Interprétations pour les échantillons S/4033 et S/5635**

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.

150 laboratoires ont effectué les tests de la sérologie de l'HBV et de l'HCV. Quatre laboratoires ont uniquement effectué la sérologie de l'HBV. Un de ces quatre n'a pas fourni d'interprétations.

Les interprétations attendues étaient:

S/4033 : « 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)

S/5635 : « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux » (code 08)

## L'échantillon S/4033

### *Les laboratoires qui n'ont répondu que l'interprétation de l'HBV*

Les trois laboratoires ont donné l'interprétation « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B » (code 9).

Tous les 3 laboratoires ont également mentionné qu'une confirmation est souhaitée par la détermination de tests complémentaires (respectivement Ac HBc, IgM HBc et charge virale HBV).

### *Les laboratoires qui ont répondu l'interprétation de l'HBV et de l'HCV*

L'interprétation proprement dite

Pour l'échantillon S/4033 la plupart des laboratoires ont 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). 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 6.3.1.:

**Tableau 6.3.1** Interprétation pour l'échantillon S/4033 (HBV et HCV)

<i>Interprétation</i>	<i>N labos</i>
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)	145
Profil sérologique suggérant une infection aigüe tardive causée par le virus de l'hépatite B ou une infection chronique causée par le virus de l'hépatite B mais aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C (Harrison's) <sup>1</sup>	1
Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B dans le passé, mais sans production d'anticorps de surface. Infection chronique par le virus de l'hépatite B, porteur. Il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C. <sup>2</sup>	1
Suggestif d'une infection causée par le virus de l'hépatite HBV, pas d'HCV. Normalement je m'attendrai à ce que l'Ag HBe soit également positif. Normalement tous les jeunes hommes belges devraient être vaccinés. <sup>3</sup>	1
Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux. (code 02) <sup>4</sup>	1
<b>Total</b>	<b>150</b>

<sup>1</sup> Résultats techniques de ce labo: Ag HBs, Ag HBs confirm et Ac HBc: positifs; Ac HBs, IgM HBc et Ac HCV: négatifs.

<sup>2</sup> Résultats techniques de ce labo: Ag HBs, Ac HBc et Ac HBe: positifs; Ac HBs, Ag HBe et Ac HCV: négatifs.

<sup>3</sup> Résultats techniques de ce labo: Ag HBs, Ac HBc et Ac HBe: positifs; Ac HBs, Ag HBe et Ac HCV: négatifs.

<sup>4</sup> Résultats techniques de ces labos: 1) Ag HBs, Ac HBc et Ac HBe positifs; Ac HBs et Ag HBe négatifs; Ac HCV: borderline 2) Ag HBs et Ac HBc: positifs; Ac HBs et Ac HCV négatifs.

## Les remarques pour l'interprétation code 1

120 laboratoires ont formulé 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 6.3.2. reprend ces remarques.

**Tableau 6.3.2** Remarques pour l'échantillon S/4033 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 ».

<i>Remarque</i>	<i>N labos</i>
Une confirmation n'est pas nécessaire	57
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s)	42
Une confirmation est souhaitée par un prélèvement ultérieur	17
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s) et par un prélèvement ultérieur	2
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s), par un prélèvement ultérieur et par une visite chez le gastroentérologue	1
Une confirmation n'est pas nécessaire mais la détermination de l'ADN de l'HBV est utile pour le début d'un éventuel traitement antiviral	1
<b>Total</b>	<b>120</b>

Douze laboratoires ont précisé qu'ils demanderaient un 2<sup>e</sup> prélèvement pour suivre l'évolution. Certains d'entre eux l'ont précisé plus spécifiquement:

- Pour suivre la chronicité (+ PCR): 1 labo
- Pour suivre l'apparition des Ac HBs: 4 labos
- Pour suivre la disparition de l'Ag HBs et l'apparition des Ac HBs: 4 labos
- Pour suivre la disparition de l'Ag HBs et l'apparition des Ac HBs et l'évolution des tests hépatiques: 1 labo

Le tableau 6.3.3. reprend les tests complémentaires proposés par les laboratoires.

**Tableau 6.3.3** 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/4033

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
PCR HBV/HBV DNA/charge virale	16
PCR HBV/HBV DNA/charge virale + Ag HBe et Ac anti-Hbe	4
PCR HBV/HBV DNA/charge virale + Ag HBe et Ac anti-Hbe + IgM HBc	1
PCR HBV/HBV DNA/charge virale + Ag HBe + sérologie hépatite delta	1
PCR HBV/HBV DNA/charge virale + tests hépatiques	1
PCR HBV/HBV DNA/charge virale + IgM HBc <sup>1</sup>	4
PCR HBV/HBV DNA/charge virale + Ag HBs conf.	3
Ag HBe + Ac anti-Hbe	5
Ag HBe + Ac anti-Hbe + IgM HBc	1
Ag Hbe	1
IgM HBc	1
Ag HBs conf.	7
<b>Total</b>	<b>45</b>

<sup>1</sup> Un de ces laboratoires déterminerait d'abord les IgM HBc et n'effectuerait les tests de biologie moléculaire que si ces IgM seraient positives

### L'échantillon S/5635

#### *Les laboratoires qui n'ont répondu que l'interprétation de l'HBV*

Les trois laboratoires ont donné l'interprétation « 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).

Deux des trois ont mentionné qu'une confirmation n'est pas nécessaire; le 3<sup>e</sup> n'a pas donné de remarque.

#### *Les laboratoires qui ont répondu l'interprétation de l'HBV et de l'HCV*

##### L'interprétation proprement dite

Pour l'échantillon S/5635 une majorité des laboratoires a choisi l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux » (code 08). 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 6.3.4.:

**Tableau 6.3.4** Interprétation pour l'échantillon S/5635 (HBV et HCV)

<i>Interprétation</i>	<i>N labos</i>
Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux. (code 08)	145
Pas d'infectivité, ni d'immunité en hépatite B. Détection hépatite C envoyée au centre de référence pour tests complémentaires <sup>1</sup>	1
HCV positif, HEP B négatif, pas d'immunité contre l'hépatite B. <sup>2</sup>	1
Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux. (code 02) <sup>3</sup>	2
Immunité vaccinale ou par infection naturelle contre le virus de l'hépatite B; des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre eux. Sérologie compatible soit avec une infection active par HCV (chronique) soit avec un contact avec l'HCV dans le passé ; des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux. <sup>4</sup>	1
<b>Total</b>	<b>150</b>

<sup>1</sup> Résultats techniques de ce labo: Ag HBs, Ac HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe: négatifs; Ac HCV positifs.

<sup>2</sup> Résultats techniques de ce labo: Ag HBs, Ac HBs, Ac HBc: négatifs; Ac HCV positifs.

<sup>3</sup> Résultats techniques de ces labos: 1) Ag HBs, Ac HBs, Ac HBc, Ag HBe et Ac HBe: négatifs; Ac HCV positifs. 2) Ac HBc et Ac HCV positifs; Ag HBs borderline, Ac HBs, HBe et Ac HBe négatifs.

<sup>4</sup> Ce laboratoire a obtenu un résultat négatif pour l'Ag HBs et un résultat positif pour les Ac HCV.

Les remarques pour l'interprétation code 8

132 laboratoires ont donné une remarque pour l'interprétation attendue « « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux ».

Le tableau 6.3.5. reprend ces remarques.

**Tableau 6.3.5** Remarques pour l'échantillon S/5635 données par les laboratoires ayant fourni l'interprétation « Aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite B, ni pour une immunité contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux ».

<i>Remarque</i>	<i>N labos</i>
Une confirmation est souhaitée par test(s) complémentaire(s)	117
Une confirmation est souhaitée par un prélèvement ultérieur	3
Une confirmation n'est pas nécessaire	12
<b>Total</b>	<b>132</b>

Le tableau 6.3.6. reprend les tests complémentaires proposés par les laboratoires.

**Tableau 6.3.6** 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 contre le virus de l'hépatite B; sérologie compatible soit avec une infection par HCV (chronique) active soit avec un contact avec l'HCV dans le passé. Des tests complémentaires sont indiqués pour faire la distinction entre les deux » pour l'échantillon S/5635

<i>Test</i>	<i>N labos</i>
Tests de biologie moléculaire pour l'HCV	86
Tests de biologie moléculaire pour l'HCV + tests blot pour l'HCV	8
Tests de biologie moléculaire pour l'HCV + tests blot pour l'HCV + confirmation Ac HBe	1
Tests de biologie moléculaire pour l'HCV + confirmation Ac HCV	3
Tests de biologie moléculaire pour l'HCV + tests hépatiques (transaminases)	3
Tests de biologie moléculaire pour l'HCV + tests hépatiques (transaminases) + suivi des Ac HCV et tests de biologie moléculaire après 3 mois	1
Tests de biologie moléculaire pour l'HCV; si négatif : confirmation Ac HCV	1
Tests blot pour l'HCV	4
Confirmation Ac HCV	6
Confirmation Ac HCV; si positif tests de biologie moléculaire pour l'HCV	3
Tests complémentaires pour l'HCV	1
<b>Total</b>	<b>117</b>

#### **6.4. Commentaire**

Les échantillons ont posé peu ou pas de problèmes techniques.

L'échantillon S/4033 était positif pour l'Ag HBs, les Ac HBc et les Ac HBe et négatif pour l'HCV. Etant donné que l'Ag HBs était positif, la plupart des laboratoires ont également effectué l'analyse de l'Ag HBe et/ou des Ac HBe ou ont suggéré d'effectuer ces analyses comme tests complémentaires.

L'interprétation par la plupart des laboratoires était correcte. Les propres interprétations des laboratoires et les suggestions pour un second prélèvement ont été inspirées par la suspicion d'une infection tardive, chronique ou passée à cause de la présence des Ac HBe et l'absence de l'Ag HBe.

Environ la moitié des laboratoires confirmeraient le résultat, surtout par PCR/charge virale. Les tests moléculaires ne sont remboursés que dans des situations bien précises.

Pour l'échantillon S/5635 il s'agissait d'un patient sans évidence d'une infection par le virus de l'hépatite B ou d'immunité pour le virus de l'hépatite B virus mais avec une sérologie positive pour l'HCV.

Il est à noter que deux laboratoires ont mentionné qu'ils n'effectueraient pas l'analyse de l'Ag HBs en routine même s'il s'agit d'un patient avec un comportement à risque et des plaintes récentes.

Les interprétations aberrantes pour la sérologie de l'hépatite B:

- Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B tandis que l'Ag HBs, les Ac HBs, les Ac HBc, l'Ag HBe et les Ac HBe étaient négatifs.
- Immunité vaccinale ou par infection naturelle contre le virus de l'hépatite B tandis que le labo n'a déterminé que l'Ag HBs.

Les laboratoires ont conseillé d'effectuer comme tests complémentaires pour l'HCV les tests blot qui peuvent confirmer le résultat sérologique et/ou les tests hépatiques et les tests moléculaires qui donnent une idée de l'activité de la maladie. Les différentes réponses reflètent probablement la stratégie qui est utilisée dans les différents laboratoires. Si on effectue de toute façon un test moléculaire, le test blot n'est souvent pas nécessaire comme test de confirmation. Le même raisonnement est valable pour les résultats des tests de dépistage d'HCV au-dessus d'une certaine valeur quand lors de la validation du test il s'est avéré que ces valeurs très positives sont toujours confirmées. De même pour l'HCV, les tests moléculaires ne sont remboursés que dans des situations bien précises.

## **6.5 Ag de la Legionella**

### *6.5.1 Les échantillons*

Il y avait 2 échantillons d'urine pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/12900 en Ag/12973. L'échantillon Ag/12900 était négatif et l'échantillon Ag/12973 positif. L'échantillon Ag/12973 a déjà été envoyé lors de l'enquête 2010/2 sous le numéro Ag/10118.

### *6.5.2. Les participants*

90 laboratoires ont participé à cette EEQ. 78 (86.7%) d'entre eux ont répondu par voie électronique (toolkit).

89 laboratoires ont effectué un test et un laboratoire deux tests.

### *6.5.2. Réactifs utilisés*

Le tableau suivant reprend le nombre d'utilisateurs par trousse de réactifs.

**Tableau 6.5.2** Réactifs utilisés dans la détermination de l'antigène Legionella.

<b><i>Fabricant</i></b>	<b><i>Réactif</i></b>	<b><i>Ag/12900</i></b>	<b><i>Ag/12973</i></b>
Alere Health	Binax Now Legionella Urinary Ag test	81	81
Biorad	Legionella Urine Antigen EIA	1	1
Coris Bioconcept (distributeur International Medical)	Legionella V-test	2	2
IVD Research Inc. (distributeur Herman Diagnostics)	Legionella Urinary Antigen Lateral Flow	2	2
Meridian	Tru Legionella	3	3
	SAS Legionella	1	1
Oxoïd	Xpect Legionella Test	1	1
<b><i>Total</i></b>		<b>91</b>	<b>91</b>

#### 6.5.4 Résultats

##### L'échantillon Ag/12900

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif (le labo ayant utilisé 2 méthodes a obtenu un résultat négatif avec ces 2 techniques).

Les réponses concernant l'interprétation clinique sont reprises dans le tableau 6.4.2.

**Tableau 6.5.2** Interprétations cliniques pour l'échantillon Ag/12900 (Ag Legionella).

<b>Interprétation</b>	<b>N labos</b>
Négatif	77
Des tests supplémentaires sont nécessaires	12
Positif <sup>1</sup>	1
<b>Total</b>	<b>90</b>

<sup>1</sup> Ce laboratoire a probablement coché la mauvaise case dans le toolkit étant donné qu'il a répondu « négatif » pour le résultat « technique ».

Les tests supplémentaires mentionnés par les laboratoires sont repris dans le tableau 6.5.3.

**Tableau 6.5.3** Tests supplémentaires pour l'échantillon Ag/12900 (Ag Legionella)

<b>Tests supplémentaires</b>	<b>N labos</b>
PCR	4
PCR + culture sur échantillon respiratoire <sup>1</sup>	3
Culture sur échantillon respiratoire <sup>2</sup>	2
PCR + RX pulmonaire	1
Non mentionné quel test supplémentaire	2
<b>Total</b>	<b>12</b>

<sup>1</sup> Un laboratoire a mentionné que ce test ne détecte que le sérotype 1 (le plus fréquent) en qu'en cas de suspicion d'une infection par Legionella une culture et une PCR (pour d'autres sérotypes) sont nécessaires.

<sup>2</sup> Les 2 laboratoires ont mentionné que ce test ne détecte que le sérotype 1 (le plus fréquent) en qu'en cas de suspicion d'une infection par Legionella une culture est nécessaire.

Quelques laboratoires qui ont donné l'interprétation « négatif », ont donné une remarque dans le champ de « texte libre »:

- 1 laboratoire a mentionné que la culture et la PCR sont nécessaires vu le statut immuno-dépression
- 1 laboratoire a mentionné que la culture est nécessaire en cas de doute
- 2 laboratoires ont mentionné qu'étant le fait que le test peut être négatif dans un stade précoce, il peut être utile de le répéter (selon 1 des 2 après 3 jours)
- 2 laboratoires ont mentionné que le test ne détecte que le sérotype 1

Un laboratoire a mentionné ne pas effectuer le test en routine sur cet échantillon.

## L'échantillon Ag/12973

89 laboratoires ont obtenu un résultat positif (le labo ayant utilisé 2 méthodes a obtenu un résultat positif avec ces 2 techniques). Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

Les réponses concernant l'interprétation clinique sont reprises dans le tableau 6.4.4.

**Tableau 6.5.4** Interprétations cliniques pour l'échantillon Ag/12973 (Ag Legionella).

<i>Interprétation</i>	<i>N labos</i>
Positif	83
Des tests supplémentaires sont nécessaires	7
<b>Total</b>	<b>90</b>

Les tests supplémentaires mentionnés par les laboratoires sont repris dans le tableau 6.5.5.

**Tableau 6.5.5** Tests supplémentaires pour l'échantillon Ag/12973 (Ag Legionella)

<i>Tests supplémentaires</i>	<i>N labos</i>
PCR	2
PCR + culture sur échantillon respiratoire	2
Culture sur échantillon respiratoire	1
Contrôle sur un échantillon nouveau. PCR et culture	1
PCR + Antigène Influenza A et B + RX pulmonaire	1
<b>Total</b>	<b>7</b>

Trois laboratoires ont mentionné ne pas effectuer le test en routine sur cet échantillon; deux d'entre eux ont donné une explication: 1) Ces informations cliniques ne donnent pas une forte suspicion et il ne faut pas faire le test comme premier diagnostic en routine, sauf s'il y a par exemple également une diarrhée été une hyponatrémie ou une pneumonie sans agent actif clair ou en cas d'épidémie,... 2) Ce test manquant de spécificité ne peut à lui seul diagnostiquer une infection à Légionnelle.

### 6.5.5 Commentaire

La légionellose s'exprime classiquement sous forme de 2 entités différentes: 1) la maladie des légionnaires, une pneumonie fulminante avec ou sans atteinte multisystème grave, et 2) la fièvre de Pontiac, une maladie auto-limitante qui ressemble à la grippe (« Influenza Like Illnesses »). En plus beaucoup de personnes dont une infection dans le passé par *Legionella* a été prouvée par séroconversion, resteront asymptomatiques. La durée de l'incubation de la légionellose varie de 2 à 10 jours.

La maladie des légionnaires fait souvent partie du diagnostic différentiel de pneumonie « atypique » avec les infections causées par *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii* et une grande variété de virus. Une ressemblance clinique des pneumonies causées par ces pathogènes inclut la présence d'une toux non-productive et donc l'absence d'expectorations purulentes. Cependant les manifestations cliniques en cas de la maladie des légionnaires sont cependant d'habitude plus graves que celles des autres pneumonies atypiques. L'imagerie médicale ne permet pas non plus de distinguer la maladie des légionnaires des autres pneumonies atypiques. On peut retrouver plusieurs résultats biochimiques aberrants en cas de pneumonie par *Legionella*: une hyponatrémie, une thrombocytopénie, une hématurie, une hypophosphatémie et des enzymes hépatiques anormaux.

Le diagnostic de laboratoire complémentaire adéquat est crucial et demande des tests microbiologiques spécifiques.

Le diagnostic d'une infection par *Legionella* peut être effectué par culture ou PCR sur des échantillons respiratoires (de préférence profonds), par un test de détection de l'antigène dans les urines ou par détection des anticorps spécifiques anti-*Legionella pneumophila*.

En ce qui concerne le diagnostic sur échantillons respiratoires il faut tenir compte qu'il s'agit souvent d'une toux peu ou pas productive (sans prédominance des neutrophiles) et qu'il faut donc parfois effectuer un lavage broncho-alvéolaire pour obtenir un prélèvement adéquat. L'introduction et l'utilisation des tests de détection de l'antigène dans les urines ont significativement amélioré la vitesse du diagnostic et du début du traitement par antibiotiques, ce qui a mené à une mortalité diminuée (Ref. Mykietiuk A et al.) Il s'agit de tests très simples et faisables, surtout des immuno-essais enzymatiques (« enzyme-linked immunosorbent assays ») et tests immunochromatographiques), appropriés pour la détection du sérotype 1 de *L. pneumophila* avec une bonne ou acceptable spécificité. Les sensibilités varient énormément d'un test à un autre, et certains tests commerciaux ont une sensibilité inacceptablement basse même pour la détection du sérotype 1 (Ref. Diederer BMW & Peeters MF; Olsen CW et al.). La sérologie est une méthode de détection lente: une séroconversion des IgG anti-*L. pneumophila* ne peut être attendue que 6 à 8 semaines après l'infection. Cette méthode est donc principalement utile pour la recherche épidémiologique, et n'apporte pas grand-chose dans le cadre du diagnostic individuel.

Les cas de la maladie des légionnaires peuvent être sporadiques ou faire partie d'une épidémie. Les cas sporadiques sont rapportés toute l'année, mais la plupart des cas d'infections épidémiques sont retrouvés en été et en automne, probablement à cause du fait que le temps plus chaud stimule la prolifération des bactéries dans l'eau. Dans les régions avec un climat modéré, un nombre substantiel des cas sont liés à des voyages. La maladie se manifeste principalement chez les personnes d'âge moyen ou chez les vieilles personnes, chez les personnes avec un fonctionnement cardiaque ou respiratoire diminué, chez les grands fumeurs et chez les patients immunodéprimés pour cause de maladie sous-jacente ou médication. Une étude récente a montré un nombre de facteurs de risque indépendants pour contracter la maladie des légionnaires: le diabète, le tabagisme, faire beaucoup de voyages, être chauffeur professionnel, et séjourner un ou plusieurs nuits à l'extérieur dans le propre pays (Ref. Den Boer JW et al).

Le sérotype 1 de *L. pneumophila* a causé l'épidémie à Philadelphia en 1976 (34 des 221 cas ont eu une fin fatale) et est l'agent causatif d'à peu près 90% de tous les cas de la maladie des légionnaires dans le monde occidental dans lesquels une souche bactérienne a été identifiée. Jusqu'à présent 16 sérotypes de *L. pneumophila* ont été décrits. De toute façon, même si le sérotype 1 de *L. pneumophila* représente la majorité des isolaments européens et américains de Legionella, ce sérotype n'est impliqué que dans 50% des cas de légionellose acquise dans la communauté en Australie et Nouvelle Zélande, tandis qu'il s'agit dans environ 30% des cas de *L. longbeachae*. Au Japon le sérotype 1 de *L. pneumophila* est impliqué dans environ 80% des cas de légionellose, suivi par les sérotypes 5, 3 et 2.

Legionella spp. sont mondialement répandus. Les organismes sont capables de survivre très longtemps dans un environnement humide et ils peuvent supporter des températures de 0 à 68°C, et des portées de pH de 5.0 à 8.5. En plus ils sont résistants à la chloration et ils peuvent donc entrer dans les réservoirs d'eau et se proliférer dans des habitats thermiques, y inclus les installations de refroidissement de la climatisation, les douches, les bains tourbillons et les ventilateurs respiratoires. Legionella species sont retrouvés dans les biofilms sur les surfaces de ces systèmes, où ils sont beaucoup moins sensibles aux effets des biocides et du chlorure.

Les résultats de l'EEQ étaient techniquement en ordre.

#### Echantillon Ag/12900

Pour l'échantillon Ag/12900 tous les résultats étaient techniquement corrects. De plus nous pouvons remarquer que 12 laboratoires ont conseillé d'effectuer des tests complémentaires. Il est effectivement vrai que les tests pour détection de l'antigène de la Legionella qui sont disponibles sur le marché ont une sensibilité variable (grande variation de la sensibilité en fonction du test d'antigène utilisé, allant de 30 à 92%, réf. JCM Diederer BMW) et cette sensibilité est également influencée par la présentation de la maladie, par le statut immunitaire, par la probabilité de cette infection, ... La sensibilité est donc bien un facteur limitant et ces tests rapides peuvent donc bien être utilisés pour diagnostiquer une infection par Legionella mais pas pour l'exclure avec certitude. En plus ces tests détectent principalement le sérotype 1 de *Legionella pneumophila*, même si certaines firmes commerciales prétendent que les autres sérotypes sont également recherchés adéquatement. L'évidence scientifique en est pour le moment insuffisante.

Il dépendra donc de la sévérité clinique de l'infection, de l'immunité du patient, de la probabilité de l'infection (dépistage respiratoire large pour d'autres agents infectieux, séjour récent dans un centre de bien-être/station thermale,...) si en cas d'un résultat négatif du test de l'antigène un test complémentaire plus sensible est nécessaire.

Notre cas clinique avait plusieurs facteurs de risque et une sensibilité élevée pour une infection par Legionella (âge élevé, patient souffrant de BPCO, utilisation de corticoïdes, séjour récent dans une station thermale).

8 des 12 labos qui ont conseillé des tests complémentaires, ont mentionné l'analyse par PCR, en combinaison ou non, avec culture/radiographie du thorax. Une PCR sur un échantillon respiratoire profond est très sensible et très spécifique, mais ne permet pas d'office un génotypage (et n'a pas de numéro de nomenclature), donc une culture est plus utile pour la surveillance épidémiologique, même si elle demande des milieux de culture spéciaux et plus de patience (plusieurs jours d'incubation) vis-vis la PCR. La radiographie du thorax n'apporte dans ce cas aucune contribution concernant la causalité, étant donné qu'il s'agit d'un examen complètement aspécifique. Un grand nombre de pathogènes respiratoires montrent des lésions pulmonaires exactement comparables.

Deux laboratoires ont conseillé la culture uniquement « pour détection d'autres sérotypes », mais même pour le sérotype 1 la culture a donc une utilité supplémentaire vue qu'elle est plus sensible que le test d'antigène.

Le commentaire libre était correct, seuls 2 laboratoires ont mentionné la détection d'uniquement le sérotype 1. Déjà dans le commentaire concernant le test d'antigène Legionella (EEQ ISP 2010) An Boel a clairement mentionné la description d'Isenberg qui encourage de mentionner « sérotype 1 de *L. pneumophila* ». Malgré cette remarque concernant le commentaire nous ne voyons pas encore une large utilisation sur le terrain.

**Le rapportage de résultats de ces tests urinaires de détection de Legionella devrait idéalement être le suivant :**

**« Positif pour l'antigène urinaire du sérotype 1 de Legionella pneumophila »**

**OU:**

**« Négatif pour l'antigène urinaire du sérotype 1 de Legionella pneumophila. Les autres sérotypes et types de légionelles ne sont pas détectés avec ce test. La culture de sécrétions respiratoires est à conseiller si une infection de Legionella est suspectée »**

#### Echantillon Ag/12973

A nouveau il y a peu ou pas de problèmes techniques à noter. 89/90 laboratoires ont répondu « positif », et un laboratoire « borderline ». En ce qui concerne la réponse « borderline »: il faut mentionner que l'insert de la trousse BinaxNOW mentionne clairement que chaque ligne visible doit être considérée comme « positive » et qu'il ne semble donc pas possible de répondre borderline.

83 des 90 laboratoires répondraient positif sans plus et 7 demanderaient des examens supplémentaires. 6/7 ont mentionné l'analyse par PCR et 4/7 la culture bactérienne. Un laboratoire ne mentionne pas seulement l'analyse par PCR, mais également le test d'antigène d'influenza et la radiographie du thorax. En cas d' « Influenza Like Illness » (ILI), l'influenza peut en effet être un agent causatif important, en plus de beaucoup d'autres micro-organismes, donc la mention spécifique d'influenza est insuffisante. Probablement on mentionne la radiographie du thorax afin d'évaluer objectivement si l'infection clinique des voies respiratoires supérieures ne serait pas associée au début d'une pneumonie, mais en cas de fièvre et ILI il ne semble pas nécessaire d'effectuer d'office une radiographie du thorax.

M. Reynders, AZ St-Jan, Brugge

## Références

---

3. Mykietiuk A et al. *Clinical Infectious Diseases*.2005; 40:794-9.
4. Diederer BMW, Peeters MF. *J Clin Microbiol*.2006;44(8): 2991-3.
5. Olsen CW et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.2009;28:817-20.
6. Harrison TG et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.2009 ;28(7) :781-91.
7. Amemura-Maekawa J et al. *J Med Microbiol*.2010 Jun ;59 :653-9.
8. Phin N et al. *Lancet Infect Dis*.2014 Oct ;14(10) :1011-21.
9. Carratala J, Garcia-Vidal C. *Curr Opin Infect Dis*.2010 Apr ;23(2) :152-7.
10. Diederer BMW. *J Infection*.2008 ;56(1):1-12. Review : *Legionella* spp. and Legionnaires' disease.

---

**FIN**

---