

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

RAPPORT GLOBAL DEFINITIF

MICRO/SERO/PARA

ENQUETE 2022/1

Microbiologie

Burkholderia cepacia

Candida albicans

Pseudomonas aeruginosa

Streptococcus canis

Frottis: levures

Parasitologie

Entamoeba histolytica/dispar

Hymenolepis nana

Sérologie

Sérologie de la borréliose

Sérologie de la syphilis

Sciensano/Micro/Séro/Para/132-FR

Risques biologiques pour la santé

Qualité des laboratoires

Rue J. Wytsman, 14

1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS

SCIENSANO			
Secrétariat		TEL: 02/642.55.21	FAX: 02/642.56.45
		e-mail: gl_secretariat@sciensano.be	
Dr. VERNELEN Kris	Coordinateur d'enquête	TEL: 02/642.55.29	
		e-mail: kris.vernelen@sciensano.be	
Dr. CHINA Bernard	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL: 02/642.53.85	
		e-mail: bernard.china@sciensano.be	
Experts	Institution		
Pharm. BOEL An	OLVZ Aalst		
Dr. BOELENS Jerina	UZ Gent		
Dr. BOERAS Anca	CLINIQUE ST JOSEPH Liège		
Dr. CAMPS Kim	ZNA Antwerpen		
Dr. DE BEENHOUWER Hans	OLVZ Aalst		
Dr. DE GHELDRE Yves	CHIREC Bruxelles		
Dr. DELFORGE Marie-Luce	ULB ERASME Bruxelles		
Dr. DEYPARE Melissa	UZ Leuven		
Dr. HUANG Te-Din Daniel	UCL Mont Godinne		
Dr. MEEEX Cécile	CHU Liège		
Dr. MAGERMAN Koen	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt		
Dr. PADALKO Elizaveta	UZ Gent		
Dr. REYNDERS Marijke	AZ SINT JAN Brugge		
Dr TRE HARDY Marie	HOPITAUX IRIS SUD Etterbeek		
Dr. VAN ACKER Jos	AZ ST LUCAS Gent		
Dr. VAN DEN BOSSCHE Dorien	ITG Antwerpen		
Dr. VAN GASSE Natasja	ZNA Antwerpen		
Dr. VERROKEN Alexia	UCL Bruxelles		
Pharm. VIJGEN Sara	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt		

Parties de ce rapport ont été transmises par mail aux experts à partir du 04/02/2022.

Ce rapport a été discuté lors des réunions des comité d'experts de microbiologie et de sérologie infectieuse le 21/04/2022.

Ce rapport remplace la version précédente du rapport global du 25/04/2022.

Autorisation du rapport : par Kris Vernelen, coordinateur d'enquête

Date de publication : 20/02/2023

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-microbiologie-parasitologie-et-serologie-infectieuse>

I. REMARQUES GÉNÉRALES	6
II. IDENTIFICATION	7
2.1. Culture M/18472 <i>Candida albicans</i>	7
2.2. Culture M/18253 <i>Streptococcus canis</i>	15
2.3. Culture M/18588 complexe <i>Burkholderia cepacia</i>	16
2.4. Culture M/18740 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
III. RÉSULTATS DES IDENTIFICATIONS	22
3.1. Culture M/18472 <i>Candida albicans</i> (hémoculture)	22
3.2. Culture M/18523 <i>Streptococcus canis</i> (hémoculture).....	23
3.3. Culture M/18588 <i>Burkholderia cepacia</i> (expectoration).....	24
3.4. Culture M/18740 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture).....	25
3.5. Coloration de Gram M/18332 (hémoculture).....	26
IV. ANTIBIOGRAMME	27
4.1. Culture M/18472 (<i>Candida albicans</i>).....	28
4.2 Culture M/18740 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>).....	31
V. PARASITOLOGIE	37
5.1. Les échantillons	37
5.2. Les résultats pour l'échantillon P/18272.....	38
5.3. Les résultats pour l'échantillon P/18846.....	40
5.4. Commentaire sur l'enquête	41
VI. SÉROLOGIE	44
6.1. Borréliose	44
6.1.1. Information concernant les échantillons envoyés	44
6.1.2. Les participants.....	45
6.1.3. Réactifs utilisés.....	46
6.1.3.1. Pour les anticorps totaux	46
6.1.3.2. Pour les IgG	47
6.1.3.3. Pour les IgM.....	48
6.1.4. Résultats.....	49
6.1.4.1. Echantillon S/5664	49
6.1.4.1.1. IgG+M	49
6.1.4.1.2. IgG	49
6.1.4.1.3. IgM	49
6.1.4.1.4. Interprétation	49
6.1.4.2. Echantillon IS/18777, laboratoires pairs	51
6.1.4.2.1. IgG+M	51
6.1.4.2.2. IgG	51
6.1.4.2.3. IgM	51
6.1.4.2.4. Interprétation.....	51
6.1.4.3. Echantillon IS/18777, laboratoires impairs	53
6.1.4.3.1. IgG+M	53
6.1.4.3.2. IgG	53
6.1.4.3.3. IgM	53
6.1.4.3.4. Interprétation.....	54
6.1.5. Commentaire sur l'enquête	55
6.2. Syphilis	57
6.2.1. Les échantillons	57
6.2.2. Les participants.....	57
6.2.3. Réactifs utilisés.....	59
6.2.4. Résultats.....	60
6.2.4.1. L'échantillon IS/18099.....	60
6.2.4.1.1. Tests non-tréponémiques	60
6.2.4.1.2. Tests tréponémiques	60
6.2.4.1.3. Interprétations cliniques	61
6.2.4.2. L'échantillon IS/18095.....	63
6.2.4.2.1. Tests non-tréponémiques	63
6.2.4.2.2. Tests tréponémiques	64

6.2.4.2.3. Interprétations cliniques	65
6.2.5. Question concernant les algorithmes utilisés pour le diagnostic de la syphilis.....	67
6.2.6. Commentaire sur les résultats de l'enquête	69

I. Remarques générales

Pour la 1^e enquête du cycle 2022 (enquête 2022/1), le matériel suivant a été expédié le 17 janvier 2022.

1.1. 4 échantillons lyophilisés pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés.

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

1.3. Deux échantillons pour la sérologie de la syphilis et **2 échantillons** pour la sérologie de la **borréliose**. Pour la syphilis, l'interprétation comprend l'ensemble des 2 échantillons.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	125
2.	Pour la parasitologie:	115
3.	Pour la sérologie	
	La syphilis:	128
	La borréliose:	113

Tous les échantillons utilisés dans les EEQ sont approuvés préalablement par les membres des différents comités d'experts, ce qui prouve également l'homogénéité. La stabilité suit des résultats des laboratoires.

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

Pour la bactériologie :

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-microbiologie-parasitologie-et-serologie-infectieuse>

et puis cliquer sur « Aperçu des germes envoyés »

Pour la parasitologie :

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-microbiologie-parasitologie-et-serologie-infectieuse>

et puis cliquer sur « Aperçu des parasites déjà envoyés »

Pour la sérologie infectieuse :

<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-microbiologie-parasitologie-et-serologie-infectieuse>

et puis cliquer sur « Liste des paramètres sérologie infectieuse évalués ».

2.1. Culture M/18472 *Candida albicans*

La culture était accompagnée des informations cliniques suivantes: « Dans le décours d'une septicémie à *K. pneumoniae* d'origine urinaire traitée par céfuroxime puis ciprofloxacine, un patient de 83 ans présente une paire d'hémocultures positives.

Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine.

L'identification doit être effectuée jusqu'au niveau où vous répondez en routine et n'effectuez les tests de sensibilité antimicrobiens que si vous le feriez en routine.»

Commentaire du Centre de Référence Mycoses (R. Sacheli, MP Hayette)

Candida albicans est un champignon levuriforme de la famille des Saccharomycetaceae. Il est naturellement constitutif de la flore des muqueuses chez l'être humain. Sa présence n'est généralement pas pathologique, cependant, un déséquilibre hormonal ou immunitaire peut être responsable d'une multiplication anarchique de cette levure et entraîner des candidoses localisées (génitales, buccales ou digestives) ou dans des cas plus graves, d'une candidose invasive pouvant mettre en péril le pronostic vital du patient (chez le sujet immunodéprimé essentiellement).

Au laboratoire, lorsqu'une hémoculture est positive, il est préconisé de réaliser un examen direct avec coloration de GRAM. Les levures apparaissent GRAM positif et peuvent être visualisées sous forme de levures (blastospore de forme ovale de 2-4µm +/- bourgeonnement), de pseudomycélium ou de mycélium. La mise en culture de l'hémoculture sur milieu Sabouraud ou sur gélose au sang incubée entre 25 et 37°C, permet le développement en 24-48h de colonies d'1-2mm de diamètre, crémeuses et blanchâtres.

En règle générale, le *C. albicans* est facilement identifié par spectrométrie de masse Maldi-Tof MS à partir d'une colonie isolée en culture moyennant un dépôt avec ajout d'acide formique 70%. Des scores supérieurs à 1.7 avec un même résultat donné au moins 3 fois sont considérés comme fiables à l'espèce pour les *Candida sp.*. En effet de nombreuses études ont déterminé qu'abaisser le « cut-off » à 1.7 au lieu de 2 comme préconisé par le fabricant, permettait d'augmenter le taux d'identifications réussies sans pour autant compromettre la précision de l'identification jusqu'à l'espèce [1–3]. Pour les laboratoires ne disposant pas d'un spectromètre de masse Maldi-Tof, MS certains milieux chromogènes peuvent aider à l'identification comme le milieu Candi-select de Biorad par exemple ou le milieu ChromID *Candida* de bioMérieux [4]. Grâce à la mise en évidence d'une réaction enzymatique spécifique, les colonies de *Candida albicans* apparaîtront avec une coloration qui leur est propre sur ces milieux permettant l'identification à l'espèce. La réalisation de tests biochimiques comme les galeries API32C (bioMérieux) par exemple est également envisageable pour confirmer l'identification. L'espèce *C. albicans* se distinguera notamment par sa capacité à fermenter le glucose et le maltose et à assimiler le carbone à partir de xylose, maltose, galactose et tréhalose[5]. Par ces méthodes phénotypiques (culture sur milieux chromogènes, tests

biochimiques), une confusion avec *C. dubliniensis* est cependant possible[6,7]. *Candida albicans* pourra aisément être différencié de *C. dubliniensis* grâce aux méthodes de biologie moléculaire et par Maldi-Tof MS. En effet, l'analyse du profil protéique permet de différencier efficacement ces deux espèces proches[10]. La réalisation d'une PCR amplifiant la région non codante ITS « internal transcribed spacer » de la levure, suivie d'un séquençage permet également de faire la distinction entre les deux espèces. Ces deux espèces divergent en effet au niveau de leur génome et en particulier au niveau de la région ITS car des différences au niveau de 20 bases au sein de cette région génique ont été mises en évidence[8,9].

Concernant **l'identification de la souche lors de ce contrôle externe**, 124/125 (99,2%) laboratoires ont correctement identifié la souche en tant que *Candida albicans*. Un laboratoire a répondu qu'il sous-traiterait l'analyse dans sa propre routine et n'a donc pas rendu de résultat.

Concernant la détermination de la sensibilité aux antifongiques, 46 laboratoires n'ont pas effectué d'antifongigramme: la majorité de ces laboratoires ont cependant mentionné dans le texte libre qu'ils n'effectuent pas d'antifongigrammes en routine mais que cette demande est envoyée au CNR. La réalisation d'un antifongigramme sur une souche de *C. albicans* isolée d'hémoculture est en effet indispensable. Les récentes recommandations concernant la prise en charge des candidémies préconisent l'utilisation des échinocandines pour le traitement en première intention [11]. Même si le taux de résistance est fort bas pour cette classe d'antifongiques, le développement de résistances a déjà été mis en évidence notamment chez des patients ayant été préalablement traités par échinocandines [12]. Ce phénomène de résistance est lié à une mutation du gène codant pour la sous unité Fks1 ou Fks2 (Fks2, uniquement chez *C. glabrata*) de la glucane synthase entraînant une diminution de l'affinité de l'enzyme pour les échinocandines. Cette mutation confère en général, une résistance croisée à toutes les échinocandines, c'est pourquoi il est préconisé de tester au moins une échinocandine en cas d'hémoculture positive à *Candida* sp. [13,14]. Les « guidelines » actuelles préconisent également l'utilisation du fluconazole en thérapie dégressive pour les candidoses invasives. Etant donné l'émergence de mécanismes de résistance aux azolés, la réalisation d'un antifongigramme ainsi que l'identification précise à l'espèce est primordiale. En effet, de nombreuses mutations au sein du gène ERG11, qui code pour la 14 α -déméthylase permettant la synthèse d'ergostérol à partir du lanostérol, ont été décrites à travers le monde comme étant responsables d'une augmentation des valeurs de concentrations minimales inhibitrices (CMI) chez *Candida* sp. incluant *C. albicans* [15–17]. D'autres mécanismes de résistance comme une surexpression de ERG11 ainsi que des pompes à efflux de type ABC ou MFS ont également été décrits chez *C. albicans* et d'autres *Candida* sp.[18]. *Candida krusei* est quant à lui constitutivement résistant au fluconazole et *C. glabrata* présente une sensibilité diminuée à l'égard de cet antifongique, justifiant l'importance d'une identification précise à l'espèce.

Par ailleurs, il est important d'utiliser le bon référentiel lié à la méthode utilisée pour l'interprétation des résultats. Les méthodes et référentiels associés aux méthodes de disques, et E-tests sont celles du CLSI, le dernier publié étant le document M60, celui-ci est également recommandé pour l'interprétation des résultats obtenus avec le Sensititre YeastOne (Thermo Fisher) et la méthode Vitek 2 (bioMérieux), cette dernière utilise en effet la carte AST-YS08 qui a été développée selon les standards CLSI. Les méthodes et référentiels suivis par la méthode Micronaut-AM (Bruker) sont par contre ceux de l'EUCAST. La méthode de microdilution EUCAST est une technique européenne dérivée de la méthode CLSI. Elle s'en distingue par une concentration supérieure en glucose du milieu de culture (2% au lieu de 0,2%), un inoculum plus dense ($1-5 \times 10^5$ UFC au lieu de $0,5-2,5 \times 10^3$ UFC), une lecture par spectrophotométrie et l'utilisation d'un puits à fond plat. Il est à noter que seule la méthode de microdilution (méthode Eucast v.7.3.2 ou CLSI M27) non commercialisée est considérée comme méthode de référence, même si de nombreux ouvrages ont documenté un bon agrément des autres méthodes commerciales avec la méthode de référence[19–23]. L'utilisation du référentiel correspondant à la méthode utilisée pour l'interprétation des résultats par les différents laboratoires n'a pu être discutée dans ce rapport car l'information n'était pas disponible pour toutes les méthodes.

Parmi les laboratoires ayant effectué un antifongogramme, 75/78 (96%) ont rendu un profil résistant (R) pour le **fluconazole** comme attendu (résultat final déterminé en consensus par plusieurs laboratoires experts). Deux laboratoires ont répondu un profil intermédiaire (I) (méthode Vitek 2 avec référentiel CLSI mais lié à une erreur d'interprétation car CMI=16µg/ml) et un laboratoire a dit ne pas pouvoir interpréter le résultat en l'absence de guidelines. Le CLSI émet bel et bien des guidelines pour le fluconazole considérant une souche résistante lorsque la CMI est $\geq 8\mu\text{g/ml}$ [24]. Les méthodes comme le Micronaut sont fondées sur les guidelines EUCAST qui définissent une souche comme résistante au fluconazole lorsque la CMI est $>4\mu\text{g/ml}$ [25,26].

Pour le **voriconazole**, parmi les 67 laboratoires ayant testé l'antifongique, 60 (90%) ont rendu une interprétation R comme attendu, 3 ont rendu une interprétation I et 3 autres une interprétation sensible (S) tandis qu'un laboratoire n'a pas pu interpréter la valeur de CMI obtenue. Les 6 résultats I et S ont tous été obtenus avec la méthode Vitek 2 et le référentiel EUCAST a été utilisé dans 5/6 cas. La firme bioMérieux préconise d'interpréter les résultats obtenus par le Vitek avec la norme CLSI, le référentiel EUCAST a donc été utilisé dans 5/6 cas de manière erronée. Pour les trois résultats rendus I, la CMI est $=2\mu\text{g/ml}$ et doivent donc être définis R que ce soit avec la norme CLSI ou EUCAST, pour un des résultats rendu S, la CMI est de $1\mu\text{g/ml}$ et le laboratoire a déclaré utiliser le référentiel EUCAST, il s'agit donc ici à nouveau d'une erreur d'interprétation de la part des laboratoires concernés. Le CLSI définit une souche R au voriconazole lorsque la CMI est $\geq 1\mu\text{g/ml}$. La norme EUCAST définit quant à elle une souche R au voriconazole lorsque la CMI est $>0.25\mu\text{g/ml}$. Concernant l'**itraconazole**, la norme CLSI M60 ne rend pas d'interprétation pour cet antifongique mais étant donné les valeurs de CMI élevées obtenues (majoritairement $\geq 1\mu\text{g/ml}$), un profil résistant de la souche pour cet antifongique peut être supposé, même si en pratique, aucune

interprétation des résultats ne peut être rendue lorsque ce référentiel est utilisé. L'EUCAST définit une souche comme R à l'itraconazole lorsque la CMI est $>0.06\mu\text{g/ml}$. Parmi les réponses rendues, 25/28 (89,2%) des laboratoires ont rendu un profil R, un laboratoire a rendu un profil S (CMI =1 avec méthode de microdilution et CLSI mais le laboratoire a précisé en commentaires que le CLSI ne définissait pas de breakpoints, il s'agit donc d'une erreur d'encodage) et un laboratoire n'a pas interprété. 13/28 laboratoires ont déclaré utiliser la norme M60 CLSI pour l'interprétation et n'auraient donc pas dû rendre une interprétation pour l'itraconazole. Qui plus est, étant donné qu'il s'agissait d'une hémoculture, l'intérêt de tester l'itraconazole est non significatif puisque l'administration de cet antifongique n'est pas envisagée dans le traitement des candidémies.

Pour le **posaconazole**, la norme CLSI M60 ne permet pas non plus l'interprétation des valeurs de CMI. En regard des CMI obtenues, un profil R est cependant probable pour le posaconazole. L'EUCAST définit une souche R au posaconazole à partir d'une CMI $>0.06\mu\text{g/ml}$. 21/26 (81,3%) des laboratoires ont rendu un profil R au posaconazole, 2 un profil S (méthode de microdilution et CLSI avec une CMI de 0.5 et $1\mu\text{g/ml}$) et 3 n'ont pas interprété. 11/26 laboratoires ont déclaré utiliser la norme CLSI pour l'interprétation des résultats. En l'absence de valeur seuil définie par le CLSI, aucun résultat n'aurait dû être interprété par ces laboratoires. En règle générale, les résultats pour le posaconazole ne sont pas rendus pour les *Candida* sp. car l'administration de cet antifongique n'est pas envisagée dans le traitement des candidémies.

Concernant l'**amphotéricine B** pour laquelle le CLSI ne donne pas d'interprétation, les CMI obtenues sont en majorité très basses laissant présager un profil S du *C. albicans* testé. La norme EUCAST définit quant à elle une souche R si la CMI est $>1\mu\text{g/ml}$. 58/61 (95%) des laboratoires ont rendu un résultat S pour cet antifongique, un laboratoire a rendu une interprétation I (CMI = $1\mu\text{g/ml}$ avec méthode de microdilution et CLSI) et deux laboratoires n'ont pas interprété. 16/61 laboratoires ont déclaré avoir utilisé le référentiel CLSI pour l'interprétation des résultats et n'auraient donc pas dû interpréter ces valeurs en l'absence de « breakpoints » définis par cette norme.

Concernant les **échinocandines**, la souche a été caractérisée comme sensible à cette classe d'antifongique. 57/63 (90%) laboratoires ont rendu un résultat S pour la **caspofungine**, un laboratoire a rendu un résultat I (avec méthode de microdilution et CLSI) et 4 laboratoires ont rendu un résultat R (4/4 avec méthode de microdilution et EUCAST, avec valeur de CMI de $2 \times 0.12 \text{ mg/L}$; 0.125 mg/L ; $\geq 8 \text{ mg/L}$). Concernant l'**anidulafungine**, 35/43 (81.9%) laboratoires ont répondu un profil S, un laboratoire un profil I (microdilution et CLSI) et 6 autres un profil R pour cet antifongique (6/6 avec méthode microdilution et EUCAST). 7/7 (100%) laboratoires ayant testé la micafungine ont rendu un profil S comme attendu pour cet antifongique. Comme décrit précédemment, la résistance aux échinocandines est assez rare chez *C. albicans* et doit systématiquement faire l'objet d'une vérification par le CNR. La raison pour laquelle une minorité des laboratoires ont trouvé un profil résistant pour l'anidulafungine et la caspofungine semble s'expliquer par l'utilisation de la méthode de microdilution et du référentiel EUCAST pour l'interprétation. Ces résultats R pour les échinocandines (tant pour caspofungine qu'anidulafungine) ont en effet, été obtenus par la méthode de microdilution exclusivement associée au référentiel EUCAST. En effet, ce référentiel définit une

souche R à l'anidulafungine lorsque la CMI est supérieure à 0.03µg/ml, 5/6 valeurs de CMI rendues R pour l'anidulafungine sont assez basses (3 x 0.12 µg/ml; 0.125 µg/ml; 0.25 µg/ml; ≥8 µg/ml) et 3/4 valeurs rendues pour la caspofungine également (2 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; ≥8 mg/L). Les normes CLSI définissent *C. albicans* comme sensible à l'anidulafungine/caspofungine jusqu'à des valeurs de CMI ≤0.25µg/ml. En regard des résultats décrits ci-dessus, on peut envisager que l'interprétation définie par l'EUCAST pourrait surestimer un peu le taux de souches réellement R aux échinocandines. Il reste également à déterminer si le laboratoire a utilisé le bon référentiel associé à la méthode utilisée. Ce facteur ne peut pas être évalué dans ce rapport faute d'informations suffisantes. Un séquençage avec recherche de mutations au niveau du gène Fks permettrait de déterminer s'il s'agit réellement de souches résistantes aux échinocandines ou d'une surestimation liée à la méthode EUCAST (ou utilisation du mauvais référentiel en regard de la méthode), ce qui en regard de la majorité des résultats obtenus par l'ensemble des laboratoires, semble assez probable. Une étude décrite dans la littérature a par ailleurs déjà démontré une excellente capacité du Sensititre YeastOne et de la méthode de microdilution CLSI à détecter les souches résistantes aux échinocandines en considérant comme gold standard le séquençage du gène Fks[27,28].

Les laboratoires ont soit utilisé des méthodes de diffusion en gélose (type E-test, MIC test strip), des méthodes de microdilution (Sensititre, Micronaut, autre) ou le Vitek pour la détermination des CMI. Un seul laboratoire a utilisé des disques en papier et deux laboratoires ont utilisé les disques Neosensitab pour la détermination de la sensibilité à divers antifongiques.

Après analyse, on ne distingue pas clairement de méthode qui semble donner de meilleurs résultats parmi celles utilisées. A noter tout de même, que la méthode Vitek induit pour le voriconazole notamment, 2 résultats S non justifiés par des erreurs d'interprétation de la part des laboratoires alors que la souche est présumée R à cet antifongique, laissant envisager une lacune de cette méthode pour la détection de la résistance à cet antifongique. Une étude de la littérature définit toutefois un bon taux d'accord entre le Vitek et les méthodes de microdilution pour *Candida* sp. en général[19–21,30].

A la question de savoir si cette souche serait envoyée au CNR, 50/125 (40%) laboratoires ont répondu que la souche ne serait pas envoyée. Etant donné le caractère atypique du profil de résistance aux azolés de cette souche de *C. albicans*, un envoi vers un centre de référence est fortement recommandé. En effet, selon une étude récente, *C. albicans* présente un taux de résistance aux azolés de l'ordre de 0.6 à 1.7% justifiant un envoi au CNR si un profil résistant à cette classe d'antifongiques est observé quelle que soit l'origine du prélèvement[31].

Références

1. Ghosh AK, Paul S, Sood P, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the rapid identification of yeasts causing bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect.* **2015**; .
2. Normand AC, Gabriel F, Riat A, et al. Optimization of MALDI-ToF mass spectrometry for yeast identification: A multicenter study. *Med Mycol.* **2019**; .
3. Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, Borman AM, Johnson EM. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-ToF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol.* **2016**; .
4. Sendid B, François N, Standaert A, et al. Prospective evaluation of the new chromogenic medium CandiSelect 4 for differentiation and presumptive identification of the major pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol.* **2007**; .
5. Qadri SMH, Nichols CW. Tube carbohydrate assimilation method for the rapid identification of clinically significant yeasts. *Med Microbiol Immunol.* **1978**; .
6. Jan A, Bashir G, Altaf I, Fomda BA, Hamid S, Jan K. Evaluation of various phenotypic methods for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Microbiol Methods.* **2022**; .
7. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristics and identification. *J. Clin. Microbiol.* 1998.
8. Mähniß B, Stehr F, Schäfer W, Neuber K. Comparison of standard phenotypic assays with a PCR method to discriminate *Candida albicans* and *C. dubliniensis*. *Mycoses.* **2005**; .
9. Williams DW, Coulter WA, Wilson MJ, Potts AJC, Lewis MAO. Identification of *Candida dubliniensis*, based on ribosomal DNA sequence analysis. *Br J Biomed Sci.* **2001**; .
10. Hof H, Eigner U, Maier T, Staib P. Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* by means of MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Clin Lab.* **2013**; .
11. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2015.
12. Coste AT, Kritikos A, Li J, et al. Emerging echinocandin-resistant *Candida albicans* and *glabrata* in Switzerland. *Infection.* **2020**; .
13. Arendrup MC, Perlin DS. Echinocandin resistance: An emerging clinical problem? *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2014.
14. Perlin DS. Echinocandin Resistance in *Candida*. *Clin Infect Dis.* **2015**; .
15. Xiang MJ, Liu JY, Ni PH, et al. Erg11 mutations associated with azole resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.* **2013**; .
16. Liu JY, Shi C, Wang Y, Li WJ, Zhao Y, Xiang MJ. Mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from Shanghai, China. *Res Microbiol.* **2015**; .

17. Flowers SA, Colón B, Whaley SG, Schuler MA, David Rogers P. Contribution of clinically derived mutations in ERG11 to azole resistance in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother.* **2015**; .
18. Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, Nishimoto AT, Barker KS, Rogers PD. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* Species. *Front. Microbiol.* 2017.
19. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, et al. Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the Sensititre YeastOne and Etest techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates. *J Clin Microbiol.* **2010**; .
20. Posteraro B, Martucci R, Sorda M La, et al. Reliability of the vitek 2 yeast susceptibility test for detection of in vitro resistance to fluconazole and voriconazole in clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol.* **2009**; .
21. Melhem MSC, Bertoletti A, Lucca HRL, Silva RBO, Meneghin FA, Szeszs MW. Use of the VITEK 2 system to identify and test the antifungal susceptibility of clinically relevant yeast species. *Brazilian J Microbiol.* **2013**; .
22. Espinel-Ingroff A. Etest for antifungal susceptibility testing of yeasts. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **1994**; .
23. Meletiadis J, Mouton JW, Meis JFGM, et al. Comparison of the Etest and the Sensititre colorimetric methods with the NCCLS proposed standard for antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* species. *J Clin Microbiol.* **2002**; .
24. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2nd ed. CLSI supplement M60. *Clin Lab Stand Inst.* **2020**; .
25. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope WW. Breakpoints for antifungal agents: An update from EUCAST focussing on echinocandins against *Candida* spp. and triazoles against *Aspergillus* spp. *Drug Resist. Updat.* 2013.
26. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, et al. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST). *Clin Microbiol Infect.* **2012**; .
27. Kritikos A, Neofytos D, Khanna N, et al. Accuracy of Sensititre YeastOne echinocandins epidemiological cut-off values for identification of FKS mutant *Candida albicans* and *Candida glabrata*: a ten year national survey of the Fungal Infection Network of Switzerland (FUNGINOS). *Clin Microbiol Infect.* **2018**; .
28. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: Integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resist Updat.* **2011**; .
29. Espinel-Ingroff A, Alvarez-Fernandez M, Cantón E, et al. Multicenter Study of Epidemiological

- Cutoff Values and Detection of Resistance in *Candida* spp. to Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin Using the Sensititre YeastOne Colorimetric Method. *Antimicrob Agents Chemother.* **2015**; .
30. Vijgen S, Nys S, Naesens R, Magerman K, Boel A, Cartuyvels R. Comparison of Vitek identification and antifungal susceptibility testing methods to DNA sequencing and Sensititre YeastOne antifungal testing. *Med Mycol.* **2010**; .
 31. Bassetti M, Vena A, Bouza E, et al. Antifungal susceptibility testing in *Candida*, *Aspergillus* and *Cryptococcus* infections: are the MICs useful for clinicians? *Clin. Microbiol. Infect.* 2020.

2.2. Culture M/18253 *Streptococcus canis*

Streptococcus canis appartient au groupe des streptocoques β -hémolytiques et antigéniquement au groupe G de Lancefield. *S. canis* donne principalement lieu à des infections chez les chiens et les chats et est rarement isolé chez l'homme. S'il est quand-même retrouvé chez l'homme, il y a souvent eu un contact avec des chiens. Les infections des tissus mous et les bactériémies ont déjà été décrites, souvent chez des patients diabétiques, chez des patients avec une néoplasie ou en cas de facteurs de risques cardiovasculaires (1).

La distinction entre *S. pyogenes*, *S. dysgalactiae* et *S. canis* par la technique de Matrix Assisted Laser Desorption-Time of Flight (MALDI-TOF) peut être un challenge. Quand l'analyse est effectuée avec le MALDI-TOF de Bruker, il crée automatiquement dans les résultats la remarque: « *Species canis/dysgalactiae/equi/pyogenes* of the genus *Streptococcus* have very similar patterns ». Le MALDI-TOF de BioMérieux (VITEK® MS) ne donne pas de remarque spécifique pour l'identification de *S. canis*.

Au total nous avons reçu 12 résultats erronés. Six laboratoires ont répondu erronément *Streptococcus dysgalactiae*, 6 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. Quatre de ces laboratoires ont utilisé le MALDI-TOF de Bruker, 2 identifications ont été obtenues avec le système API, 1 avec Microscan, 2 avec les méthodes classiques et 3 avec la carte Vitek ID.

Streptococcus dysgalactiae est un pathogène qui peut aussi bien être retrouvé chez les animaux que chez les hommes. La présentation clinique est souvent semblable à celle des streptocoques de groupe A. *S. dysgalactiae* est sub-divisé en *dysgalactiae* subsp. *equisimilis* et *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*.

Dans un article récent de Nybakken et ses collaborateurs des souches de *S. dysgalactiae* et *S. canis* ont été identifiées par le séquençage 16S rARN et comparées avec le résultat du MALDI-TOF (Bruker). Toutes les souches *S. canis* (n=109) ont été identifiées correctement par MALDI-TOF. Un des 217 isolats de *S. dysgalactiae* a été identifié erronément comme *S. canis* avec une consistency category A (2).

Nos résultats montrent une identification fautive de 9.6%. Au total il y avait 4 résultats fautifs du MALDI-TOF Bruker, ce qui correspond à 5.5% (4/72) d'identifications fautives des utilisateurs de Bruker. Tous les utilisateurs du 26 VITEK® MS avaient une identification correcte.

Le centre de référence pour les streptocoques β -hémolytiques conseille de faire une distinction entre *S. canis* et *S. dysgalactiae*, surtout s'il s'agit d'un échantillon invasif. On peut leur envoyer les souches de (potentiellement) *S. canis* pour une interprétation approfondie. Pour ce faire on peut indiquer *Streptococcus* species sur le formulaire de demande du CNR. Ils effectuent toujours un typage emm. S'ils ne détectent pas le gène codant pour la protéine M, cela suggère *S. canis*. Un séquençage 16S peut le confirmer.

En conclusion les résultats du MALDI-TOF Bruker ne peuvent pas être acceptés sans vérification/validation ultérieure.

Références

1. Galperine T, Cazorla C, Blanchard E, Boineau F, Ragnaud JM, Neau D. *Streptococcus canis* infections in humans: retrospective study of 54 patients. *J Infect.* 2007;55(1):23-6.
2. Nybakken EJ, Oppegaard O, Gilhuus M, Jensen CS, Mylvaganam H. Identification of *Streptococcus dysgalactiae* using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry; refining the database for improved identification. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;99(1):115207.

2.3. Culture M/18588 complexe *Burkholderia cepacia*

La souche envoyée était une *Burkholderia cenocepacia*, mais sans analyse par séquençage d'ADN (voir ci-dessous) une telle souche devrait être rapportée comme complexe *Burkholderia cepacia*. Le genre *Burkholderia* contient maintenant plus de 100 espèces de bacilles à Gram négatif aérobies non-sporulés, dont la majorité est cultivée à partir du sol et de l'eau. Plusieurs espèces ont été cultivées à partir d'échantillons humains, mais seuls les complexes *Burkholderia cepacia* (BCC), *B. gladioli*, *B. mallei* et *B. pseudomallei* sont considérés comme pathogènes humains.

Ayant une capacité de survivre dans des milieux aqueux, les espèces du genre *Burkholderia* posent problème comme pathogènes nosocomiaux opportunistes dans les hôpitaux et autres institutions de soin. En raison de leur résistance intrinsèque aux antibiotiques et produits désinfectants, ces bactéries sont retrouvées au cours d'épidémies dans les produits pharmaceutiques, dispositifs et produits médicaux (par exemple liquide de rinçage buccal), gels d'échographie, désinfectants cutanés et médicaments topiques.

Au sein du genre, le BCC est particulièrement craint chez les patients souffrant de mucoviscidose. Ce groupe d'espèces très apparentées compte actuellement 24 espèces. Les études épidémiologiques avec analyses génotypiques chez ces patients ont montré que certains clones BCC peuvent se disséminer entre les patients muco et causer une détérioration rapide de la fonction pulmonaire, parfois appelé le « syndrome cepacia », ce qui entraîne leur isolement par rapport aux patients non-colonisés. La colonisation par BCC est également associée à une morbidité et une mortalité élevées après transplantation pulmonaire menant à l'exclusion de ces patients de cette option thérapeutique. Alors que les espèces *B. cenocepacia* et *B. dolosa* semblent être plus virulentes, on attend encore les résultats d'études comparatives pour conclure si ce mauvais pronostic est lié à l'espèce ou à des clones spécifiques. La surveillance des BCC est effectuée par les deux laboratoires CNR : il est conseillé d'envoyer tous les isolats du genre *Burkholderia* à l'UZ-Brussel pour une caractérisation rapide et les tests de sensibilité aux antibiotiques. Les souches sont ensuite envoyées à l'UGent pour un séquençage du gène *recA* et un typage MLST pour déterminer avec certitude l'identification à l'espèce et la clonalité des isolats. Ceci est important étant donné que les techniques d'identification ne sont pas fiables jusqu'au niveau de l'espèce. La spectrométrie MALDI-TOF est fiable jusqu'au niveau du complexe *Burkholderia cepacia* (BCC), mais pas au niveau de l'espèce. Dans cette EEQ était incluse une *B. cenocepacia* et 47 laboratoires ont rapporté complexe *Burkholderia cepacia* (BCC), tandis qu'une plus ample identification n'est pas fiable, comme démontré par le rapportage de *B. cepacia* par 16.8% des laboratoires. Un laboratoire a commis une erreur majeure en rapportant *B. mallei*. Seuls 53 des 125 laboratoires enverraient la souche au CNR, alors qu'il était clairement indiqué que l'échantillon provenait d'un patient souffrant de mucoviscidose, mais on peut probablement l'expliquer par le fait que ces patients sont suivis dans des centres spécialisés, qui en connaissent mieux l'intérêt.

Les patients souffrant de mucoviscidose peuvent également être colonisés par une espèce qui n'appartient pas au BCC, à savoir *B. gladioli*. En plus de ces espèces, il y a encore 2 autres espèces qui sont d'une grande importance dans la médecine à cause d'un tableau clinique grave: *B. pseudomallei*, responsable de mélioiïdose et *B. mallei*, responsable de la morve. Ces deux micro-organismes de niveau 3 de biosécurité doivent être manipulés avec les plus grandes précautions et confirmés par le laboratoire de Sciensano.

Les espèces de *Burkholderia* poussent bien sur les milieux de culture de routine tels que la gélose MacConkey, mais on conseille d'utiliser des milieux spécifiques pour les prélèvements provenant des patients souffrant de mucoviscidose pour limiter la croissance d'autres espèces, e.a. *P. aeruginosa*. Plusieurs milieux sont disponibles commercialement et devraient être utilisés systématiquement pour le suivi des patients souffrant de mucoviscidose. Il est en effet important de détecter la colonisation rapidement afin de prendre des mesures plus strictes pour la prévention d'infection.

Les espèces de BCC sont une des bactéries les plus résistantes aux antibiotiques. Elles sont intrinsèquement résistantes aux aminoglycosides, aux polymyxines et elles sont souvent résistantes à la plupart des autres classes d'antibiotiques. Une étude du CNR a montré que plus de 80% des souches sont in vitro sensibles à la triméthoprim-sulfaméthoxazole et à la ceftazidime-avibactam, alors que 50% sont sensibles à la témocilline, à la ceftazidime, à la pipéracilline-tazobactam, au méropénem et à la ceftolozane-tazobactam. Il faut souligner que ces résultats in vitro ne sont pas corrélés avec les données cliniques et l'EUCAST constate qu'il est impossible de déterminer des breakpoints pour un micro-organisme qui n'est retrouvé presque exclusivement dans des mélanges et des biofilms. Les valeurs de CMI peuvent être données sans interprétation catégorielle et les

cliniciens devront juger et décider du choix de traitement pour chaque patient individuellement en se basant sur les données in vitro, la réponse clinique préalable et leur propre expérience.

D; Pierard; I. Wybo, UZ VUB

Guidance document: Antimicrobial susceptibility testing of Burkholderia cepacia complex (BCC)
[BCC susceptibility testing 130719.pdf \(eucast.org\)](#)

2.4. Culture M/18740 *Pseudomonas aeruginosa*

Il s'agit d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée dans une hémoculture chez un patient immunodéprimé. La souche est résistante de haut niveau au pipéracilline/tazobactam (PTZ), aux céphalosporines de 3^{ème} (ceftazidime) et 4^e génération (céfépime), à la ceftazidime/avibactam (CAZ/AVB), au ceftolozane/tazobactam (CTL/TZB) et aux carbapénèmes (imipénème et méropénème), alors qu'elle reste sensible à posologie élevée à l'aztréonam (ATM) selon la version 2022 des recommandations EUCAST. Cette souche est qualifiée de multirésistante (MDR) puisqu'elle est également résistante aux fluoroquinolones (ciprofloxacine) et aux aminoglycosides (amikacine et tobramycine). Ce profil de résistance aux beta-lactamines est typique d'une souche de *P. aeruginosa* productrice de carbapénémase (CPPA) de type VIM. Par ailleurs, la souche est sensible à la colistine, à la fosfomycine et au céfidécolol (options thérapeutiques de dernière ligne). La carbapénémase de type VIM (essentiellement VIM-2) est actuellement l'enzyme la plus fréquemment rencontrée en Belgique chez les CPPA. La grande majorité (95%) de cette CPPA présente le plus souvent un haut niveau d'expression de la résistance aux carbapénèmes avec une CMI méropénème >8 µg/ml. Faisant partie des metallo-β-lactamases (MBL) de classe B d'Ambler, une souche VIM-positive est toujours résistante aux antibiotiques avec inhibiteurs de β-lactamases de classe A/B/D dont la combinaison CTL/TZB et CAZ/AVB, alors que 2/3 des CPPA restent sensibles à l'aztréonam (en l'absence d'autres mécanismes de résistance à l'aztréonam).

L'émergence et la dissémination de souches de *P. aeruginosa* multirésistantes (MDR) et extrêmement résistantes aux médicaments (XDR) constituent de sérieux problèmes de santé publique pour plusieurs raisons. D'abord, *P. aeruginosa* provoque des infections graves, en particulier dans les institutions de soins de santé et chez les patients immunodéprimés. Ensuite, il a une capacité exceptionnelle à être sélectionné et à propager la résistance antimicrobienne in vivo soit via le transfert horizontal d'éléments mobiles de résistance, soit par la dissémination verticale des clones dits « à haut risque ». Enfin, Le manque d'alternatives thérapeutiques pour traiter les infections causées par ces bactéries MDR/XDR représente un poids considérable en termes de morbidité et de mortalité. L'Organisation mondiale de la santé a fait figurer depuis 2017 *P. aeruginosa* résistant aux carbapénèmes dans le groupe de « priorité critique » pour lequel le développement de nouveaux antibiotiques représente une urgence [1].

Au cours des dernières décennies, diverses définitions des profils MDR de *P. aeruginosa* ont été utilisées ont rendu difficile le suivi et la comparabilité des programmes de surveillance au cours du temps. Actuellement en utilisant les nouvelles définitions des catégories SIR d'EUCAST (version à partir de 2020) [2], la MDR selon la surveillance européenne EARS-Net (souches invasives) est définie comme la résistance à au moins un agent dans au moins 3 classes d'antibiotiques parmi les 5 groupes d'antibiotiques suivants testés : pipéracilline/tazobactam, ceftazidime, carbapénèmes, aminoglycosides, fluoroquinolones [3]. La surveillance belge NSIH-AMR (souches hospitalières de prélèvements cliniques) a redéfini les critères de MDR similaires à celles d'EARS-Net avec comme différence principale l'exclusion de pipéracilline/tazobactam [4]. La prévalence de *P. aeruginosa* MDR se situe actuellement autour de 15% en Europe avec des différences géographiques importantes. En Belgique, les surveillances EARS-Net et NSIH-AMR ont montré des taux de *P. aeruginosa* MDR de 5.9% et de 6.2% respectivement en 2019 [3, 4], des taux qui demeurent stables avec toutes les limites d'interprétation de ces données.

L'analyse de l'épidémiologie moléculaire des isolats cliniques et environnementaux de *P. aeruginosa* révèle généralement une grande diversité clonale. Cependant, si cette observation est vraie surtout pour isolats sensibles aux antibiotiques, des clones « à haut risque » ont été identifiés parmi des souches MDR/XDR et qui sont responsables d'épidémies hospitalières à travers le monde [5]. En Belgique la caractérisation moléculaire portant sur 65 souches *P. aeruginosa* productrice de VIM carbapénémase collectées dans 27 hôpitaux belges lors de l'étude de surveillance en 2016 [6] a montré la prédominance persistante du ST111 (sérotypage O12) et du ST235 (sérotypage O11) largement distribués dans les hôpitaux belges (avec des clusters épidémiques identifiés) et qui correspondent aux clones internationaux à haut risque (La souche M18740 fait partie du clone ST111). Néanmoins, la pathogénicité des clones à haut risque épidémique est variable et encore fortement débattue [7].

Au niveau diagnostique de production de carbapénémase sur colonies, rappelons que de nombreux tests utilisés pour le diagnostic des *Enterobacterales* productrices de carbapénémase (CPE), tels que l'hydrolyse des carbapénèmes par tests colorimétriques ou par MALDI-TOF MS, les tests immunochromatographiques pour la détection d'antigènes spécifiques ou les tests moléculaires, conviennent aussi pour le screening et la confirmation de la présence des principales

carbapénémases de type MBL chez les CPPA (VIM, IMP, NDM...). Les tests d'hydrolyse de carbapénème ont en général une excellente sensibilité et spécificité de >95% pour la détection de MBL des CPPA, mais leur sensibilité est médiocre pour les rares carbapénémases non-MBL par exemple de type GES [8]. Les tests immunochromatographiques ont en théorie une sensibilité et une spécificité maximales, mais peuvent parfois rater certains variants de carbapénémase non-couverts par les anticorps monoclonaux incorporés du test [9]. Il est attendu que leur utilisation plus fréquente contribue à l'amélioration de performance et de rapidité de détection des CPPA par les laboratoires de microbiologie. Les tests de diffusion des disques de carbapénème avec ou sans inhibiteurs de carbapénémase de classe B (ex : imipénème ±EDTA, meropénème ±DPA) permettent une détection de CPPA et une orientation vers une MBL avec en général une excellente sensibilité >95% mais une spécificité modérée [10], ce qui nécessite souvent la confirmation par une autre méthode. A noter que l'utilisation de test similaire avec inhibiteur de carbapénémase de classe A de type KPC (acide boronique) est à proscrire pour les *P. aeruginosa* en raison de risque majeur de fausse positivité due à l'hyperproduction de céphalosporinase AmpC et l'absence de KPC chez *P. aeruginosa* dans nos régions.

Au niveau de la prévention de la transmission des *P. aeruginosa* MDR, les recommandations internationales de prise en charge restent très hétérogènes en l'absence de consensus. Selon le dernier avis du Conseil Supérieur de la Santé [11], il est suggéré de mettre en place les mesures d'isolement et de précautions additionnelles de type contact pour un patient hospitalisé porteur de *P. aeruginosa* MDR (surtout productrice de carbapénémase) après évaluation de risque local. Par ailleurs, seuls des clusters/épidémie dans des unités à risque (p.ex. USI, transplantés et immunodéprimés) requièrent l'instauration de prélèvements de dépistages (sites respiratoires et cutanéomuqueuses) avec une attention particulière sur les mesures de nettoyage – désinfection de l'environnement qui peut constituer un réservoir humide facilitateur de transmission dans certaines épidémies non contrôlées.

Le traitement des infections à *P. aeruginosa* MDR représente toujours un défi avec des possibilités souvent très limitées. Les choix de molécules doivent se baser sur la sensibilité résiduelle (en déterminant les CMI) des anti-Pseudomonas classiques et l'association de plusieurs molécules est souvent nécessaire avec une efficacité clinique supérieure aux monothérapies. L'aztreonam à haute dose peut être considérée en association pour traiter une CPPA produisant une MBL en l'absence d'autre mécanismes de résistance aux β -lactamines. Les aminoglycosides pourraient être aussi utilisés en association s'ils sont actifs contre les souches MDR/XDR de *P. aeruginosa*. Il est à noter que sur base PK-PD et au contraire de la tobramycine et de l'amikacine, la gentamicine a une activité anti-pyocyanique jugée insuffisante (seuil épidémiologique ECOFF =8 mg/l) pour une efficacité clinique, ce qui explique son retrait d'interprétation catégorielle clinique (IE) de la version actuelle d'EUCAST [2]. La fosfomycine par son activité bactéricide est une autre possibilité en IV en thérapie combinée, mais la résistance est fréquente y compris son développement pendant le traitement [12]. Parmi les nouveaux anti-infectieux anti-Pseudomonas, deux antibiotiques issus de la combinaison d'anciens et de nouveaux antibactériens ont été commercialisés ces dernières années pour les *P. aeruginosa* MDR/XDR. Le ceftolozane-tazobactam (CTL/TZB) est une association efficace en combinant le ceftolozane avec une inhibition plus efficace de la céphalosporinase chromosomique AmpC même hyperproduite du *P. aeruginosa*, avec le tazobactam qui inhibe d'autres β -lactamases de classe A et de classe D. La ceftazidime-avibactam (CAZ/AVB) constitue une autre nouvelle option thérapeutique. L'avibactam agit comme un inhibiteur à large spectre contre les enzymes (dont certaines carbapénémases) de classe A, C et D et restore l'activité de la ceftazidime en évitant l'hydrolyse (surtout par l'AmpC) chez *P. aeruginosa*. Alors que les deux associations (CTL/TZB et CAZ/AVB) présentent une bonne activité (taux de sensibilité 60%-70% selon les données du CNR BGNMR) contre des souches *P. aeruginosa* MDR/XDR (non-MBL), elles sont en revanche inactives contre les carbapénémases [12].

Pour le traitement des *P. aeruginosa* XDR que sont souvent les souches CPPA productrices de MBL et qui résistent à ces nouveaux antibiotiques souvent coûteux ou encore peu disponibles, la colistine (représentant les polymyxines) demeure souvent la seule molécule classique de dernière ligne à considérer. Depuis plusieurs années, les seuils de sensibilité à la colistine ont fait l'objet de discussions aussi bien au sein de l'EUCAST et du CLSI qui ont mis en évidence certaines limites de son utilisation clinique. D'abord le seuil de sensibilité clinique pour *P. aeruginosa* a été remis à ≤ 4 mg/l (=ECOFF) pour éviter de diviser la population sauvage et en reconnaissant la mauvaise reproductibilité du test pour une CMI à 4 mg/l (ATU dans la version EUCAST 2021). Ensuite les données cliniques et de PK/PD ont montré que <50 % des patients ayant une fonction rénale normale obtiennent une exposition adéquate à la colistine (en particulier dans la pneumonie) tout en

étant associé à un risque élevé de néphrotoxicité. Enfin, des études cliniques démontrent systématiquement une mortalité accrue pour les polymyxines utilisées en monothérapie par rapport à d'autres agents [13]. Pour ces raisons, la dernière version d'EUCAST 2022 recommande d'utiliser ce seuil à 4 mg/l pour *P. aeruginosa*, mais d'inclure un commentaire dans le rapport: « Dans les infections systémiques, la colistine doit être utilisée en association avec autre agent actif » [2]. La résistance à la colistine de plus haut niveau (CMI >4) chez *P. aeruginosa* reste très rare et apparaît qu'en cas d'exposition préalable à la colistine (le traitement des infections par les souches MDR/XDR, mucoviscidose...) et résulte surtout de la modification du lipopolysaccharide (LPS) suite à des mutations liées aux systèmes de régulation PmrAB et PhoPQ. Nous rappelons de nouveau que la seule méthode recommandée par EUCAST (et CLSI) pour la détermination de sensibilité à la colistine est la microdilution liquide et que les méthodes de diffusion sont à éviter [14].

Enfin, le céfidérocol est un nouvel antibiotique prometteur pour le traitement des Gram-négatifs MDR/XDR dont les *P. aeruginosa* MBL. Il s'agit d'une céphalosporine sidérophore avec une stabilité élevée contre les diverses β -lactamases de toutes les classes d'Ambler, y compris les MBL. De nombreuses études in vitro ont démontré une excellente activité conservée du céfidérocol contre différents Gram-négatifs MDR/XDR difficiles à traiter (*Enterobacterales*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* et *S. maltophilia*). Les dernières études cliniques de phase 3 montrent des données prometteuses avec une non-infériorité (APEKS-NP) aux meilleurs traitements disponibles (MTD), mais une étude (CREDIBLE-CR) a montré une mortalité globale plus élevée avec le céfidérocol par rapport au MTD pour le traitement des infections graves à Gram-négatifs résistantes aux carbapénèmes [15]. La détermination de la CMI au céfidérocol peut se faire par microdilution en bouillon à condition d'utiliser un milieu MH déplété en fer. La méthode de diffusion du disque de céfidérocol sur MH agar standard semble offrir une alternative fiable pour exclure une résistance au céfidérocol [16].

Lors de cette EEQ 2022-1, cette souche M18740 a bien été identifiée comme *P. aeruginosa* avec son caractère MDR chez la quasi-totalité des 124 laboratoires. Seul l'aztréonam a présenté une certaine variabilité de résultat S (47%) /I (35%) /R (18%), probablement explicable d'une part par son niveau de CMI (8-16 mg/l) proche du seuil clinique ($S \leq 16$ mg/l) et d'autre part par les versions différentes de recommandations EUCAST utilisées (I vs S avant 2020). Il est rassurant d'observer que 81% des labos (proportion identique en 2019 et 2022) ont signalé un intérêt d'hygiène hospitalière du fait de son pouvoir épidémique potentiel, même si seulement 40% des labos ont mentionné la présence d'une carbapénémase.

Te-Din Daniel Huang

CNR des Bacilles Gram-négatifs multirésistants, CHU UCL Namur

Références :

1. Tacconelli, E., et al., *Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis*. Lancet Infect Dis, 2018. **18**(3): p. 318-327.
2. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical breakpoints version 12.0*. In *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2022 1 March 2022, date last accessed]; Available from: <http://www.eucast.org>.
3. European Centre for Disease Prevention and Control, *Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) Annual Epidemiological Report 2019* Stockholm: ECDC, 2020.
4. Sciensano. *Surveillance of antimicrobial resistance in Belgian hospitals. Feedback: 2019*. 2020.
5. Woodford, N., J.F. Turton, and D.M. Livermore, *Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance*. FEMS Microbiol Rev, 2011. **35**(5): p. 736-55.
6. Anantharajah, A. *Molecular characterization of VIM-producing Pseudomonas aeruginosa isolates in Belgium*. in *In: Abstracts of the 32th Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 2019*. 2019. Abstract no P073.
7. Juan, C., C. Pena, and A. Oliver, *Host and Pathogen Biomarkers for Severe Pseudomonas aeruginosa Infections*. J Infect Dis, 2017. **215**(suppl_1): p. S44-S51.
8. Noel, A., et al., *Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria*. J Clin Microbiol, 2017. **55**(2): p. 510-518.
9. Volland, H., et al., *Improvement of the Immunochromatographic NG-Test Carba 5 Assay for the Detection of IMP Variants Previously Undetected*. Antimicrob Agents Chemother, 2019. **64**(1).
10. Heinrichs, A., et al., *Evaluation of several phenotypic methods for the detection of carbapenemase-producing Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015. **34**(7): p. 1467-74.

11. Conseil Supérieur de la Santé. *RECOMMANDATIONS EN MATIÈRE DE PRÉVENTION, MAÎTRISE ET PRISE EN CHARGE DES PATIENTS PORTEURS DE BACTÉRIES MULTI-RÉSISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES (MDRO) DANS LES INSTITUTIONS DE SOINS*. 2019 AVIS N° 9277]; Available from: www.css-hgr.be.
12. Wright, H., R.A. Bonomo, and D.L. Paterson, *New agents for the treatment of infections with Gram-negative bacteria: restoring the miracle or false dawn?* Clin Microbiol Infect, 2017. **23**(10): p. 704-712.
13. Satlin, M.J., et al., *Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Position Statements on Polymyxin B and Colistin Clinical Breakpoints*. Clin Infect Dis, 2020. **71**(9): p. e523-e529.
14. Matuschek, E., et al., *Antimicrobial susceptibility testing of colistin - evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter spp.* Clin Microbiol Infect, 2018. **24**(8): p. 865-870.
15. Parsels, K.A., et al., *Cefiderocol: a novel siderophore cephalosporin for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections*. J Antimicrob Chemother, 2021. **76**(6): p. 1379-1391.
16. Matuschek, E., et al., *Cefiderocol: EUCAST criteria for disc diffusion and broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing*. J Antimicrob Chemother, 2022. **77**(6): p. 1662-1669.

III. Résultats des identifications

125 laboratoires belges et luxembourgeois de biologie clinique (tous les laboratoires inscrits) ont introduit une réponse. De plus un laboratoire étranger (Catalogne) a participé ; les résultats de ce laboratoire ne sont pas repris dans l'analyse suivante, mais ils étaient corrects.

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 isolés 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/18472 *Candida albicans* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: Dans le décours d'une septicémie à *K. pneumoniae* d'origine urinaire traité par céfuroxime puis ciprofloxacine, un patient de 83 ans présente une paire d'hémocultures positive.

Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine et n'effectuez les tests de sensibilité antimicrobiens que si vous le feriez en routine.»

<u><i>Candida albicans</i></u>	124 99.2%
Sous-traité	1

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	20
confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	50
Dans un but épidémiologique	3
Autre raison non précisée	1
Sous-traité	1
N'est pas envoyé	50
Total	125

¹ Quatre laboratoires ont mentionné explicitement qu'il s'agit de la détermination de l'antibiogramme.

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 8 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 34 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique et 4 laboratoires que la souche a un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière.

3.2. Culture M/18523 *Streptococcus canis* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Une patiente diabétique de 91 ans avec des ulcères vasculaires chroniques est admise à l'hôpital pour une pyrexie. Les examens de laboratoires montrent une leucocytose élevée avec 85 % de neutrophiles, des valeurs élevées de C-RP et de procalcitonine. On prélève des d'hémocultures et après 24 heures 2 flacons sur 6 sont positifs.

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

Ceci est un échantillon didactique.

<i>Streptococcus canis</i>	97	77.6%
<i>Streptococcus canis/dysgalactiae</i> ¹	6	4.8%
<i>Streptococcus canis/dysgalactiae equisimilis</i> ¹	1	0.8%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	6	4.8%
<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	6	4.8%
<i>Streptococcus</i> groupe G	8	6.4%
Sous-traité	1	

¹ Un certain nombre de laboratoires ont mentionné que le Maldi-Tof ne permet pas de faire la distinction entre *S. canis* en *S dysgalactiae*

Un laboratoire qui a répondu *S. canis* et un laboratoire qui a répondu *S. dysgalactiae* ont mentionné également dans le texte libre que la souche agglutinait avec Lancefield groupe G.

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	4
Dans un but épidémiologique	11
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	10
Autre raison non précisée	1
Sous-traité	1
N'est pas envoyé	98
Total	125

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 2 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 16 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique.

3.3. Culture M/18588 *Burkholderia cepacia* (expectoration)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Expectoration d'un patient de 39 ans atteint de mucoviscidose

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

<u><i>Burkholderia cepacia</i> complex</u>	45	36.0%
<u><i>Burkholderia cepacia</i></u>	21	16.8%
<u><i>Burkholderia cenocepacia</i></u>	54	43.2%
<i>Burkholderia mallei</i>	1	
<i>Burkholderia species</i>	2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + suivi des patients atteints de mucoviscidose	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autre raison non précisée	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	17
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + suivi des patients atteints de mucoviscidose	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	24
Dans un but épidémiologique	7
suivi des patients atteints de mucoviscidose	2
N'est pas envoyé	72
Total	125

¹ Un laboratoire a mentionné qu'il s'agit de la détermination de l'antibiogramme.

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 16 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 27 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique et 7 laboratoires que la souche a un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière.

3.4. Culture M/18740 *Pseudomonas aeruginosa* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes : « Un patient de 85 ans est admis depuis une semaine et demie dans le service d'hématologie. Il développe une forte fièvre, un état confus et un malaise général. 3 sets d'hémocultures sont prélevés et se révèlent positifs.

Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine et n'effectuer les tests de sensibilité antimicrobiens que si vous le feriez en routine. »

Pseudomonas aeruginosa
Sous-traité

124 99.2%
1

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	24
confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	44
Dans un but épidémiologique	8
Sous-traité	1
N'est pas envoyé	48
Total	125

¹ Quatre laboratoires ont mentionné qu'il s'agit de la détermination de l'antibiogramme et plus en particulier la recherche de la carbapénémase.

² Trois laboratoires ont mentionné qu'il s'agit de la détermination de l'antibiogramme ; un d'entre eux a précisé qu'il s'agit plus en en particulier la recherche de la carbapénémase.

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 72 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 6 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique et 29 laboratoires que la souche a un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière.

3.5. Coloration de Gram M/18332 (hémoculture)

Il s'agissait de levures (*Candida albicans*).

123 laboratoires ont introduit un résultat. Ils ont tous répondu « levures ». Un laboratoire a mentionné également la présence de coques à Gram positif et un laboratoire la présence de coques à Gram positif et bacilles à Gram positif

IV. Antibiogramme

Un aperçu général des résultats est présenté au début de la discussion. Dans le traitement approfondi les résultats sont analysés selon les méthodes utilisées. La dernière colonne du tableau 1 indique les laboratoires qui ont mentionné ne pas transférer le résultat de l'antibiotique concerné en routine au clinicien: il est en effet possible qu'un laboratoire teste certains antibiotiques mais qu'il ne transfère pas (systématiquement) le résultat au clinicien mais uniquement dans certaines circonstances (p.ex. en tenant compte des résultats d'autres antibiotiques, ou l'utilisation d'un antibiotique comme marqueur pour d'autres antibiotiques,...).

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

Pour l'échantillon M/18472 46 laboratoires n'ont pas effectué d'antifongogramme: La majorité de ces laboratoires ont mentionné dans le texte libre qu'ils n'effectuent en routine pas d'antifongogramme mais que cette demande est envoyée.

Pour l'échantillon M/18740 3 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme: deux laboratoires qui sous-traitent l'échantillon ou l'antibiogramme et 1 laboratoire qui a mentionné ne pas effectuer d'antibiogramme sur ce genre de germe (il s'agit 'un laboratoire de référence qui cible d'autres germes).

4.1. Culture M/18472 (*Candida albicans*)

Tableau 4.1.1. Résultats des antifongigrammes effectués pour l'échantillon M/18472 (*Candida albicans*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*	Pas en routine
Fluconazole	R	78	-	2	75	1	1
Voriconazole	R	67	3	3	60	1	4
Itraconazole	R	28	1	-	25	2	5
Posaconazole	**	26	2	-	21	3	8
Amphotéricine B	**	61	58	1	-	2	5
Caspofungine	S	63	57	1	4	1	4
Anidulafungine	S	43	35	1	6	1	2
Micafungine ¹		7	7	-	-	-	1

. Un certain nombre de laboratoires ont déclaré ne pas pouvoir donner d'interprétation pour certains fongicides étant donné qu'il n'existe pas de directives.

** Ces résultats attendus sont discutés dans le commentaire sur l'enquête.

¹ Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à la caspofungine, à l'anidulafungine et à la micafungine. Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la caspofungine et à la micafungine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.4. sont les résultats finaux par technique (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Un laboratoire a utilisé les disques en papier pour la détermination de la sensibilité à la fluconazole (« R »), à l'itraconazole (« R ») et à l'amphotéricine B (« S »).

Deux laboratoires ont utilisé les disques Neosensitabs pour la détermination de la sensibilité ; un des 2 pour la fluconazole (« R »), la voriconazole (« R »), l'itraconazole (« R ») et l'amphotéricine B (« S »). L'autre pour la fluconazole (« R »), l'itraconazole (« R ») et l'amphotéricine B (« S »).

Les résultats obtenus avec les méthodes pour déterminer le « gradient MIC » (l'E test, le test MICE, le MIC test Strip) sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.1.2. Résultats obtenus avec les méthodes pour le gradient MIC pour l'échantillon M/18472 (*Candida albicans*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Fluconazole	9	9 x R	9 x ≥256 mg/L
Voriconazole	1	1 x R	>32 mg/L
Amphotéricine B	1	1 x S	0.125 mg/L
Anidulafungine	5	5 x S	0.002 mg/L; 0.004 mg/L; 0.006 mg/L; 0.012 mg/L; 0.032 mg/L

Les résultats obtenus avec les méthodes des microdilutions (Sensititre, Umic, Micronaut, MIC strip, autres) sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.1.3. Résultats obtenus avec les méthodes de microdilution pour l'échantillon M/18472 (*Candida albicans*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Fluconazole	36	35 x R 1 pas d'interprétation	64 mg/L; 11 x 128 mg/L; 23 x ≥256 mg/ 256 mg/L
Voriconazole	36	35 x R 1 pas d'interprétation	4 mg/L; 34 x ≥8 mg/L 8 mg/L
Itraconazole	25	22 x R 1 x S 2 pas d'interprétation	0.5 mg/L; 9 x 1 mg/L; 2 mg/L; 11 x ≥16 mg/L 1 mg/L 1 mg/L; >8 mg/L
Posaconazole	26	21 x R 2 x S 3 pas d'interprétation	12 x 0.5 mg/L; 3 x 1 mg/L; 6 x ≥8 mg/L 0.5 mg/L; 1 mg/L 0.5 mg/L; 2 x 1 mg/L
Amphotéricine B	30	1 x I 27 x S 2 pas d'interprétation	1 mg/L ≤0.12 mg/L; 16 x 0.5 mg/L; 9 x 1 mg/L; 2 mg/L 2 x 0.5 mg/L
Caspofungine	34	4 x R 1 x I 28 x S 1 pas d'interprétation	2 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; ≥8 mg/L 0.5 mg/L 0.03 mg/L; 8 x 0.06 mg/L; 15 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; 3 x 0.25 mg/L 0.12 mg/L
Anidulafungine	38	6 x R 1 x I 30 x S 1 pas d'interprétation	3 x 0.12 mg/L; 0.125 mg/L; 0.25 mg/L; ≥8 mg/L 0.5 mg/L 2 x 0.015 mg/L; 9 x 0.03 mg/L; 10 x 0.06 mg/L; 9 x 0.12 mg/L 0.06 mg/L
Micafungine	4	4 x S	≤0.15 mg/L; 2 x 0.03 mg/L; 0.06 mg/L

Les résultats obtenus avec le Vitek sont repris dans le tableau ci-dessous (les résultats du Vitek 2 et Vitek 2 compact ont été regroupés).

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/18472 (*Candida albicans*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Intervalle (mg/L)
	S	I	R			
Fluconazole	-	2	28	16	15 (30)	8 - >64
Voriconazole	3	3	23	≥8	12 (29)	≤0.12- ≥8 ¹
Amphotéricine B	27	-	-	≤0.25, 0.5 en 1	3 x 9 (27)	≤0.25 – 1
Caspofungine	28	-	-	≤0.12	22 (28)	≤0.12 – 0.25
Micafungine	3	-	-	≤0.06	3 (3)	-

¹ Deux laboratoires qui ont donné l'interprétation « S » ont mentionné une valeur de CMI ≤0.12 mg/L; le troisième laboratoire avec l'interprétation « S » a mentionné une valeur de CMI de 1 mg/L.

Il reste à mentionner qu'un laboratoire a répondu la caspofungine comme « S » sur base du résultat de l'anidulfungine.

Un laboratoire a changé le résultat brut « I » dans un résultat finale « S » pour l'amphotéricine B pour la technique de microdilution.

4.2 Culture M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*)

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. Quand ceci n'était pas le cas, nous avons repris dans le tableau 4.1.1. ci-dessous le résultat que le laboratoire a mentionné transférer au clinicien; si le laboratoire ne l'a pas mentionné nous avons repris le résultat le plus résistant.

La souche était porteuse d'une carbapénèmase VIM. 31 laboratoires ont mentionné explicitement cette présence; 19 autres laboratoires ont mentionné la présence d'une carbapénèmase (pour laquelle ils enverraient l'échantillon); Un laboratoire a recommandé d'envoyer l'échantillon pour la détermination des mécanismes de résistance sans pour autant les préciser. 12 laboratoires enverraient la souche pour la détermination ou la confirmation du résultat de la colistine.

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Pipéracilline-tazobactam	R	122	1	4	117	3
Ceftazidime	R	121	1	-	120	2
Ceftazidime-avibactam ¹	R	11	1	-	10	3
Céfépime	R	114	-	-	114	18
Méropénème	R	121	-	-	121	6
Imipénème ²	R	4	-	-	4	1
Aztréonam	I	82	38	29	15	15
Ciprofloxacine	R	120	-	-	120	2
Lévofloxacine ³	R	8	-	-	8	-
Gentamicine	*	88	5	3	80	21
Amikacine	R	116	1	-	115	6
Tobramycine ⁴	R	3	-	-	3	-
Colistine	S	85	83	-	2	31

* Ce résultat attendu est discuté dans le commentaire sur l'enquête.

¹ Onze laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftazidime et à la ceftazidime-avibactam.

² Quatre laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'Imipénème et au Méropénème.

³ Sept laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ciprofloxacine et à la lévofloxacine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la lévofloxacine au lieu de la ciprofloxacine.

⁴ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la gentamicine, à l'amikacine et à la tobramycine. Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amikacine et à la tobramycine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.8. sont les résultats finaux par technique (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats et les diamètres obtenus par les laboratoires qui utilisent les disques en papier sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	(46) ¹				-	3	43
	40 ²	30+6	10	5 – 13	-	-	41
	5	100+10	16	13 – 17	-	3	2
Ceftazidime	(46) ³	-	-	-	-	-	46
	40 ⁴	10	7	5 – 15	-	-	41
	5	30	13	12 – 13	-	-	5
Céfépime	38 (38)	30	14	10 – 18	-	-	38
Méropénème	43 (45) ⁵	10	6	5 – 8	-	-	45
Imipénème	3 (3)	10	6	6 – 7	-	-	3
Aztréonam	41 (41)	30	22	12 – 30	25	14	2
Ciprofloxacine	42 (43) ⁶	5	6	5 – 6	-	-	43
Lévofloxacine	2 (2)	5	6.5	6 – 7	-	-	2
Gentamicine	28 (28)	10	12	9 – 16	2	4	22
Amikacine	40 (40)	30	6	6 – 12	-	-	40
Tobramycine	1 (1)	10	7	-	-	-	1
Colistine	5 (6) ⁷	5	15	15 – 17	6	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: la charge 30+6 µg est mentionnée par les utilisateurs des directives d'EUCAST, la charge 100 + 10 µg mentionnée par les utilisateurs des directives de la CLSI.

² De plus 1 laboratoire a mentionné un diamètre ≤6 mm

³ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: la charge 10 µg est mentionnée par les utilisateurs des directives d'EUCAST, la charge 30 µg est mentionnée par les utilisateurs des directives de la CLSI.

⁴ De plus 1 laboratoire a mentionné un diamètre ≤6 mm

⁵ De plus 1 laboratoire a mentionné une charge de 6 µg et 1 laboratoire a mentionné un diamètre ≤6 mm

⁶ De plus 1 laboratoire a mentionné un diamètre ≤6 mm

⁷ De plus 1 laboratoire a mentionné une charge de 50 µg

Les résultats et les diamètres obtenus par les laboratoires qui utilisent les disques Neosensitabs sont repris dans le tableau suivant. Etant donné le nombre limité de cette méthode (<6) les analyses statistiques n'ont pas été effectuées.

Tableau 4.2.3. Résultats obtenus avec les disques Neosensitabs pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	N labos	S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	4	-	-	4
Ceftazidime	5	-	-	5
Céfépime	3	-	-	3
Méropénème	5	-	-	5
Aztréonam	5	3	1	1
Ciprofloxacine	3	-	-	3
Lévofloxacine	1	-	-	1
Gentamicine	1	-	-	1
Amikacine	5	-	-	5

Les résultats obtenus avec les méthodes pour déterminer le « gradient MIC » (l'E test, le test MICE, le MIC Test Strip) sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec les méthodes pour le gradient MIC pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Pipéracilline-tazobactam	3	3 x R	128 mg/L; 2 x ≥256 mg/L
Ceftazidime	1	1 x R	48 mg/L
Ceftazidime-avibactam	7	6 x R 1 x S	1 x 16 mg/L, 24 mg/L; 2 x 32 mg/L; 64 mg/L 8 mg/L
Céfépime	2	2 x R	32 mg/L; 48 mg/L
Méropénème	8	8 x R	7 x ≥32mg/L; ≥256 mg/L
Aztréonam	2	2 x I	6 mg/L; 16 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x R	32 mg/L
Lévofloxacine	1	1 x R	12 mg/L
Amikacine	1	1 x R	256 mg/L
Colistine	9	1 x R 8 x S	3 mg/L 0.19 mg/L; 0.38 mg/L; ≤0.25 mg/L; <0.5 mg/L; 1 mg/L; 3 x 2 mg/L

Les résultats obtenus avec les méthodes des microdilutions (Sensititre, Umic, Micronaut, MIC strip, autres) sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec les méthodes de microdilution pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Pipéracilline-tazobactam	13	12 x R 1 x S	>16 mg/L; 8 x ≥32 mg/L; 3 x 64 mg/L 16 mg/L
Ceftazidime	13	12 x R 1 x S	10 x ≥16 mg/L; 2 x 32 mg/L 4 mg/L
Ceftazidime-avibactam	3	3 x R	2 x ≥16 mg/L; 32 mg/L
Céfépime	6	6 x R	>8 mg/L; 3 x 16 mg/L; 2 x ≥32 mg/L
Méropénème	16	16 x R	10 x ≥16 mg/L; 5 x ≥32 mg/L; 64 mg/L
Imipénème	1	11 X R	32 mg/L
Aztréonam	14	2 x R 5 x I 7 x S	>4 mg/L; ≥32 mg/L 2 x 8 mg/L; 12 mg/L; 2 x 16 mg/L 4 mg/L; 3 x 8 mg/L; 3 x 16 mg/L
Ciprofloxacine	13	13 x R	>1 mg/L; 8 x ≥2 mg/L; 3 x ≥ 8 mg/L, ; 16 mg/L
Gentamicine	7	6 x R 1 x S	>4 mg/L; 4 x 8 mg/L; ≥32 mg/L 4 mg/L
Amikacine	12	12 x R	>16 mg/L; 10 x ≥32 mg/L; 64 mg/L
Tobramycine	1	1 x R	>8 mg/L
Colistine	26	26 x S	9 x ≤1 mg/L; 16 x ≥2 mg/L; 3 mg/L

Un laboratoire a utilisé la dilution sur agar pour la détermination de la sensibilité à la ceftazidime, à la céfépime, à l'aztréonam, à la ciprofloxacine, à la gentamicine et à l'amikacine. Pour tous ces antibiotiques il a obtenu le résultat « R ».

Les résultats obtenus avec le Vitek sont repris dans le tableau ci-dessous (les résultats du Vitek 2 et Vitek 2 compact ont été regroupés).

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Intervalle (mg/L)
	S	I	R			
Pipéracilline-tazobactam	-	-	56	≥128	48 (56)	≥64 - ≥128
Ceftazidime	-	-	56	16	51 (56)	16 - ≥64
Céfépime	-	-	56	≥16	29 (56)	≥16 - ≥32
Méropénème	-	-	55	≥16	51 (55)	>8 - ≥16
Aztréonam	6	3	10	16	19 (19) ¹	-
Ciprofloxacine	-	-	56	≥4	52 (56)	>2 - ≥4
Lévofloxacine	-	-	4	≥8	4 (4)	-
Gentamicine	-	-	52	8	52 (52)	-
Amikacine	1	-	55	≥64	52 (56)	>32 - ≥64 ²
Tobramycine	-	-	1	≥16	1 (1)	-
Colistine	38	-	-	≤0.5	22 (38)	≤0.5 - 4

¹ Indépendamment de l'interprétation tous les laboratoires ont mentionné une valeur CMI de 16 mg/L.

² Le laboratoire qui a donné l'interprétation « S » a mentionné une valeur CMI ≥64 mg/L.

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Intervalle (mg/L)
	S	I	R			
Pipéracilline-tazobactam	-	-	17	≥32	9 (17)	≥16 - >64
Ceftazidime	-	-	18	>8	16 (18)	>8 - >16
Ceftazidime-avibactam	-	-	1	32	1 (1)	-
Céfépime	-	-	18	≥16	10 (18)	8 - ≥16
Méropénème	-	-	17	>8	16 (17)	>8 - >32
Imipenem	-	-	1	>8	1 (1)	-
Aztréonam	5	5	-	8	10 (10) ¹	-
Ciprofloxacine	-	-	18	>1	18 (18)	-
Lévofloxacine	-	-	1	>2	1 (1)	-
Gentamicine	3	-	5	≥4	8 (8) ²	-
Amikacine	-	-	18	≥16	18 (18) ^à	-
Colistine	3	-	1	≤1	4 (4) ³	

¹ Indépendamment de l'interprétation tous les laboratoires ont mentionné une valeur CMI de 8 mg/L.

² Quatre laboratoires ont répondu une valeur de CMI de 4 mg/L (les 3 avec l'interprétation « S » et 1 laboratoires avec l'interprétation « R ») et 4 laboratoires ont répondu une valeur de CMI >4 mg/L (tous les 4 avec l'interprétation « R »).

³ Les 4 laboratoires ont mentionné une valeur de CMI ≤1 mg/L et l'interprétation brute « S » mais 1 des 4 a changé cette interprétation en « R » pour le résultat final.

Quatre laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité. Les résultats sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'appareil Microscan pour l'échantillon M/18740 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	N labos	S	I	R
Pipéracilline-tazobactam	4	-	1	3
Ceftazidime	4	-	-	4
Céfépime	4	-	-	4
Méropénème	4	-	-	4
Aztréonam	2	-	2	-
Ciprofloxacine	4	-	-	4
Gentamicine	1	-	-	1
Amikacine	4	-	-	4
Colistine	3	3	-	-

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut lors de la réponse finale, en se basant sur des règles d'expertise ou non:

- La piperacilline-tazobactam
 - o I→R
 - Disques en papier: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - o I→S
 - Microdilution: 1 labo
- La ceftazidime
 - o I→S
 - Microdilution: 1 labo
- L'aztréonam
 - o I→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2 (compact): 4 labos
 - o S→R
 - Vitek 2 (compact): 2 labos
- La colistine
 - o S→R
 - Phoenix: 1 labo

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles ont été envoyés.
115 laboratoires (soit tous les labos inscrits) ont introduit leurs résultats.

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 stade d'évolution différent.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/18272

Un homme est admis à l'hôpital avec une dysenterie sévère.

P/18846

Un enfant de 3 ans originaire d'Argentine atterrit à Zaventem. Dès son arrivée il se plaint de douleurs abdominales diffuses.

L'échantillon P/18272 contenait des kystes d'*Entamoeba histolytica/dispar*

L'échantillon P/18846 contenait des œufs d'*Hymenolepis nana*.

L'échantillon P/18846 e déjà été envoyé dans les EEQ 2017/3 (sous le numéro P/15347) et 2014/3 (sous le numéro P/10183).

Ces réponses comprennent les parasites que tous les laboratoires auraient dû retrouver. Il est cependant possible qu'un aliquot contienne encore d'autres parasites.

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

Nous voulons insister sur le fait que si vous n'avez pas retrouvé de parasites, il faut répondre « absence de parasites » dans le toolkit (et ne pas laisser la réponse ouverte).

5.2. Les résultats pour l'échantillon P/18272

Les 115 laboratoires ont fourni 125 réponses. 106 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 8 laboratoires la présence de 2 parasites et 1 laboratoire la présence de 3 parasites. Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/18272

Résultat	Nombre
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	84
<i>Entamoeba histolytica</i>	14
<i>Entamoeba dispar</i>	2
<i>Entamoeba coli</i>	15
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2
<i>Entamoeba species</i>	2
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2
<i>Cryptosporidium species</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	2
Total	125

Les 2 laboratoires qui ont répondu *H. nana* ont probablement inversé les 2 échantillons; un des 2 a répondu pour l'échantillon P/18846 effectivement *E. histolytica/dispar* et l'autre *Entamoeba species*.

Quelques laboratoires ont mentionné qu'ils effectuent également un test d'antigène. Nous voulons cependant souligner que les échantillons qui sont envoyés dans l'EEQ sont formolés et que ceci peut interférer avec une interprétation adéquate (nous conseillons de bien lire les instructions dans l'insert à ce sujet).

Le tableau ci-dessous reprend les combinaisons répondues par les laboratoires.

Tableau 5.2.2. Combinaisons de parasites répondues pour l'échantillon P/18272

N parasites	ID parasites	N labos
1 parasite		106
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	77
	<i>Entamoeba histolytica</i>	13
	<i>Entamoeba dispar</i>	1
	<i>Entamoeba coli</i>	8
	<i>Entamoeba hartmanni</i>	2
	<i>Entamoeba species</i>	2
	<i>Cryptosporidium species</i>	1
	<i>Hymenolepis nana</i>	2
2 parasites		8
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i>	4
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
	<i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Entamoeba coli</i>	1
	<i>Entamoeba dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i>	1
3 parasites		1
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Iodamoeba butschlii</i>	1
Total		115

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Entamoeba histolytica/dispar* sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.3. Stades d'évolution de *Entamoeba histolytica/dispar* pour l'échantillon P/18272

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Kyste	82
Oocyste	1
Œuf	1
Total	84

Les 14 laboratoires qui ont répondu *E. histolytica* ont mentionné le stade d'évolution « kyste ». Un des 2 laboratoires qui ont répondu *E. dispar* a mentionné le stade « kyste », l'autre a mentionné « œuf ».

56 laboratoires enverraient en routine cet échantillon à un centre de référence; ils ont mentionné les identifications suivantes:

- 45 *E. histolytica/dispar*
- 2 *E. histolytica/dispar* + *E. coli*
- 1 *E. histolytica/dispar* + *E. nana*
- 1 *E. histolytica/dispar* + *I. butschlii*
- 2 *E. histolytica*
- 1 *E. dispar* + *E. nana*
- 3 *E. coli*
- 1 *Entamoeba species*

5.3. Les résultats pour l'échantillon P/18846

Les 115 laboratoires ont fourni 116 réponses. 114 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 1 laboratoire la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/18846

Résultat	Nombre
<i>Hymenolepis nana</i>	109
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2
<i>Taenia species</i>	1
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1
<i>Entamoeba species</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Chilomastix mesnili</i>	1
Total	116

Les laboratoires qui ont respectivement répondu *E. histolytica/dispar* et *Entamoeba species* ont probablement inversé les 2 échantillons (cfr. supra).

Le laboratoire qui a répondu la combinaison de 2 parasites, a mentionné « *H. nana* + *C mesnili* ».

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Hymenolepis nana* sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5.3.2. Stades d'évolution *Hymenolepis nana* pour l'échantillon P/18846

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Œuf	98
Œuf fécondé	4
Embryophore	1
Kyste	4
Oocyste	2
Total	109

Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus lors des 3 enquêtes dans lequel cet échantillon a été envoyé.

Tableau 5.3.3. Comparaison des résultats obtenus pour les échantillons P/10183 (2014/3), P/15347 (2017/3) et P/18846 (2022/1)

P/10183 (2014/3): *H. nana*
96.1%

P/15347 (2017/3): *H. nana*
97.8%

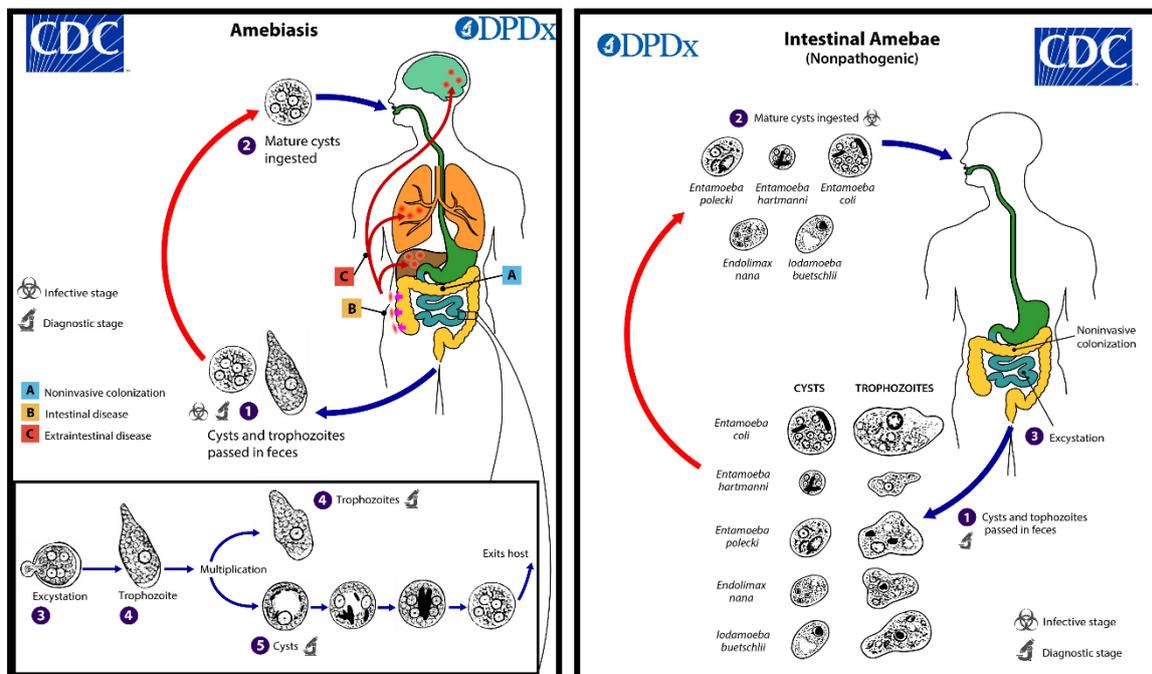
P/18846 (2022/1) *H. nana*
94.0%

Neuf laboratoires enverraient en routine cet échantillon à un centre de référence: 8 ont répondu *H. nana* et 1 a répondu *H. diminuta*.

5.4. Commentaire sur l'enquête

84 des 115 laboratoires qui ont donné une réponse pour cet échantillon ont mentionné avoir retrouvé *Entamoeba histolytica*/*E. dispar*. 14 laboratoires ont répondu spécifiquement *E. histolytica* et 2 laboratoires *E. dispar*. De plus 8 laboratoires ont identifié le parasite dans cet échantillon comme *E. coli* et 2 comme *E. hartmanni*. 2 laboratoires se sont arrêtés au niveau du genre *Entamoeba* sp. et 7 laboratoires ont mentionné une infection mixte avec *E. histolytica/dispar* et *E. coli*

Aussi bien l'espèce pathogène *Entamoeba histolytica* que l'espèce non-pathogène *Entamoeba dispar* ont une dispersion mondiale et ont aussi bien l'homme que les primates non-humains comme hôtes. Une infection par *E. histolytica* peut rester asymptomatique mais peut aussi causer une amibiase intestinale et hépatique. L'amibiase clinique (invasive) est cependant surtout retrouvée en Amérique Centrale, en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie du Sud-est. Le parasite attaque en premier lieu la paroi intestinale dans laquelle se développent des ulcères, ce qui résulte dans la « dysenterie amibienne » typique avec une diarrhée sanguinolente et glaireuse. Ensuite le parasite peut être transporté à travers le sang et la lymphe à d'autres organes, avec une prédilection pour le foie, pour y créer des abcès. En plus de cette présentation la mieux connue, il existe également une amibiase chronique avec des périodes intermittentes de diarrhée et de "calme", de même qu'un amibome (masse granulomateuse dans le colon).



E. dispar n'a pas la possibilité d'une évolution invasive. Pour cette raison il est essentiel de distinguer *E. dispar* d'*E. histolytica*. *E. dispar* et *E. histolytica* sont retrouvées dans différents stades: les formes végétatives (ou trophozoïtes) et les kystes (stade de transmission). Les deux espèces ne peuvent pas être différenciées sur base de la microscopie classique. Cependant quand on trouve des trophozoïtes érythrophages ça suggère plutôt *E. histolytica*, même si *E. dispar* montre exceptionnellement aussi l'ingestion d'érythrocytes. L'échantillon P/18272 ne contenait cependant que quasi uniquement des kystes, qui doivent en d'autres mots être identifiés comme « *E. histolytica*/*E. dispar* ». Comme la plupart des protozoaires les amibes ne peuvent être trouvés au stade végétatif que dans des selles fraîches. En cas de suspicion d'une dysenterie amibienne il est donc conseillé d'examiner microscopiquement les selles liquides le plus vite possible (endéans les 30 minutes après la production de l'échantillon) ou de le fixer rapidement après quoi une coloration permanente est possible.

La distinction entre d'un côté le complexe *E. histolytica*/*E. dispar*, et de l'autre côté les autres espèces d'amibes intestinales non pathogènes peut être effectuée sur base des différentes caractéristiques morphologiques des kystes (Figure 1). Pour ce faire, on peut utiliser:

1. La taille du kyste (*E. hartmanni*)

2. La quantité et la forme des noyaux présents (*E. coli*)
3. Des caractéristiques spécifiques supplémentaires, comme p.ex. la masse de glycogène (*Iodamoeba butschlii*)

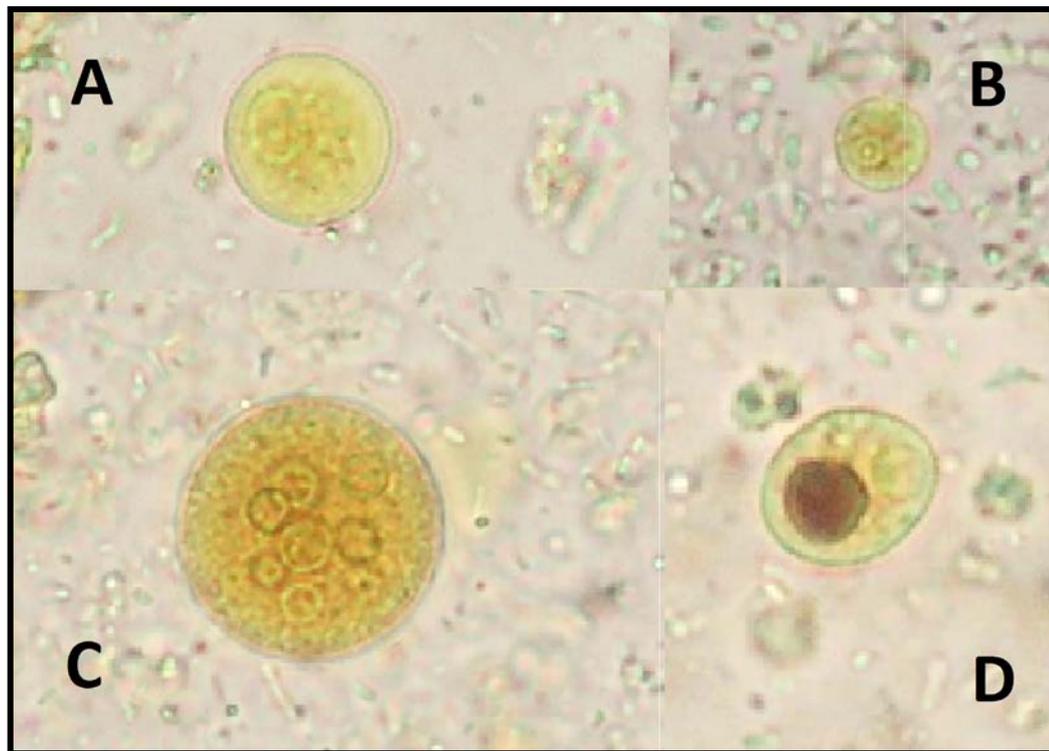


Figure 1 (Photos Idzi Potters, Institut de Médecine Tropical, Anvers)

A: *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* – Un noyau relativement grand avec la chromatine périphérique et un petit caryosome central. Taille moyenne: 10-20 μm .

B: *Entamoeba hartmanni* - Un noyau relativement petit avec la chromatine périphérique et un petit caryosome central. Taille moyenne: 5-12 μm .

C: *Entamoeba coli* – Plusieurs noyaux relativement petits avec la chromatine périphérique et un petit caryosome central. *E. coli* est la seule amibe intestinale qui peut avoir plus de 4 de ces noyaux. Taille moyenne: 10-35 μm .

D: *Iodamoeba butschlii* – Forme variable et un noyau compact sans chromatine. périphérique. Masse de glycogène qui se colore fortement au lugol. Taille moyenne: 5-20 μm .

Quand on ne retrouve que des kystes, une différenciation approfondie (qui est nécessaire pour juger de la puissance pathogène) ne peut être effectuée de façon fiable à l'aide de la biologie moléculaire. Pour la différenciation moléculaire on utilise idéalement les selles fraîches, non-fixées. Une PCR peut également être effectuée sur le matériel de ponction d'un abcès hépatique.

En cas d'un abcès amibien l'examen microscopique est moins utile et, en plus d'une PCR, il est conseillé d'effectuer une analyse sérologique pour la détection d'anticorps anti-*E. histolytica*. Même s'il est surtout sensible en cas d'une amibiase invasive extra-intestinale, il peut y avoir une réaction croisée avec les anticorps anti- *E. dispar*, ou le test peut montrer une réaction en cas d'infection non invasive (uniquement des kystes) par *E. histolytica*.

De plus la recherche de l'antigène spécifique d'*Entamoeba histolytica* peut être utile, mais surtout à des fins de dépistage complémentaire à la microscopie. La sensibilité et surtout la spécificité de la détection de l'antigène peuvent être très dépendantes de la trousse utilisée. En général il existe beaucoup de réactions croisées avec *E. dispar* et par conséquent les trousse de détection d'antigène sont insuffisamment fiables pour distinguer *E. dispar* et *E. histolytica*.

Pour finir il reste à mentionner que certaines espèces d'amibes (espèces vivantes en liberté, espèces qui sont surtout retrouvées chez les primates non-humaines, etc) et qui peuvent sporadiquement infecter l'homme, ne peuvent pas toujours être distinguées du complexe *E.*

histolytica/E. dispar avec la microscopie. Il s'agit p.ex. d'*E. moshkovskii*, d'*E. polecki*, d'*E. nutalli*,... La différenciation moléculaire, qui suit l'identification microscopique d'une infection par *E. histolytica/E. dispar* n'est pas toujours capable de détecter et d'identifier ces espèces plus rares et peut donc rester négative.

Les cas confirmés d'une amibiase invasive sont de préférence traités avec le nitro-imidazole, suivi par un traitement (luminal) avec la paromomycine. En cas d'une amibiase non-invasive un traitement avec uniquement paromomycine suffit en première ligne.

Idzi Potters, Henk Vereecken, Charlotte Drieghe, Dorien Van den Bossche
Institut de Médecine Tropical
Anvers

Références:

Polderman A.M. Medische Parasitologie: handleiding bij de laboratoriumdiagnostiek, 2005.

Van den Bossche D, Cnops L, Verschueren J, Van Esbroeck M. Comparison of four rapid diagnostic tests, ELISA, microscopy and PCR for the detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp. and *Entamoeba histolytica* in feces. *Journal of Microbiological Methods*; 2015: 110; 78-84 ; <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.01.016>

<https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>

<https://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/stool/specimenproc.html>

6.1. Borréliose

6.1.1. INFORMATION CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS ENVOYÉS

2 échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la borréliose : : S/5664 et IS/18777. Pour ce dernier numéro les laboratoires avec des numéros d'agrément pairs et impairs ont reçu des échantillons différents. Les laboratoires pairs ont reçu un échantillon qui a déjà été envoyé dans l'EEQ 2009/2 sous le numéro S/1196: les laboratoires impairs ont reçu un échantillon qui a déjà été envoyé dans l'EEQ 2018/1 sous le numéro S/7124.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

Echantillon S/5664

Un groupe de scouts participe en été à un camp dans les Ardennes. Deux semaines après leur retour, un participant de 14 ans se plaint de démangeaisons à la partie inférieure de la jambe. Etant donné la participation au camp scouts, le généraliste décide de faire une prise de sang pour rechercher des anticorps anti-Borrelia.

Echantillon IS/18777

Une semaine après un autre participant au même camp remarque une tache rouge à la jambe. On procède également chez lui à une prise de sang.

Les résultats attendus étaient :

S/5664:

IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent

L'interprétation « sérologie négative » est également considérée comme correcte. Ceci sera discuté en détail dans le commentaire.

IS/18777, labos pairs:

IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent

L'interprétation « sérologie négative » est également considérée comme correcte. Ceci sera discuté en détail dans le commentaire.

IS/18777, labos impairs:

IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Sérologie Borrelia positive. Ceci sera discuté en détail dans le commentaire.

6.1.2. LES PARTICIPANTS

113 laboratoires (tous les laboratoires inscrits) ont introduit leurs résultats.
Ils ont effectué 234 tests sur l'échantillon S/5664. Les 72 laboratoires pairs ont effectué 151 tests sur l'échantillon IS/18777 et les 41 laboratoires impairs ont effectué 86 tests.

Les tests effectués peuvent être groupés comme suit :

- IgG+M (une trousse qui détermine les 2 types d'anticorps)
- IgG:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, CLIA, ...
 - déterminations «blot» (immunoblot, dot blot, western blot)
- IgM:
 - ELISA, EIA, IFA, ELFA, CLIA, ...
 - déterminations «blot» (immunoblot, dot blot, western blot)

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

Pour l'échantillon S/5664, 5 laboratoires ont effectué 1 test, 101 laboratoires ont effectué 2 tests, 1 laboratoire a effectué 3 tests et 6 laboratoires 4 tests.

La distribution de ces tests est la suivante :

- IgG+M: 6
- IgG: 114
 - «non-blot»: 107
 - blot: 7
- IgM: 114
 - «non-blot»: 107
 - blot: 7

Pour l'échantillon IS/18777, 2 laboratoires pairs ont effectué 1 test, 65 laboratoires ont effectué 2 tests, 1 laboratoire a effectué 3 tests et 4 laboratoires 4 tests.

La distribution de ces tests est la suivante:

- IgG+M: 3
- IgG: 74
 - «non-blot»: 69
 - blot: 5
- IgM: 74
 - «non-blot»: 69
 - blot: 5

Pour l'échantillon IS/18777, 3 laboratoires impairs ont effectué 1 test, 34 laboratoires ont effectué 2 tests, 2 laboratoires ont effectué 3 tests 1 laboratoire 4 tests et 1 laboratoire 5 tests.

La distribution de ces tests est la suivante:

- IgG+M: 3
- IgG: 43
 - «non-blot»: 40
 - blot: 3
- IgM: 40
 - «non-blot»: 38
 - blot: 2

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

Tableau 6.1.1. Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour la détermination des anticorps anti-Borrelia de l'enquête 2022/1.

Nombre de tests	Type de trousse	Type de technique	S/5664	IS/18777, labo pairs	IS/18777, labos impairs
1 test	Ac. tot	non blot	5	2	3
2 tests	IgG et IgM	non blot - non blot	100	65	33
		blot – blot	1	-	1
3 tests	Ac. tot. et IgG et IgM	non blot – blot – blot	1	1	
	2 x IgG et IgM	non blot – non blot - non blot	-	-	2
4 tests	2 x IgG et 2 x IgM	non blot – non blot – non blot – non blot	1	-	-
		non blot – blot – non blot – blot	5	4	1
5 tests	2 x IgG et 2 x IgM	non blot – non blot –blot - non blot – non blot	-	-	1
Total			113	72	41

Remarque: le laboratoire qui déterminé les tests IgG blot et IgM blot, a mentionné dans une remarque « Ce blot serait exécuté en cas IgG ou IgM positif en screening dans notre laboratoire associé. Le screening ne se fait donc pas dans notre laboratoire »

6.1.3. RÉACTIFS UTILISÉS

6.1.3.1. Pour les anticorps totaux

Tableau 6.1.2.: Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps totaux anti-Borrelia.

Fabricant	Trousse	S/5664	IS/18777, labo pairs	IS/18777, labos impairs
Euroimmun	Borrelia Lyme Screen ELISA (IgGM)	4	2	2
Immunetics (distributeur Lucron)	C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA	1	-	1
Zeus	Borrelia Vlse1/pepC10 IgG/IgM ELISA	1	1	-
Total		6	3	3

6.1.3.2. Pour les IgG

Tableau 6.1.3.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgG anti-Borrelia.

Fabricant	Trousse	S/5664	IS/18777, labo pairs	IS/18777, labos impairs
Tests non blot				
bioMérieux	VIDAS Lyme IgG	31	20	13
Diasorin	Liaison Borrelia IgG	59	36	23
	B. burgdorferi IgG Elisa	1	1	-
Diesse (distributeur BMD)	Chorus trio IgG	3	2	1
Euroimmun (distributeur Biognost)	Borrelia Plus VLsE Elisa IgG	2	1	1
	Anti-Borrelia Select ELISA IgG	1	-	1
Mikrogen	recomBead Borrelia IgG	1	1	-
Novatec (distributeur BMD)	Lyme Borrelia IgG EIA	1	-	1
Orgentec	Anti-Borrelia IgG	3	3	-
	Alegria Anti-Borrelia IgG	2	2	-
Serion (distributeur Labconsult)	B. burgdorferi classic ELISA IgG	1	1	-
Siemens	Enzygnost Lyme link VLsE IgG	1	1	-
Vircell	Borrelia Virclia IgG	1	1	-
Total non blot		107	69	40
Tests blot				
Euroimmun (distributeur Biognost)	Borrelia Euroline RN-AT IgG	3	2	1
	Euroline WB Borrelia IgG	2	1	2
Mikrogen	recomLine Borrelia IgG	1	1	
Virotech	Borrelia LINE IgG Immunoblot	1	1	
Total blot		7	5	3
Total		114	74	43

6.1.3.3. Pour les IgM

Tableau 6.1.4.: Réactifs utilisés pour la détermination des IgM anti-Borrelia.

Fabricant	Trousse	S/5664	IS/18777, labo pairs	IS/18777, labos impairs
Tests non blot				
bioMérieux	VIDAS Lyme IgM	30	20	10
Diasorin	Liaison Borrelia IgM II	55	34	21
	Liaison Borrelia IgM Quant	5	3	2
Diesse (distributeur BMD)	Chorus Borrelia IgM	3	2	1
Euroimmun (distributeur Biognost)	Borrelia Elisa (IgM)	4	1	3
Mikrogen	recomBead Borrelia IgM	1	1	-
Novatec (distributeur BMD)	Lyme Borrelia IgM EIA	1	-	1
Orgentec	Anti-Borrelia IgM	3	3	-
	Alegria Anti-Borrelia IgM	2	2	-
Serion (distributeur Labconsult)	B. burgdorferi classic ELISA IgM	1	1	-
Siemens	Enzygnost Borreliosis IgM	1	1	-
Vircell	Borrelia Virclia IgG	1	1	-
Total non blot		107	69	38
Tests blot				
Euroimmun (distributeur Biognost)	Borrelia Euroline RN-AT IgM advanced	2	1	1
	Borrelia Euroline RN-AT IgM	1	1	-
	Euroline WB Borrelia IgM	1	1	-
	WB B. afzelii IgM	1	-	1
Mikrogen	recomLine Borrelia IgM	1	1	-
Virotech	Borrelia LINE IgM Immunoblot	1	1	-
Total blot		7	5	2
Total		114	74	40

6.1.4. RÉSULTATS

6.1.4.1. Echantillon S/5664

6.1.4.1.1. IgG+M

Tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/5664.

6.1.4.1.2. IgG

Déterminations non-blot

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgG avec une méthode non-blot ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/5664 (les laboratoires qui ont utilisé 2 trousse ont obtenu des résultats négatifs avec ces 2 trousse).

Déterminations blot

Tous les laboratoires qui ont effectué une détermination blot pour les IgG ont obtenu un résultat négatif.

6.1.4.1.3. IgM

Déterminations non-blot

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgM avec une méthode non-blot ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon S/5664 (les laboratoires qui ont utilisé 2 trousse ont obtenu des résultats négatifs avec ces 2 trousse).

Déterminations blot

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgM avec une méthode blot ont obtenu un résultat négatif.

6.1.4.1.4. Interprétation

6.1.4.1.4.1. Interprétation proprement dite

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.6. Interprétations pour l'échantillon S/5664.

Interprétation	Nombre de laboratoires
Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.	82
Sérologie anti-Borrelia négative.	30
Le résultat sérologique n'est pas concluant, en cas de suspicion clinique le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé. ¹	1
Total	113

¹ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot et IgM non-blot: négatif

6.1.4.1.4.2. Remarques données par les laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps » ou « Sérologie négative »

63 laboratoires qui ont fourni l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia », ont donné une remarque. Un aperçu est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.7. Remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps » pour l'échantillon S/5664.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	39
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps	20
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps & Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	2
Une confirmation par Blot est nécessaire	1
Echantillon de contrôle souhaité	1
Total	63

22 laboratoires qui ont fourni l'interprétation « Sérologie anti-Borrelia négative », ont donné une remarque. Un aperçu est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.8. Remarques pour l'interprétation « Sérologie négative » pour l'échantillon S/5664.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	18
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps	3
Le laboratoire a déjà effectué un Blot	1
Total	22

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

- IgG blot et IgM blot (mais bien IgG non-blot et IgM non-blot): 5 labos
- IgG blot et IgM blot (mais bien IgG+IgM): 1 labo
- IgG blot et IgM blot (cfr explication sous le tableau 1.1): 1 labo
- IgG non -blot et IgM non -blot (seuls tests) 1 labo
- IgG+IgM (seul test): 1 labo

6.1.4.2. Echantillon IS/18777, laboratoires pairs

6.1.4.2.1. IgG+M

Tous les laboratoires pairs ayant déterminé les anticorps totaux ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon IS/18777.

6.1.4.2.2. IgG

Déterminations non-blot

68 laboratoires pairs ayant déterminé les IgG avec une méthode non-blot ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon IS/18777 et 1 laboratoire a obtenu un résultat positif.

Déterminations blot

Tous les laboratoires pairs qui ont effectué une détermination blot pour les IgG ont obtenu un résultat négatif.

6.1.4.2.3. IgM

Déterminations non-blot

Tous les laboratoires pairs ayant déterminé les IgM avec une méthode non-blot ont obtenu un résultat négatif pour l'échantillon IS/18777.

Déterminations blot

Tous les laboratoires pairs qui ont effectué une détermination blot pour les IgM ont obtenu un résultat négatif.

6.1.4.2.4. Interprétation

6.1.4.2.4.1. Interprétation proprement dite

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.9. Interprétations pour l'échantillon IS/18777, laboratoires pairs.

Interprétation	Nombre de laboratoires
Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.	54
Sérologie anti-Borrelia négative.	15
Le résultat sérologique n'est pas concluant, en cas de suspicion clinique le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé. ¹	2
Le résultat sérologique indique une infection récente, cohérent avec les informations cliniques. ²	1
Total	72

¹ Résultats techniques de ces laboratoires: IgG non-blot et IgM non-blot: négatif.

² Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot: négatif.

Remarques données par les laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps » ou « Sérologie négative »

44 laboratoires qui ont fourni l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia », ont fait une remarque.

Un aperçu de ces remarques est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.10. Remarques pour l'interprétation « Absence d'anticorps » pour l'échantillon IS/18777, laboratoire pairs.

Remarque	Nombre de laboratoires
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps	33
Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	9
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps & Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	2
Total	44

12 laboratoires qui ont fourni l'interprétation « Sérologie anti-Borrelia négative », ont donné une remarque. Un aperçu est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.11. Remarques pour l'interprétation « Sérologie négative » pour l'échantillon IS/18777, laboratoire pairs.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	7
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps	4
Le laboratoire a déjà effectué un Blot	1
Total	12

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

- IgG blot et IgM blot (mais bien IgG non-blot et IgM non -blot): 4 labos
- IgG blot et IgM blot (mais bien IgG+IgM): 1 labo
- IgG non -blot et IgM non -blot (seuls test) 2 labos
- IgG+IgM (seul test): 1 labo

6.1.4.3. Echantillon IS/18777, laboratoires impairs

6.1.4.3.1. IgG+M

Tous les laboratoires impairs ayant déterminé les anticorps totaux ont obtenu un résultat positif pour l'échantillon IS/18777.

6.1.4.3.2. IgG

Déterminations non-blot

Tous les laboratoires impairs ayant déterminé les IgG avec une méthode non-blot ont obtenu un résultat positif pour l'échantillon IS/18777 (les laboratoires qui ont utilisé 2 trousse ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 trousse).

Nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum pour la trousse VIDAS Lyme IgG: n = 13, index médiane = 6.80, le minimum et le maximum étaient respectivement 6.44 et 7.58.

Pour la trousse Liaison Borrelia IgG 21 laboratoires ont répondu ≥ 240 AU/mL, 1 laboratoire > 220 AU/mL et 1 laboratoire 2065 AU/mL.

Déterminations blot

Tous les laboratoires pairs qui ont effectué une détermination blot pour les IgG ont obtenu un résultat positif.

6.1.4.3.3. IgM

Déterminations non-blot

Le résumé des résultats est repris dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.12. Résultats de déterminations IgM non blot pour l'échantillons IS/18777, laboratoires impairs.

Résultat	N labos
Négatif ¹	27
Borderline	1
Positif	9
Total	37

¹ Le laboratoire qui a utilisé 2 méthodes a obtenu des résultats négatifs avec ces 2 méthodes.

Tous les résultats "non-négatifs" ont été obtenu avec la trousse VIDAS Lyme IgM.

Après prise contact la firme nous a fourni l'explication suivante:

Hypothesis for this sample is a non-specific binding

Specificity is < 100%

Moreover as reminder on the package insert:

- Antibody detection methods do not provide definitive results for establishing or ruling out diagnosis of Lyme Borreliosis.
- Positive results with the VIDAS® Lyme IgG and IgM assays must be interpreted with caution. Cross-reactivity may be observed with certain diseases (13, 14): refer to section "Cross-reactivity".
- Clinical symptoms, epidemiological information and other laboratory test results must all be considered when interpreting VIDAS® Lyme IgM and IgG assay results.
- Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components or substances that affect the reaction. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.
- Testing should be done only when exposure history, epidemiology and clinical symptoms suggest Lyme disease.

Déterminations blot

Les 2 laboratoires impairs qui ont effectué une détermination blot pour les IgM ont obtenu un résultat négatif.

6.1.4.3.4. Interprétation

6.1.4.3.4.1. Interprétation proprement dite

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.13. Interprétations pour l'échantillon IS/18777, laboratoires impairs.

Interprétation	Nombre de laboratoires
Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé	17
Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé; sur base e la clinique il peut s'agir 'un résultat faux négatif pour les IgM, La confirmation d'aussi bien les IgG que les IgM par Blot est nécessaire pour exclure une infection aigüe.. ¹	1
Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé. Une nouvelle infection ne peut pas être exclue. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent. En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps. ²	1
Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé. Une réinfection ne peut cependant pas être exclue, En cas de suspicion clinique un échantillon de suivi peut être conseillé. ³	1
Résultat compatible avec une infection ancienne. Une infection récente ne peut être formellement exclue malgré les IgM non décelables mais au vu de la clinique. ⁴	1
Le résultat sérologique indique une infection récente, cohérent avec les informations cliniques. ⁵	15
En fonction du Western blot, le résultat peut être interprété comme une infection active (Blot très positif) ou un taux résiduel d'une infection passée (Blot faible). ⁶	1
Il pourrait s'agir d'une infection récente même en l'absence d'IgM en fonction des données cliniques. (Présence d'une morsure de tique, EM, ...) ⁷	1
Etant donné l'absence d'une clinique claire d'EM, un blot pour confirmer est nécessaire pour l'interprétation ⁸	1
Le résultat du screening st positif, mais il doit encore être confirmé et élaboré par un blot ⁹	1
Le résultat sérologique n'est pas concluant, en cas de suspicion clinique le prélèvement d'un échantillon de suivi est conseillé. ¹⁰	1
Total	41

¹ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif.

² Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif.

³ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif.

⁴ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif.

⁵ Résultats techniques de ces laboratoires: 8 labos IgG non-blot et IgM non-blot positifs, 1 labo IgG non-blot positif et IgM non-blot borderline, 4 labos IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif, 2 labos IgG+IgM positifs.

⁶ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif.

⁷ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG blot et non-blot positifs et IgM blot et non-blot négatifs.

⁸ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif.

⁹ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG+IgM positif

¹⁰ Résultats techniques de ce laboratoire: IgG non-blot positif et IgM non-blot négatif

Remarque: les interprétations des laboratoires qui ont obtenu un résultat non-négatif pour les IgM:

- 8 positif et 1 borderline: « Le résultat sérologique indique une infection récente, cohérent avec les informations cliniques. »
- 1 positif: « Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé. »

6.1.4.3.1.2. Remarques pour « Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé.»

Tous les 17 laboratoires qui ont fourni l'interprétation Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé. », ont fait une remarque.

Un aperçu de ces remarques est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 6.1.14. Remarques pour l'interprétation « Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé» pour l'échantillon IS/18777, laboratoires impairs.

Remarque	Nombre de laboratoires
Une confirmation par Blot est nécessaire	7
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps	6
Le laboratoire a déjà effectué un Blot	2
En cas d'un érythème migrant un traitement est normalement nécessaire sans détermination d'anticorps & Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	1
Une confirmation par Blot n'est pas nécessaire	1
Total	17

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

- IgM blot (mais bien IgG nonblot, IgG blot et IgM nonblot): 1 labo
- IgG blot et IgM blot (cfr explication sous le tableau 1.1.): 1 labo
- IgG nonblot et IgM nonblot (seuls tests) 1 labo
- IgG+IgM (seul test): 1 labo

6.1.5. COMMENTAIRE SUR L'ENQUÊTE

Les laboratoires participants ont reçu 2 échantillons pour la détermination de la sérologie *Borrelia*. L'échantillon S /5664 ne contenait pas d'anticorps anti-*Borrelia*. L'échantillon IS/18777 était également négatif pour les laboratoires pairs, mais pour les laboratoires impairs les IgG étaient positives.

L'échantillon S/5664 a été trouvé négatif par tous les participants aussi bien pour les IgG que pour les IgM. Il y avait cependant une variation dans l'interprétation, pour laquelle 73% des laboratoires ont donné le commentaire attendu « *Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.* ». 27% des laboratoires ont répondu « *Sérologie anti-Borrelia négative* ». Après une explication détaillée d'un participant, nous avons décidé d'accepter les 2 réponses. L'information clinique n'était pas spécifique pour une infection par *Borrelia* (uniquement démangeaisons), d'où la suggestion d'un échantillon de suivi en cas de situation clinique inchangée n'est pas souhaitable.

L'échantillon IS/18777 laboratoires pairs. Tous les participants (sauf 1) ont obtenu un résultat négatif pour les IgM et les IgG. La majorité a choisi le commentaire « *Absence d'anticorps anti-Borrelia. Lors d'une infection précoce, les anticorps n'ont peut-être pas encore été produits. Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.* » (75%), suivi par « *Sérologie anti-Borrelia négative* » (21%). 2 laboratoires ont indiqué que le résultat sérologique est indécis (même si les tests étaient négatifs), et le laboratoire qui a obtenu un résultat positif pour les IgG a répondu que ceci indique une infection récente. On peut faire beaucoup de remarques. Tout d'abord: le fait de trouver des IgG spécifiques anti-*Borrelia* n'est pas indicatif d'une infection récente. Etant donné que l'érythème migrant (EM) se présente très précoce au cours d'une infection, il n'y a souvent pas encore de réponse immunitaire. Un EM typique est un diagnostic clinique (et non sérologique) qui devrait mener à un traitement. Par conséquent on peut discuter du message « *Un échantillon de suivi dans 2 à 4 semaines peut être conseillé si cliniquement pertinent.* »: après le

traitement un suivi sérologique n'a également pas de sens. Pour cet échantillon nous acceptons également le commentaire « *Sérologie anti-Borrelia négative* », de préférence complété avec une information supplémentaire concernant le diagnostic clinique.

L'échantillon IS/18777 laboratoires impairs: tous les laboratoires ont rapporté la présence attendue des IgG, et 73% l'absence des IgM. Il est à noter que tous les résultats faussement positifs pour les IgM ont été obtenus par les utilisateurs du Vidas. La firme a été contactée afin d'avoir une explication. La grande variation dans les interprétations confirme les difficultés et les limitations de la sérologie. La plupart des laboratoires ont mentionné la réponse attendue « *Le résultat sérologique est cohérent avec une infection dans le passé* » (40%), qui était suivi un peu étonnement par « *Le résultat sérologique indique une infection récente, cohérent avec les informations cliniques* » (37%), qui a été fourni en grande partie par les laboratoires qui ont trouvé les IgM non négatives. Ici aussi nous devons faire la remarque qu'un EM typique ne nécessite pas une confirmation sérologique et même que la détection d'IG sans présence d'IgM ne pourrait pas exclure une (ré)infection dans ce cas. Un traitement reste indiqué en cas d'une présentation clinique d'EM. S'il existe un doute sur la lésion et qu'on décide de pas encore traiter, un échantillon de suivi peut être souhaitable afin d'objectiver une éventuelle augmentation des IgG.

Comme on le sait, *Borrelia burgdorferi* est un spirochète qui peut, suite à des morsures de tiques, causer des infections humaines. En absence de symptômes cliniques typiques, comme l'érythème migrant, le diagnostic des tableaux cliniques relatés à la maladie de Lyme repose surtout sur la détection des anticorps spécifiques. La stratégie actuelle de test repose dans la plupart des cas sur un algorithme à deux étapes: d'un côté l'algorithme traditionnel dans lequel un immunoessai (EIA) ou un essai d'immunofluorescence (IFA) (sensible) est, en cas d'un résultat douteux ou positif, suivi par un Western Blot (IgM et/ou IgG) (plus spécifique) et d'un autre côté d'un protocole utilisé moins souvent dans lequel 2 EIA consécutifs sont effectués. En Europe on choisit d'habitude le protocole traditionnel, le protocole alternatif est surtout utilisé aux Etats-Unis. De plus on mentionne dans la littérature un protocole en une étape avec une ELISA anti-peptide C6, pour lequel une sensibilité aussi élevée (?) mais une spécificité moindre sont décrites. Etant donné la situation épidémiologique différente aux Etats-Unis nous ne pouvons pas tirer les mêmes conclusions pour l'Europe. En effet aux Etats-Unis circule principalement *B. burgdorferi sensu strictu* tandis qu'en Europe nous voyons surtout *B. afzelli* et *B. garinii* et que dans une minorité de cas *B. burgdorferi sensu strictu*. Ceci rend difficile d'extrapoler les stratégies de test. De plus le CDC conseille pour le moment un algorithme en deux étapes. Ça reste également notre conseil.

Pour finir nous voulons souligner une fois de plus que les demandes d'une sérologie *Borrelia* en absence de signes cliniques spécifiques doivent être évitées, vu aussi bien le risque de fausse positivité que la prévalence en arrière-plan (qui dans certaines régions et dans certains groupes professionnels peut s'élever jusque plus que 20%).

Natasja Van Gasse, ZNA, Antwerpen

6.2. Syphilis

6.2.1. LES ÉCHANTILLONS

Deux échantillons lyophilisés IS/18099 et IS/18095 étaient proposées pour la détermination des anticorps anti-syphilis. Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/18099: Un homme de 35 ans consulte son nouveau généraliste avec la demande d'un dépistage pour MST suite à un contact à haut risque un mois avant. Même s'il n'a pas de symptômes, il se fait quand-même du souci.

IS/18095: Un an après ce même homme consulte son généraliste pour un bouton à la bouche.

IS/18099:

Tests tréponémiques: positifs

Tests non tréponémiques: négatifs

Interprétation: Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique.

IS/18095:

Tests tréponémiques: positifs

Tests non tréponémiques: positifs

Interprétation: Présence d'anticorps suggestive d'une réinfection. Il est conseillé d'effectuer un traitement.

L'EEQ était accompagné d'un questionnaire concernant les algorithmes et trousse utilisés par les laboratoires.

6.2.2. LES PARTICIPANTS

128 laboratoires (sur 129 laboratoires inscrits ou 99.2%) ont introduit leurs résultats.

Sur l'échantillon IS/18099 les laboratoires ont effectué 287 tests, à savoir 181 tests tréponémiques (TT) (169 Ac. Totaux, 8 IgG et 4 IgM) et 106 tests non-tréponémiques (TNT).

19 laboratoires ont effectué 1 test, 66 laboratoires ont effectué 2 tests, 38 laboratoires ont effectué 3 tests, 3 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

Sur l'échantillon IS/18095 les laboratoires ont effectué 287 tests, à savoir 181 tests tréponémiques (169 Ac. Totaux, 8 IgG et 4 IgM) et 106 tests non-tréponémiques

19 laboratoires ont effectué 1 test, 67 laboratoires ont effectué 2 tests, 36 laboratoires ont effectué 3 tests, 4 laboratoires ont effectué 4 tests et 2 laboratoires ont effectué 5 tests.

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

Tableau 6.2.1. Aperçu global des types et des combinaisons de tests utilisés (nombre de laboratoires).

Nombre de tests	Type test	IS/18099	IS/18095
1 test exécuté	1 x tréponémique	19	19
2 tests exécutés	1 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	63	64
	2 x tréponémique	3	3
3 tests exécutés	2 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	38	36
4 tests exécutés	3 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	3	4
5 tests exécutés	4 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	2	2
Total		128	128

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

Type test	IS/18099	IS/18095
Un test: tréponémique	19	19
Combinaison de méthodes tréponémiques + non-tréponémiques	106	106
Combinaison de méthodes tréponémiques seulement	3	3
Total	128	128

6.2.3. RÉACTIFS UTILISÉS

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

Tableau 6.2.3. Réactifs utilisés dans la détermination de la sérologie de la syphilis (EEQ 2022/1)

Fabricant	Trousse	IS/18099	IS/18095
Tests non-tréponémiques			
Arlington	ASI RPR Card	8	8
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	19	18
	VDRL Cardiolipin Ag	1	1
Biokit	RPR-Reditest	5	6
bioMérieux	RPR-nosticon II	2	2
BioRad	RPR100	12	12
Chemelex	RPR Carbon	6	6
Diesse	RPR Colour	1	1
K Labkit	RPR Carbon 250 Tests	2	2
Launch Diagnostics	RPR Card	1	1
Omega Diagnostics	Immutrep RPR	3	3
	Immutrep Carbon antigen	2	2
Plasmatec	RPR Test kit	6	6
Roche	RPR Reagent kit	1	1
Sekisui	RPR (Non-Treponemal) assay	1	1
Spinreact	RPR Carbon	22	22
Tulip Diagnostics	Carbogen (RPR Card Test)	14	14
Total TNT		106	106
Tests tréponémiques			
Abbott	Architect Syphilis TP	18	18
	Alinity i Syphilis TP	13	13
Alphadia	Treponema pallidum IgG	1	1
Axis Shield	Microsyph TPHA	3	3
BioRad	TPHA 200	4	4
	Syphilis Total Ab	1	1
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	30	30
Diesse	Chorus Syphilis screen recombinant	3	3
Euroimmun	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgG	1	1
	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgM	1	1
	WB Treponema pallidum IgG	1	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgG	1	1
	Treponema pallidum FTA-Abs IgM	1	1
Fujirebio	Serodia TPPA	37	36
	Inno-Lia Syphilis Score	2	2
Mikrogen	RecomLine Treponema IgG	2	2
	RecomLine Treponema IgM	2	2
Newmarket Biomedical	Newbio-PK TPH	2	2
Omega Diagnostics	Immutrep TPHA	-	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	3	3
Oxoid	TPHA test	1	1
Roche	Elecsys syphilis	25	25
	Cobas syphilis	13	13
Shenzen YHLO	Anti-TP I – Flash	1	1
Siemens	ADVIA Centaur Syph	5	5
	Immulate 2000 Syphilis screen	4	4
	Atellica Syphilis	4	4
	Cellognost Syphilis H Combipack	1	1
Standard Diagnostics	Syphilis 3.0 Rapid test	1	1
Total TT		181	181
Total		287	287

6.2.4. RÉSULTATS

6.2.4.1. L'échantillon IS/18099

6.2.4.1.1. Tests non-tréponémiques

103 laboratoires ont obtenu un résultat négatif. Deux laboratoires ont obtenu un résultat positif. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

6.2.4.1.2. Tests tréponémiques

a) Les résultats des tests qui déterminent les anticorps « totaux ».

127 laboratoires ont obtenu un résultat positif (les laboratoires qui ont utilisé 2 trousse, ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 trousse). Un laboratoire a obtenu un résultat négatif.

Pour les trousse avec au moins 6 utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.4. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests tréponémiques pour l'échantillon IS/18099 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Alinity i Syphilis TP (index)	13	11.40	10.51	12.32	1.00
Architect Syphilis TP (index)	18	13.19	11.28	16.22	1.00
Liaison Treponema Screen (index) ¹	29	26.6	24.0	34.9	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Serodia-TPPA (titre) ²	36	1/320	1/80	1/2560	Résultat positif dans la « cupule test »
Cobas syphilis (index) ²	12	61.42	57.00	73.24	1.00
Elecsys syphilis (index)	25	60.70	54.70	66.56	1.00

¹ De plus un laboratoire a répondu un titre >1/1280.

² De plus un laboratoire a répondu un titre de 0 (il s'agit du laboratoire qui a donné l'interprétation « négatif »).

³ De plus un laboratoire a répondu un titre de 1/640.

b) Les résultats des tests qui déterminent les IgG

Six laboratoires ont obtenu un résultat positif et 2 un résultat borderline.

c) Les résultats des tests qui déterminent les IgM.

Trois laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire un résultat borderline.

6.2.4.1.3. Interprétations cliniques

126 laboratoires ont donné une interprétation clinique. Elles sont reprises dans le tableau suivant:

Tableau 6.2.5. Interprétations cliniques pour l'échantillon IS/18099 (syphilis)

Interprétation	Nombre
Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique..	84
Présence d'anticorps compatible avec une infection très précoce de 1 à 3 semaines avant. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique. ¹	15
Stade précoce d'une syphilis traitée ou non traitée. A comparer à la clinique, Contrôle dans 2 semaines. ²	1
Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase !!!précoce!!! d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. ³	1
Présence d'anticorps suggestive soit d'une syphilis guérie soit d'une infection très précoce. Résultat à confronter au contexte clinique du patient. ⁴	1
Présence d'anticorps suggestive d'une infection primaire. Il est conseillé d'effectuer un traitement. ⁵	3
Possibilité de syphilis ancienne et traitée. Une infection récente ne peut être exclue. Présence d'un chancre? Si contact à risque récent, à contrôler d'ici 1 à 3 semaines. ⁶	1
Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. La prudence est de rigueur : anamnèse et examen clinique indispensables !!! ⁷	1
Présence d'anticorps compatible soit : - avec une infection récente de 1 à 3 semaines avant. a confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique. Un second sérum prélevé au minimum 1 semaine d'écart est nécessaire pour mettre en évidence une possible séroconversion - avec une syphilis contractée dans le passé ou traitée. ⁸	1
Sur notre site, nous réalisons uniquement les demandes de sérologie dans le but de transplantation. La présence d'anticorps (cobas) pourrait être compatible avec une phase tardive d'une infection récente ou d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. Cependant n'effectuant pas de TNT nous ne pouvons pas différencier une infection ancienne d'une infection récente. Nous ne suivons pas l'algorithme classique utilisé pour tous nos autres patients et réalisé sur le siège général ⁹	1
Présence d'anticorps TPHA suggestive d'une infection. Le stade de l'infection ne peut pas être déterminé étant donné que notre site n'effectue pas de RPR (envoi au siège général) ¹⁰	1
Présence d'anticorps TPHA, à compléter avec RPR pour faire la distinction syphilis active ou syphilis ancienne/traitée. ¹¹	1
Résultat positif. Nécessite des tests complémentaires pour une interprétation finale (envoi en sous-traitance) ¹²	1
Screening syphilis positif : confirmation par TPHA et VDRL en cours (ces 2 tests sont envoyés en sous-traitance) ¹³	1
Présence d'anticorps. Echantillon envoyé pour détermination du RPR. ¹⁴	1
Anticorps détectables; VDRL est effectué (analyse sous-traitée) ¹⁵	1
L'interprétation est impossible étant donné que le laboratoire n'effectue que les TT ¹⁶	10
Absence d'anticorps. ¹⁷	1
Total	126

¹ Résultats analytiques de ces laboratoires: TT positifs & TNT négatifs.

² Résultats analytiques de ce laboratoire: TT & TNT positifs.

³ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs & TNT négatifs.

⁴ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs & TNT négatifs.

⁵ Résultats analytiques de ces laboratoires: 1 labo: TT positifs & TNT négatifs; 2 labos': TT positifs, TNT non effectués.

⁶ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs & TNT négatifs.

- ⁷ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs & TNT négatifs.
- ⁸ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs & TNT négatifs.
- ⁹ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs, TNT non effectués.
- ¹⁰ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs, TNT non effectués.
- ¹¹ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs, TNT non effectués.
- ¹² Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs, TNT non effectués.
- ¹³ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs, TNT non effectués.
- ¹⁴ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs, TNT non effectués.
- ¹⁵ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs, TNT non effectués.
- ¹⁶ Résultats analytiques de ces laboratoires: TT positifs, TNT non effectués
- ¹⁷ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT & TNT négatifs.

Quelques laboratoires qui ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique. » ont mentionné une remarque supplémentaire dans le texte libre:

- Profil plutôt en faveur d'une "cicatrice sérologique" d'une infection ancienne mais parfois observé en phase primaire. A suivre par des contrôles sérologiques
- Ceci peut être compatible avec une infection ancienne, traitée ou non. Mais le RPR peut également ne devenir positif qu'après 4-6 semaines. Je demanderais donc un échantillon de suivi et/ou demander si le patient a déjà eu une infection par syphilis dans le passé.
- A exclure la phase primaire avec l'apparition tardive du VDRL par rapport au test TT. Un contrôle sérologique dans 4 semaines est souhaitable en cas de suspicion clinique
- Mais pas de symptômes... Normalement nous ferions confirmer le TPHA comme test par un deuxième test TPPA. Si ce deuxième test négatif==> le TPHA pourrait être faussement positif, et il n'y a donc pas d'Ac détectables.

Quelques laboratoires qui ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps compatible avec une infection très précoce de 1 à 3 semaines avant. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique. » ont mentionné une remarque supplémentaire dans le texte libre:

- Second prélèvement souhaitable
- L'interprétation « Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique. » n'est pas exclue
- Le test tréponémique peut être jusque 1 à trois semaines plus tôt positif que le test non-tréponémique (VDRL) au début d'une infection. Pour cette raison nous conseillons en cas de forte suspicion de prélever un échantillon de suivi après 1-2 semaines
- Contrôler sérologie sur un second sérum (début de séroconversion ?). A confronter aux données cliniques (exclure ancienne syphilis traitée ?)

Les laboratoires qui ont obtenu un résultat analytique déviant ont donné les interprétations suivantes:

- TNT positifs
 - o Présence d'anticorps suggestive d'une infection primaire. Il est conseillé d'effectuer un traitement.
 - o Stade précoce d'une syphilis traitée ou non traitée. A comparer à la clinique. Contrôle dans 2 semaines
- TNT Borderline
 - o Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique.
- TT négatifs
 - o Absence d'anticorps

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

- TT totaux (mais bien 2^e TT totaux et TNT): 1 labo
- TNT (mais bien TT totaux): 1 labo
- TT totaux (seul test): 1 labo

6.2.4.2. L'échantillon IS/18095

6.2.4.2.1. Tests non-tréponémiques

104 laboratoires ont obtenu un résultat positif et deux laboratoires un résultat négatif.

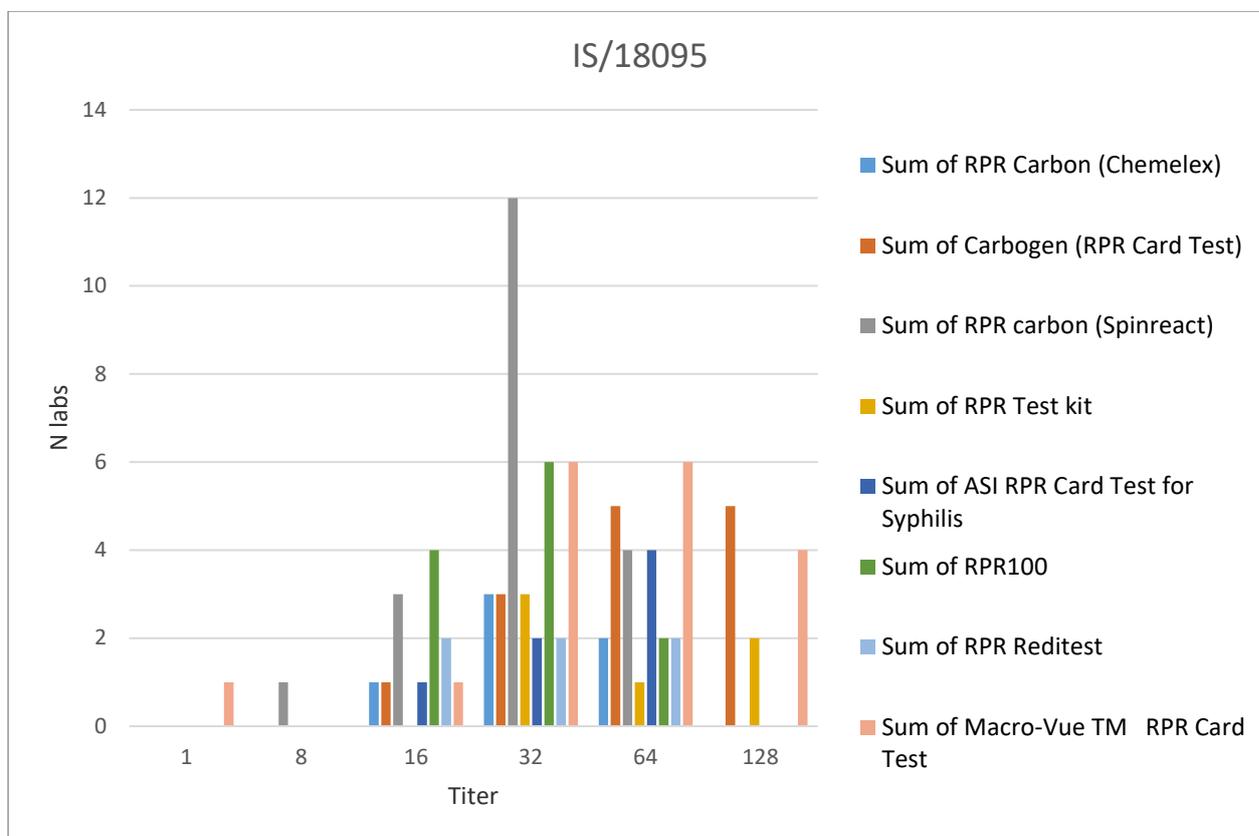
Pour les trousse avec au moins 6 utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.6. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests non- tréponémiques pour l'échantillon IS/18095 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum
ASI RPR Card Test for Syphilis (titre) ¹	7	1/64	1/16	1/64
Macro-Vue RPR Card Test (titre)	18	1/64	1/1	1/256
RPR Reditest (titre)	6	1/32	1/16	1/64
RPR100 (titre)	12	1/32	1/16	1/64
RPR Carbon Chemelex (titre)	6	1/32	1/16	1/64
RPR Test kit (titre)	6	1/32 – 1/64	1/32	1/128
RPR carbon Spinreact (titre) ²	20	1/32	1/8	1/64
Carbogen (RPR Card Test) (titre)	14	1/64	1/16	1/128

¹ Un laboratoire n'a pas donné de résultat quantitatif.

² Un laboratoire n'a pas donné de résultat quantitatif. Un laboratoire a exprimé le résultat en Test Value.



6.2.4.2.2. Tests tréponémiques

a) Les résultats des tests qui déterminent les anticorps « totaux ».

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif (les laboratoires qui ont utilisé plusieurs trousses, ont obtenu des résultats positifs avec ces 2 trousses

Pour les trousses avec au moins 6 utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum. Ils sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 6.2.7. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests tréponémiques pour l'échantillon IS/18095 pour les trousses les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Alinity i Syphilis TP (index)	13	17.57	10.80	18.90	1.00
Architect Syphilis TP (index)	18	23.01	14.28	27.66	1.00
Liaison Treponema Screen (index) ¹	29	41.6	28.4	48.3	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Serodia-TPPA (titre) ²	33	1/10240	1/640	1/163840	Résultat positif dans la « cupule test »
Cobas syphilis (index) ³	12	252	206	271	1.00
Elecsys syphilis (index)	25	241	192	272	1.00

¹ De plus un laboratoire a répondu un titre >1/20480.

² De plus 3 laboratoires ont répondu un titre >1/20480.

³ De plus un laboratoire a répondu un titre >1/20480.

b) Les résultats des tests qui déterminent les IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif

c) Les résultats des tests qui déterminent les IgM.

Un laboratoire a obtenu un résultat négatif, 1 laboratoire un résultat positif en 2 laboratoires un résultat borderline.

6.2.4.2.3. Interprétations cliniques

126 laboratoires ont donné une interprétation clinique. Elles sont reprises dans le tableau suivant:

Tableau 6.2.8. Interprétations cliniques pour l'échantillon IS/18095.

Interprétation	Nombre
Présence d'anticorps suggestive d'une réinfection. Il est conseillé d'effectuer un traitement.	79
Présence d'anticorps suggestive d'une infection primaire. Il est conseillé d'effectuer un traitement. ¹	19
Présence d'anticorps suggestive d'une infection active. Il est conseillé d'effectuer un traitement. Les anticorps anti-syphilis restent après une première infection positive à vie chez >90% des patients traités. RPR/VDRL doit être utilisé pour le suivi du traitement et pour la recherche d'une réinfection. ²	1
Présence d'anticorps suggestive de syphilis active.. ³	1
Profil sérologique compatible avec une infection aiguë. Traitement conseillé. Résultat à confronter au contexte clinique du patient... ⁴	1
Stade précoce d'une syphilis traitée ou non traitée. A comparer à la clinique, Contrôle dans 2 semaines. ⁵	1
Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique. ⁶	6
Présence d'anticorps TPHA suggestive d'une infection. Le stade de l'infection ne peut pas être déterminé étant donné que notre site n'effectue pas de RPR (envoi au siège général). ⁷	1
Présence d'anticorps TPHA, à compléter avec RPR pour faire la distinction syphilis active ou syphilis ancienne/traitée. ⁸	1
Sur notre site, nous réalisons uniquement les demandes de sérologie dans le but de transplantation. La présence d'anticorps (cobas) pourrait être compatible avec une phase tardive d'une infection récente ou d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. Cependant n'effectuant pas de TNT nous ne pouvons pas différencier une infection ancienne d'une infection récente. Nous ne suivons pas l'algorithme classique utilisé pour tous nos autres patients et réalisé sur le siège général ⁹	1
Présence d'anticorps. Echantillon envoyé pour détermination du RPR. ¹⁰	1
Anticorps détectables; VDRL est effectué (analyse sous-traitée) ¹¹	1
Résultat positif. Nécessite des tests complémentaires pour une interprétation finale (envoi en sous-traitance) ¹²	1
Screening syphilis positif : confirmation par TPHA et VDRL en cours (ces 2 tests sont envoyés en sous-traitance) ¹³	1
La valeur du TPHA était >20480 (pas dilué d'avantage). Une interprétation est impossible sans RPR. ¹⁴	1
L'interprétation est impossible étant donné que le laboratoire n'effectue que les TT ¹⁵	10
Total	126

¹ Résultats analytiques de ces laboratoires: 18 labs: TT & TNT positifs; 1 labo TT positifs et TNT négatifs.

² Résultats analytiques de ce laboratoire: TT & TNT positifs.

³ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT & TNT positifs.

⁴ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT & TNT positifs.

⁵ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT & TNT positifs.

⁶ Résultats analytiques de ces laboratoires: 4 labs: TT & TNT positifs; 2 labs TT positifs et TNT pas effectués.

⁷ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

⁸ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

⁹ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

¹⁰ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

¹¹ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

¹² Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

¹³ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

¹⁴ Résultats analytiques de ce laboratoire: TT positifs et TNT pas effectués.

¹⁵ Résultats analytiques de ces laboratoires: TT positifs et TNT pas effectués.

Quelques laboratoires qui ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps suggestive d'une réinfection. Il est conseillé d'effectuer un traitement. » ont mentionné une remarque supplémentaire dans le texte libre:

- IS 18095: L'interprétation est différente selon que l'on considère que:
 - o Un an auparavant il s'agissait d'une cicatrice sérologique d'une ancienne infection, alors à ce moment-ci il s'agit d'une réinfection ou
 - o un an auparavant il s'agissait d'une infection en phase primaire avec VDRL-, à ce moment-ci il s'agit alors d'une infection primaire non traitée
- Si l'on tient compte d'une sérologie TT positive un an plus tôt, il s'agit clairement d'une réinfection.
- Envoi à l'IMT (Institut de Médecine Tropical) Kronenburgstraat à Anvers; RPR > 1/4 et symptômes ==> probablement une infection primaire qui n'est pas encore traitée.

Les laboratoires qui ont obtenu un résultat analytique déviant pour les TNT (négatif) mais un résultat positif pour les TT ont donné les interprétations suivantes:

- Présence d'anticorps suggestive d'une réinfection. Il est conseillé d'effectuer un traitement.
- Présence d'anticorps suggestive soit d'une phase tardive d'une infection récente, soit d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. A confirmer via le dossier, le traitement antérieur et la clinique.

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

- 2 TT totaux (mais bien TNT): 1 labo
- TT totaux (mais bien 2^e TT totaux et TNT): 2 labos

6.2.5. QUESTION CONCERNANT LES ALGORITHMES UTILISÉS POUR LE DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

123 laboratoires ont répondu à cette question. 99 laboratoires ont choisi une des options proposées. 24 ont préféré leur propre suggestion.

Tableau 6.2.9. Algorithmes utilisés pour le diagnostic de la syphilis

Algorithme	N labos
D'abord TT → si TT positif → 2 ^{de} TT et TNT combiné	24
TNT et/ou TT selon demande du médecin traitant	22
Toujours TNT et TT combinés → STOP	18
D'abord TT → si TT positif → TNT → si TNT positif STOP, si TNT négatif → 2 ^{de} TT	17
D'abord TT → si TT positif → TNT → STOP indépendant du résultat TNT	9
Toujours TNT et TT combinés → TT positif et TNT négatif → toujours 2 ^{de} TT	7
Toujours TNT et TT combinés → TT positif et TNT négatif → seul 2 ^{de} TT si 1 ^{ste} TT faiblement réactif	2
D'abord TT si TT positif, TNT.	2
Ac totaux: si positif VDRL et TPHA envoyés dans labo Extérieur	1
Dépendant de la demande: si le généraliste ne demande que le TT et qu'il est positif, nous effectuons également le TNT. Si les deux sont demandés nous effectuons les 2 indépendamment du résultat. Si le TT est faible positif, il est toujours envoyé pour confirmation par une autre méthode.	1
D'abord TT si - stop si + TNT si TNT < 1/8 2 ^{ème} TNT si TNT > 1/8 = infection active	1
D'abord TT si TT positif : TNT puis STOP. Si TT pos faible / douteux avec TNT négatif -> autre TT (TPHA).	1
D'abord TT si TT positif 2 ^{ème} TT (dépistage des dons de sang)	1
D'abord TT si TT positif TNT STOP indépendant du résultat TNT.	1
D'abord TT si TT positif 2 ^e TT et TNT combinés. Si le 2 ^e TT et/ou le TNT sont positifs un test de confirmation est effectué (T. pallidum IgG LIA).	1
D'abord TT si TT positif TNT si TNT positif STOP, Si TNT négatif soit STOP soit en cas de faible TT un 2 ^e TT en cas de patient non connu.	1
D'abord TT si TT positif TNT. si TNT positif STOP, Si TNT négatif et si TT relativement faible et/ou clinique douteuse envoi pour un 2 ^e TT	1
D'abord TT si TT positif TNT. Si TNT positif STOP. Si TNT négatif ET 1) pas de clinique, pas de syphilis dans le passé : blot pour confirmation. Blot positif STOP. Blot négatif STOP sauf si enceinte ou suspicion clinique -> répéter TNT étant donné que blot et TNT peuvent être négatifs en cas d'infection précoce 2) si infection traitée dans le passé, stop	1
En fonction du contexte clinique TT + TNT ou d'abord TT (en cas de dépistage asymptomatique) et + TNT si TT positif	1
Lorsque le test sur Architect est positif, on effectue le test Fujirebio comme second test. Nous n'effectuons pas de diagnostic étant un centre de transfusion. En cas de test positif, les donneurs sont informés et sont renvoyés vers leur MT.	1
Notre laboratoire réalise un screening avec des Ac. totaux et si positif, envoi en sous-traitance pour confirmation Westernblot et TNT (activité faible pour notre laboratoire)	1
TNT et/ou TT selon demande du médecin mais si TT positif toujours 2 ^e test TT comme confirmation	1
TNT et/ou TT selon demande du médecin traitant, en cas de résultats douteux les informations cliniques sont demandées et en fonction de ces infos demande d'échantillon de contrôle ou exécution de tests complémentaires (envoi à un laboratoire externe).	1
TNT et/ou TT selon demande du médecin traitant. Si un des 2 tests est positif: effectuer l'autre test. En cas d'incertitude envoi de l'échantillon pour un: 2 ^e TT.	1
Pas exécuté au laboratoire. Seul la détection des AC est effectuée...	1
Screening Elecsys syphilis. Si positif, réalisation du TPHA, VDRL et IFA Anti-Treponema pallidum IgG	1
Sur notre site, nous réalisons uniquement les demandes de sérologie dans le but de transplantation. La présence d'anticorps (cobas) pourrait être compatible avec une phase tardive d'une infection récente ou d'une syphilis contractée dans le passé ou traitée. Cependant n'effectuant pas de TNT nous ne pouvons pas différencier une infection ancienne d'une infection récente. Nous ne suivons pas l'algorithme classique utilisé pour tous nos autres patients et réalisé sur le siège général.	1
TNT et/ou TT selon demande du médecin traitant mais si le TT demandé seul est positif on ajoute nous même le TNT	1
TNT et/ou TT selon médecin. Si TT positif --> ajout TNT si pas déjà demandé. Si TT positif et TNT négatif, envoi pour 2 ^{ème} TT (agglutination)	1
Toujours 1 ^{er} TT. Si positif, faire TNT et 2 ^e TT. Exception: TNT et titrage TPHA (=2 ^e TT) explicitement demandé par le prescripteur auquel les 3 Test sont fait.	1
Total	123

111 laboratoires ont mentionné quel test ils utilisent comme 1^e TT.

Tableau 6.2.10. Premier TT effectué pour le diagnostic de la syphilis.

Firme	Trousse	N labos
Abbott	Alinity i Syphilis TP	12
	Architect Syphilis TP	17
Axis Shield	Microsyph TPHA	1
DiaSorin	LIAISON Treponema screen	24
Diesse	Chorus Syphilis screen recombinant	2
Fujirebio	Serodia-TPPA	8
Newmarket Biomedical	Newbio-PK TPH	2
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	3
Roche	Cobas syphilis	11
	Elecsys syphilis	19
Siemens	ADVIA Centaur Syph	3
	Atellica Syphilis	3
	Cellognost Syphilis H Combipack	1
	Enzygnost Syphilis	1
	Immulate 2000 Syphilis screen	3
Shenzen YHLO	Anti-TP I – Flash	1
Total		111

94 laboratoires ont mentionné quel TNT ils effectuent: 12 laboratoires ont indiqué qu'ils soustraient la détermination du TNT.

Tableau 6.2.11. TNT effectué pour le diagnostic de la syphilis.

Firme	Trousse	N labos
Arlington Scientific	RPR Card Test for Syphilis	8
Becton Dickinson	Macro-Vue TM RPR Card Test	19
	VDRL Cardiolipin Ag	1
Biokit	RPR Reditest	5
bioMérieux	RPR-nosticon II	1
BioRad	RPR100	12
Chemelex	RPR Carbon	5
K Labkit	RPR Carbon 250 Tests	1
Omega Diagnostics	Immutrep RPR	2
	Immutrep Carbon Antigen	2
Plasmatec	RPR Test kit	5
Sekisui	RPR (Non-Treponemal) assay	1
Spinreact	RPR carbon	17
Tulip Diagnostics	Carbogen (RPR Card Test)	15
Totaal		94

42 laboratoires ont mentionné quel test ils utilisent comme 2^e TT. 37 laboratoires ont indiqué qu'ils soustraient la détermination du 2^e TT.

Tableau 6.2.12. Deuxième effectué pour le diagnostic de la syphilis.

Firme	Trousse	N labos
Axis Shield	Microsyph TPHA	2
BioRad	Syphilis Total Ab	1
	TPHA 200	3
DiaSorin	LIAISON Treponema screen	1
Euroimmun	WB Treponema pallidum IgG	3
Fujirebio	Inno-Lia Syphilis Score	2
	Serodia-TPPA	26
Mikrogen	RecomLine Treponema IgG	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	1
OxOïd	TPHA Test	1
Standard Diagnostics	Syphilis 3.0 Rapid test	1
Total		42

6.2.6. COMMENTAIRE SUR LES RÉSULTATS DE L'ENQUÊTE

Les deux échantillons étaient originaires du même patient. Au moment du prélèvement de l'échantillon IS/18099 le patient n'avait pas de symptômes mais il avait eu un contact à haut risque un mois auparavant. Les anticorps tréponémiques (TT) étaient positifs avec des titres/ratios relativement élevés. Les anticorps non tréponémiques (TNT) étaient négatifs. Ceci est compatible avec une sérologie témoignant d'une ancienne infection. Théoriquement la durée d'incubation d'une infection syphilitique est de 21 jours et peut atteindre 90 jours. Une réinfection ne peut donc pas encore être exclue avec certitude.

Pour l'échantillon IS/18095 aussi bien les TT que les TNT ont été répondus comme positifs par presque tous les laboratoires. Le patient avait un bouton à la bouche. Le résultat sérologique est compatible avec une réinfection (étant donné qu'il a déjà des antécédents) ou le stade primaire d'une infection par syphilis. Ces 2 réponses ont été considérées comme correctes. Aussi bien le titre des TT que celui des TNT avaient augmenté dans cet échantillon de suivi. Ceci en combinaison avec les symptômes indique qu'il ne peut pas s'agir d'un stade tardif, d'une syphilis ancienne ou d'une syphilis traitée.

De nouveau nous remarquons de grandes différences dans les titres des TNT et nous référons au commentaire de l'enquête 2018/2. Il est toujours conseillé d'analyser les échantillons de suivi dans un même « run » afin de permettre une interprétation correcte.

Algorithmes utilisés pour le diagnostic de la syphilis

Mondialement on utilise algorithmes différents pour le diagnostic de la syphilis (1,2). On peut distinguer 3 algorithmes qui ont chacun leurs avantages et leurs désavantages:

- L'algorithme traditionnel: on commence avec la détermination des TNT, de préférence quantitatif pour repérer un effet prozone. Ceci peut être utile dans une situation à haute prévalence étant donné que la plupart des personnes sont déjà positifs pour les TT et que les TNT sont nécessaires pour déterminer l'activité de la maladie. Cependant les TNT ont une sensibilité plus basse que les TT, surtout en cas d'une détection très précoce de la syphilis. Les TNT positifs doivent toujours être suivis par une détermination des TT sur le même échantillon.
- L'algorithme inversé: on commence par les TT. Ceci est souvent utilisé dans les laboratoires plus grands qui utilisent une EIA/ELISA/CLIA automatisée qui permet une plus grande capacité. Dans une situation à basse prévalence l'utilisation des TT comme test de dépistage peut cependant donner un nombre élevé de résultats faux positifs. Quand il y a une discordance entre les TT automatisés et les TNT (résultat négatif), le résultat initial des TT doit être confirmé par une deuxième détermination des TT. On peut laisser dépendre l'utilisation d'une deuxième détermination des TT des symptômes du patient, des antécédents, du ratio des premiers TT (les faux positifs ont souvent des ratios plus bas).

- L'algorithme avec TT et TNT combinés: les 2 tests sont toujours effectués. Ceci est surtout utile dans les situations dans lesquelles une syphilis précoce arrive fréquemment (chancres, population à haute risque, ...). Dans certains cas les TNT deviennent plus tôt réactifs que les TT.

Le questionnaire envoyé aux laboratoires belges montre qu'aucun laboratoire n'utilise l'algorithme traditionnel et commence par les TNT. Environ la moitié des laboratoires utilisent un algorithme inversé complet. 10% supplémentaires utilisent également l'algorithme inversé mais ne le confirment pas par un 2^e TT en cas de discordance entre le 1^e TT et les TNT. Environ 15% effectuent toujours une détermination des TT et TNT et 23% effectuent ce que le médecin a demandé. Dans ces 3 derniers groupes le risque existe qu'une combinaison de TT positifs et TNT négatifs puisse-t-être faussement positive, surtout dans une situation de basse prévalence. Ceci a des conséquences inutiles en ce qui concerne le traitement et le suivi du patient. **Dans ce cas, une deuxième détermination des TT pour confirmation est nécessaire.** Les ratios faibles, faux positifs, des TT initiaux peuvent rester présents dans un échantillon de suivi, donc un échantillon de suivi ne donne pas de solution.

Quand deux TT sont utilisés dans l'algorithme il est également conseillé de commencer par le test le plus sensible et le moins spécifique, par exemple une EIA/CLIA/ELISA automatisée. Ces essais comprennent souvent un ou plusieurs antigènes recombinants (p. ex. Tp15, Tp17, Tp47) qui sont très sensibles. Certains de ces antigènes peuvent cependant montrer des réactions croisées (3). Comme deuxième test (de confirmation), il est conseillé d'utiliser des tests plus spécifiques comme le *Treponema pallidum* Particle Agglutination test (TPPA) ou le *Treponema pallidum* Haemagglutination test (TPHA) (1). Il est déconseillé d'effectuer la confirmation par un test rapide ou par un test automatisé avec une spécificité semblable ou inférieure.

Tous les médecins ne sont toujours bien informés sur la valeur prédictive positive et négative et sur l'interprétation des résultats discordants TT/TNT. **Il est absolument nécessaire que le laboratoire fournisse toujours une interprétation au médecin.**

Van den Bossche Dorien, Klinisch Referentielaboratorium, Instituut voor Tropische Geneeskunde.

Referenties

1. Janier M et al. 2020 European guideline on the management of syphilis.
2. Soreng K et al. 2014 Serologic Testing for Syphilis: benefits and challenges of a reverse algorithm. Clin Microbiol Newsl 2014.
3. Marangoni A et al. Laboratory diagnosis of syphilis with automated immunoassays. J Clin Lab Anal. 2009; 23(1):1-6.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2023

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités d'experts ou du groupe de travail EEQ.