

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

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
MICRO/SERO/PARA
ENQUETE 2016/1**

Microbiologie

Salmonella Vilvoorde
Clostridium perfringens
Staphylococcus aureus
Neisseria cinerea
Frottis d'hémoculture

Parasitologie

Plasmodium ovale
Plasmodium falciparum

Sérologie

Brucellose
Ag RSV

ISP/Micro/Séro/Para/104

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

www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS

ISP (secrétariat)	TEL: 02/642.55.22	FAX: 02/642.56.45
Coordinateur d'enquête: Dr. VERNELEN K.	TEL: 02/642.55.29 e-mail: kris.vernelen@wiv-isp.be	
Remplaçant coordinateur d'enq.: Dr. CHINA B.	TEL: 02/642.53.85 e-mail: bernard.china@wiv-isp.be	
<u>Experts:</u>		
Dr. BERTH Mario	TEL: 03/30.30.809 e-mail: mario.berth@aml-lab.be	FAX: 03/30.30.882
Pharm. BOEL An	TEL: 053/72.47.85 e-mail: an.boel@olvz-aalst.be	FAX: 053/72.45.88
Dr. BOELENS Jerina	TEL: 093/32.19.69 e-mail: jerina.boelens@uzgent.be	FAX: 093/32.36.40
Dr. BOERAS Anca	TEL: 042/24.83.58 e-mail: anca.boeras@chc.be	FAX: 042/24.84.73
Dr. CLAEYS Geert	TEL: 09/332.36.45 e-mail: geert.claeys@ugent.be	FAX: 09/332.49.85
Dr. DE BEENHOUWER Hans	TEL: 053/72.42.72 e-mail: hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be	FAX: 053/72.45.88
Dr. DE GHELDRE Yves	TEL: 02/340.41.34 e-mail: yves.degheldre@chirec.be	FAX: 02/340.41.79
Dr. DELFORGE Marie-Luce	TEL: 02/555.34.53 e-mail: marie-luce.delforge@erasme.ulb.ac.be	FAX: 02/555.64.59
Dr. MAGERMAN Koen	TEL: 011/30.97.40 e-mail: koen.magerman@jessazh.be	FAX: 011/30.97.50
Dr. PADALKO Elizaveta	TEL: 09/332.21.08 e-mail: elizaveta.padalko@uzgent.be	FAX: 09/332.49.85
Dr. REYNDERS Marijke	TEL: 050/45.39.27 e-mail: marijke.reynders@azsintjan.be	FAX: 050/45.26.19
Dr. SAEGEMAN Veroniek	TEL: 016/34.24.23 e-mail: veroniek.saegeman@uzleuven.be	FAX: 016/34.70.10
Dr. VAN ACKER Jos	TEL: 09/224.64.45 e-mail: jos.vanacker@azstlucas.be	FAX: 09/224.64.46
Dr. VAN ESBROECK Marjan	TEL: 03/247.64.37 e-mail: mvesbroeck@itg.be	FAX: 03/247.64.40
Dr. VERROKEN Alexia	TEL: 02/764.67.32 e-mail: alexia.verroken@uclouvain.be	FAX: 02/764.69.33
Pharm. VIJGEN Sara	TEL: 011/33.82.22 e-mail: sara.vijgen@jessazh.be	FAX: 011/33.82.08
Dr. WOESTYN Sophie	TEL: 056/85.58.85 e-mail: sophie.woestyn@skynet.be	FAX: 056/85.58.86

Réunion du comité d'experts : 14/04/2016

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/_fr/rapports_annee.htm

Autorisation de diffusion de rapport: par Kris Vernelen (Coordinateur d'enquête) le 17/10/2016



Tables des matières

Tables des matières	4
I. Remarques générales	5
II. Identifications	6
2.1 Culture M/4813 <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. <i>Vilvoorde</i>	6
2.2 Culture M/8480 <i>Clostridium perfringens</i>	7
2.3 Culture M/13803 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.4 Culture M/13811 <i>Neisseria cinerea</i>	10
III. Résultats des identifications	12
3.1. Culture M/4813 <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. <i>Vilvoorde</i> (selles) .	12
3.2. Culture M/8480 <i>Clostridium perfringens</i> (tissu sous-cutané)	14
3.3. Culture M/13803 <i>Staphylococcus aureus</i> (hémocultures)	15
3.4. Culture M/13811 Absence de pathogènes (écouvillon génital)	16
IV. Antibiogramme	19
4.1. Culture M/4813 (<i>Salmonella Vilvoorde</i>)	20
4.2. Culture 13803 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	27
V. Parasitologie	35
5.1 Les échantillons	35
5.2 Les résultats pour l'échantillon P/10696	36
5.3 Les résultats pour l'échantillon P/11990	38
VI. Sérologie	47
6.1 Brucellose	47
6.2 Antigène RSV	55

I. Remarques générales

Pour la 1^e enquête du cycle 2016 (enquête 2016/1), le matériel suivant a été expédié le 11 janvier 2016.

1.1. 4 échantillons lyophilisés pour identification et 1 frottis pour coloration de Gram.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2. Deux frottis sanguins pour la recherche de parasites.

1.3. Deux échantillons de plasma pour la sérologie **de la brucellose et 3 échantillons** pour la détection de **l'Ag de RSV**.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	150
2.	Pour la parasitologie :	160
3.	Pour la sérologie	
	Brucella :	53
	Ag RSV:	132

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

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

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

Pour la bactériologie :

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/microbiologie.htm
et puis cliquer sous « Codes » sur « Germes envoyés »

Pour la parasitologie :

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/parasitologie.htm
et puis cliquer sous « Codes » sur « Parasites déjà envoyés »

Pour la sérologie infectieuse :

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/fr/inf_serologie.htm
et puis cliquer sur « Liste des paramètres évalués »

II. Identifications

2.1 Culture M/4813 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. *Vilvoorde*

Nous référons aux rapports des enquêtes précédentes concernant les *Salmonella* species; les 6 dernières étaient: 2013/3 (*S. Duisburg*) (M/4807), 2010/3 (*S. typhimurium* serovar *Copenhagen*) (M/10452), 2008/2 (*S. Derby*) (M/8519), 2007/2 (*S. arizonae*) (M/7147), 2004/3 (*S. Anderlecht*) (M/5568), 2004/1 (*S. cerro*) (M/4814).

2.2 Culture M/8480 *Clostridium perfringens*

M/8480 était un *Clostridium perfringens* dont l'identification n'a pas posé de problème. La souche a été isolée à partir du tissu sous-cutané d'un patient de 52 ans présentant une fasciite nécrosante.

Les fasciites nécrosantes sont des infections rares mais graves présentant une mortalité élevée. Elles atteignent toujours le fascia superficialis et associent ou non une atteinte musculaire (myonécrose ou gangrène gazeuse). Le tissu cutané est constitué de 4 éléments : l'épiderme, le derme (tissu conjonctif,...), l'hypoderme (tissu graisseux et fascia superficialis inconstant) et l'aponévrose superficielle qui sépare l'hypoderme du tissu musculaire. L'on distingue les dermohypodermites bactériennes non nécrosantes (érysipèle et cellulite) qui concernent la peau jusqu'au fascia superficialis des dermohypodermites nécrosantes qui par définition atteignent toujours le fascia superficialis et parfois le muscle. Le diagnostic d'une fasciite nécrosante est clinique : discordance entre douleurs intenses et atteinte cutanée minimale (au stade initial), œdème marqué, signes infectieux systémiques sévères, progression rapide des lésions cutanées, formation de vésicules et anesthésie cutanée. Une exploration chirurgicale doit être réalisée rapidement car un débridement rapide est déterminant pour le pronostic. Les fasciites nécrosantes sont le plus souvent polymicrobiennes (association de bactéries aérobies et anaérobies). Quelques exceptions sont toutefois à retenir dont la fasciite nécrosante à *Streptocoque* du groupe A et la gangrène gazeuse à *Clostridium perfringens*.

C. perfringens est un germe ubiquitaire isolé à partir du sol, de l'eau, de l'air... Commensal du tube digestif, on peut le retrouver sur la peau saine. C'est l'espèce de *Clostridium* la plus fréquemment isolée dans les échantillons cliniques, à l'exception des selles. Les infections à *C. perfringens* autrefois redoutables (gangrène gazeuse, septicémie post abortum) sont devenues rares. Le germe est rencontré de nos jours surtout dans les suppurations d'origine digestive, associé à une flore mixte. Certaines souches de type A sont parfois impliquées dans des toxi-infections alimentaires collectives souvent bénignes.

Trois types d'infections des tissus mous ont été décrits pour *Clostridium* :

- 1) Contamination ou colonisation d'une plaie qui n'évolue pas vers l'infection.
- 2) Cellulite à anaérobies. Ceci se produit en présence de tissus dévitalisés dans une plaie. Il y a production locale de gaz mais l'infection se limite au fascia. Il n'y a pas de bactériémie ni d'invasion des tissus sains ou du muscle.
- 3) Gangrène gazeuse ou myonécrose. Il s'agit d'une invasion aiguë d'un muscle sain endommagé par un traumatisme ou une ischémie. L'infection est fulminante avec myonécrose et toxémie sévère (choc, insuffisance rénale, hémolyse intravasculaire,..) suite à l'action d'exotoxines puissantes. Elle est souvent d'origine traumatique (plaies contuses, déchiquetées comprenant des tissus dévitalisés et mal irrigués qui assurent des conditions anaérobies suffisantes) mais peut être « post-opératoire » (surtout chirurgie digestive) ou « médicale » (sujets débilisés avec surinfection de plaies, infection suite à une injection intramusculaire,...). L'examen direct montre de gros bacilles à Gram variable, ce qui permet d'exclure une myonécrose à *Streptocoques* du groupe A ; ainsi que l'absence typique de globules blancs, lysés par les exotoxines. Le traitement consiste en une résection chirurgicale des tissus infectés et une

combinaison de pénicilline et de clindamycine (pour inhiber la production de toxine). L'intérêt de l'oxygénothérapie hyperbare est controversé.

C. perfringens est un bacille à Gram positif anaérobie pouvant former des spores. Sa morphologie au microscope est évocatrice : bacille trapu et assez court dont les extrémités sont carrées. Il se décolore facilement dans les tissus infectés ou dans les vieilles cultures. La forme sporulée est rarement rencontrée dans les produits pathologiques (spore ovale sub-terminale et déformante) où il est souvent associé à d'autres bactéries. Les colonies sont de taille moyenne à grande, avec un aspect gris semblable à celui d'un entérocoque. Elles sont souvent β -hémolytiques avec apparition d'une double hémolyse après incubation prolongée : une zone d'hémolyse complète (produite par l' α -toxine : phospholipase C) entourée d'une zone d'hémolyse incomplète (produite par la σ -toxine : hémolysine thiol activée). Cette double hémolyse est caractéristique et se voit mieux après incubation des boîtes (une heure p.ex.) à 4°C. En cas de doute l'on peut effectuer un test de CAMP factor inversé (activation de l'hémolysine incomplète de *C. perfringens* par une souche de Streptocoque β -hémolytique du groupe B). A noter que l'hémolyse peut être absente. La culture est relativement aéro-tolérante. La catalase est négative ce qui permet de le différencier de Bacillus. La bactérie est facilement identifiée par MALDI-TOF ou par les galeries anaérobies commercialisées pour autant que l'on parte d'une culture pure à partir de cultures anaérobies mixtes.

C. perfringens est d'habitude très sensible aux antibiotiques et naturellement résistant aux aminosides comme tous les anaérobies. Il est presque toujours sensible à la pénicilline, qui est l'antibiotique de choix avec ou sans la clindamycine. Les autres bêta-lactamines, en particulier les céphalosporines, ont une activité très inférieure et ne sont pas recommandées.

Sophie Woestyn, Laboratoire J. Woestyn, Mouscron

2.3 Culture M/13803 *Staphylococcus aureus*

Nous référons au commentaire de l'EEQ 2016/2 dans laquelle un germe semblable (mais pas identique) (M/8912) a été envoyé.

2.4 Culture M/13811 *Neisseria cinerea*

Le prélèvement M/13811, un écouvillon vaginal chez une jeune femme avec des plaintes de leucorrhée, était constitué d'une culture pure de *Neisseria cinerea*.

Le résultat attendu pour la culture de ce prélèvement était « Absence de pathogènes » ou « Flore commensale ».

N. cinerea est un coque à gram négatif, oxidase positive et catalase négative. Suite à d'importantes similitudes morphologiques et biochimiques, cette souche a souvent été confondue avec *Neisseria gonorrhoeae* dans le passé. *N. cinerea* est rapporté comme faisant naturellement partie de la flore commensale oro-pharyngienne, génito-urinaire et plus rarement de la flore digestive. Quelques publications de type « case report » ont identifié *N. cinerea* comme agent pathogène responsable de septicémies, d'infections oculaires chez le très jeune enfant (< 1 an) ou encore d'une péritonite chez un patient en dialyse péritonéale.

65.3% des laboratoires ont répondu « Absence de pathogènes » ou « Présence de commensaux ». Ces réponses indiquent clairement au clinicien qu'aucun germe n'a été identifié pouvant être à l'origine d'une infection génitale.

22.7% des laboratoires ont répondu « *Neisseria cinerea* ». Ce résultat microbiologique est un résultat brut non interprété et laisse la responsabilité au clinicien de connaître le potentiel pathogène ou non de la souche dans un contexte clinique défini. Ajouter un commentaire quant au profil « non pathogène » de la souche sur le protocole de laboratoire contribuera à une meilleure considération du résultat par le clinicien.

Finalement quelques laboratoires ont rendu un résultat erroné au niveau de l'identification à l'espèce. Parallèlement, certains laboratoires n'ont pas identifié la souche au-delà du genre. Dans le contexte clinique décrit ci-dessus, il est indispensable de distinguer correctement les différentes espèces du genre *Neisseria* afin de discriminer les souches pathogènes (*N. gonorrhoeae*) des souches commensales. *N. gonorrhoeae* est en effet un des principaux pathogènes à l'origine d'infections génitales sexuellement transmissibles et dont les leucorrhées peuvent être un symptôme. Plusieurs publications ont rapporté l'aptitude des systèmes d'identification biochimique automatisés et du MALDI-TOF MS dans la différenciation des espèces du genre *Neisseria*.

Commentaire additionnel :

A la suite de la publication du rapport provisoire des CQE 2016/1 englobant le résultat attendu pour le prélèvement M/13811, un laboratoire participant nous a fait part d'un document publié par le CDC rapportant l'isolement d'une souche de *N. cinerea* dans une infection endo-cervicale. Une revue étendue de la littérature scientifique ne nous a pas permis d'identifier plus de publications rapportant ce fait.

En conclusion, l'identification d'un *N. cinerea* à partir d'un frottis vaginal n'a à priori pas de signification clinique étant donné que ce germe fait partie de la flore génitale normale. La réponse « Absence de pathogènes » ou « Présence de commensaux » constitue le résultat optimal à communiquer au clinicien.

Alexia Verroken, UCL Bruxelles

Références

Knapp JS, Totten PA, Mulks MH, Minshew BH. Characterization of *Neisseria cinerea*, a nonpathogenic species isolated on Martin-Lewis medium selective for pathogenic *Neisseria* spp. *J Clin Microbiol.* 1984. 19 :63-67.

Knapp JS, Hook EW. Prevalence and persistence of *Neisseria cinerea* and other *Neisseria* spp. In Adults. *J Clin Microbiol.* 1988. 26 :896-900.

Barbé G, Babolat M, Boeufgras JM, Monget D, Freney J. Evaluation of API NH, a new 2-hour system for identification of *Neisseria* and *Haemophilus* species and *Moraxella catarrhalis* in a routine clinical laboratory. *J Clin Microbiol.* 1994. 32:187-9.

Dolter J, Wong J, Janda M. Association of *Neisseria cinerea* with ocular infections in paediatric patients. *J Infect.* 1998. 36 :49-52.

Taegtmeyer M, Saxena R, Corkill JE, Anijeet H, Parry CM. Ciprofloxacin treatment of bacterial peritonitis associated with chronic ambulatory peritoneal dialysis caused by *Neisseria cinerea*. *J Clin Microbiol.* 2006. 44 :3040-3041.

CDC Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases – Gonorrhoea – Gonorrhoea laboratory information – Characteristics of *N. gonorrhoeae* and related species – *Neisseria cinerea*. 2008. <http://www.cdc.gov/std/gonorrhoea/lab/ncin.htm>.

Zhu X, Li M, Cao H, Yang X. Fatal bacteremia by *Neisseria cinerea* in a woman with myelodysplastic syndrome : a case report. *Int J Clin Exp Med.* 2015. 8 :6369-6371.

Carannante A, De Carolis E, Vacca P, Vella A, Vocale C, De Francesco MA, Cusini M, Del Re S, Dal Conte I, Cristaudo A, Ober P, Sanguinetti M, Stefanelli P. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification and clustering of *Neisseria gonorrhoeae*. *BMC Microbiol.* 2015. 24:142.

III. Résultats des identifications

153 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 150 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 laboratoires étrangers et un laboratoire d'une firme. Ces 3 derniers n'ont pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

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. **Nous voulons insister, même si en routine vous ne traitez pas une certaine origine d'échantillon** (p.ex. les hémocultures), **d'ensemencer quand-même de tels échantillons et de les identifier** (et d'effectuer l'antibiogramme éventuel): **en effet dans beaucoup de cas il s'agit de germes qui peuvent être retrouvés dans d'autres prélèvements.**

Nous voulons également répéter que si, pour quelque raison que ça 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/4813 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Vilvoorde (selles)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Un patient de 41 ans se présente chez son médecin avec de la diarrhée sanguinolente, des douleurs abdominales, de la fièvre, des céphalées, des nausées et des vomissements. **Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine et n'effectuer un antibiogramme que si vous le feriez en routine.** »

<u><i>Salmonella species</i></u> ¹	137	91.3%
<u><i>Salmonella enterica</i></u>	6	4.0%
<u><i>Salmonella enterica enterica</i></u>	3	2.0%
<i>Salmonella arizonae</i>	1	
<i>Salmonella typhimurium</i>	1	
Sous-traité	2	

¹ Un laboratoire a mentionné explicitement: « non typhi ». Un certain nombre de laboratoires ont mentionné les résultats qu'ils ont obtenu pour les agglutinations des sérogroupes: A (N = 3), A ou B (N = 2), A ou B ou E (N = 2), A-E (N = 1), A-F (N = 1), A-G (N = 1), A ou autres (N =12), E (N = 8), E ou G (N = 1), E ou autres (N =6).

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 + autre raison, non-spécifiée	2
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	70
Dans un but épidémiologique + autre raison, non-spécifiée	3
Dans un but épidémiologique	50
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	20
Sous-traité	2
Autre raison, non-spécifiée	1
N'est pas envoyé	2
Total	150

¹ 19 laboratoires ont mentionné que ceci inclut le sérotypage.

NB Nous vous demandons, si vous répondez « autre raison », de bien vouloir préciser cette autre raison dans le texte libre.

3.2. Culture M/8480 Clostridium perfringens (tissu sous-cutané)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Patient de 52 ans avec une fasciite nécrosante. La coloration de Gram montre de multiples globules blancs. La culture donne une culture pure d'un germe. **Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine. »**

<u>Clostridium perfringens</u>	144	96.0%
<u>Staphylococcus aureus</u>	2	
<u>Anaérobies¹</u>	2	1.3%
Sous-traité	2	

¹ Ces 2 laboratoires ont cependant précisé qu'en routine ils enverront l'échantillon pour une plus ample identification.

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	2
Dans un but épidémiologique + recherche de la toxine	2
Dans un but épidémiologique	2
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	9
Sous-traité	2
Autre raison, non-spécifiée	2
N'est pas envoyé	131
Total	150

3.3. Culture M/13803 *Staphylococcus aureus* (hémocultures)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémocultures prélevées chez un patient de 23 ans, qui a été admis récemment à l'hôpital. 6 flacons 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 un antibiogramme que si vous le feriez en routine.** »

<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	141	94.0%
<u><i>Staphylococcus aureus aureus</i></u>	6	4.0%
Sous-traité	3	

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	12
Dans un but épidémiologique + autre raison, non-spécifiée	2
Dans un but épidémiologique	10
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	38
Sous-traité	3
Autre raison, non-spécifiée	1
N'est pas envoyé	84
Total	150

¹ Un laboratoire a mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme.

² Dix laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme. Quelques-uns l'ont encore plus précisé: recherche de mecC (N = 3), recherche de mecC ou de BORSA (N = 1), recherche de mecC ou de mecA (N = 1), recherche de mecA (N = 1), détection de la toxine PVL (N = 1).

3.4. Culture M/13811 Absence de pathogènes (écouvillon génital)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Jeune patiente avec des plaintes de pertes vaginales. **Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine.** »

<u>Absence de pathogènes</u> ¹	77	51.3%
<u>Présence de commensaux</u> ²	21	14.0%
<i>Neisseria cinerea</i> ³	34	
<i>Neisseria cinerea</i> + <i>Staphylococcus aureus</i> ⁴	1	
<i>Neisseria meningitidis/cinerea</i> ⁵	1	
<i>Neisseria meningitidis</i>	1	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	
<i>Neisseria species</i> ⁶	6	
<i>Granulicatella adiacens</i>	1	
<i>Oligella ureolytica</i>	1	
Pas de croissance ⁷	4	
Sous-traité	2	

¹ Treize laboratoires ont mentionné dans une remarque la présence de *N. cinerea*, un la présence de *N. cinerea* ou *N. meningitidis*, un la présence de *N. flavescens* et un la présence de *Neisseria species*. Un laboratoire a mentionné qu'en routine l'échantillon serait envoyé pour exclure une *N. gonorrhoeae*.

² Quatre laboratoires ont mentionné dans une remarque la présence de *N. cinerea* et deux la présence de *Neisseria species*. Un laboratoire a mentionné que *T. vaginalis* et *C. trachomatis* doivent être recherchés.

³ Sept laboratoires ont mentionné dans une remarque que *N. cinerea* n'est pas pathogène ou qu'il s'agit d'un commensal. Deux laboratoires ont mentionné que sous certaines conditions ce germe peut être pathogène. Deux laboratoires ont mentionné que le germe serait envoyé pour faire la distinction avec *N. gonorrhoeae*.

⁴ Ce laboratoire a mentionné ajouter en routine le commentaire « *Neisseria commensale* ».

⁵ Ce laboratoire a mentionné que le Maldi-Tof ne peut pas faire la différence entre les deux espèces mais qu'en cas de vaginite cette distinction n'est pas d'une grande importance.

⁶ Un laboratoire a mentionné « non *gonorrhoeae*, non *meningitidis* ». Deux laboratoires ont mentionné que leurs techniques ne permettent pas de faire la différence entre *N. cinerea* et *N. gonorrhoeae*.

⁷ Un laboratoire a mentionné qu'en routine l'échantillon serait envoyé pour effectuer une PCR pour *N. gonorrhoeae*.

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
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	15
Sous-traité	2
Autre raison, non-spécifiée	1
N'est pas envoyé	131
Total	150

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

3.5. Coloration de Gram M/13818 Bacilles à Gram négatif

Il s'agissait de fins bacilles à Gram négatif (Campylobacter).

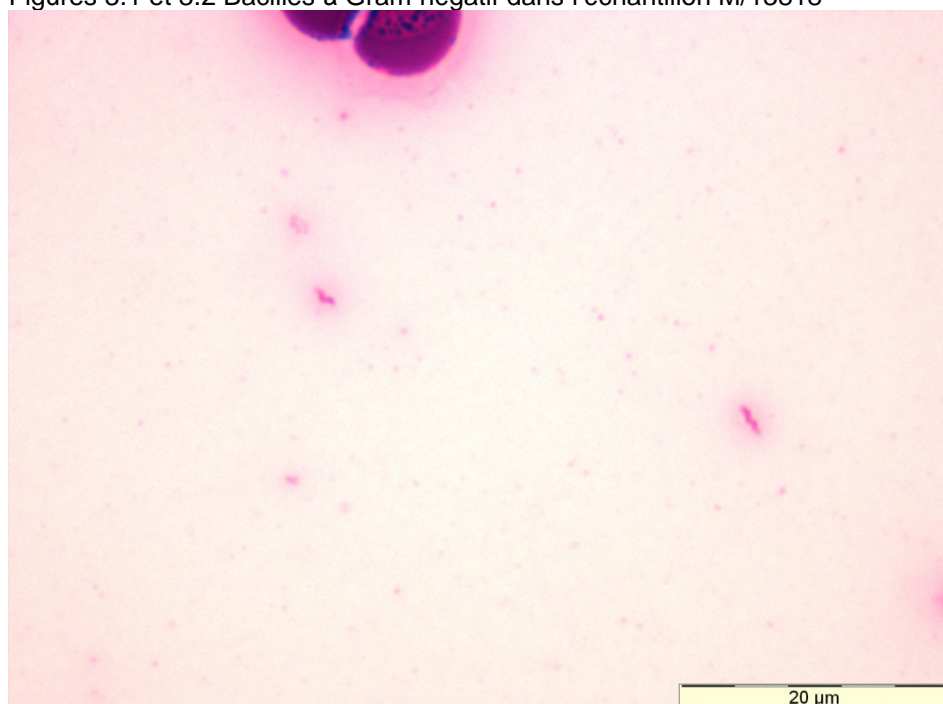
Trois laboratoires n'ont pas renvoyé de résultat pour cet échantillon: deux laboratoires qui mentionnent qu'en routine les hémocultures sont sous-traitées et un laboratoire qui n'a pas précisé la raison.

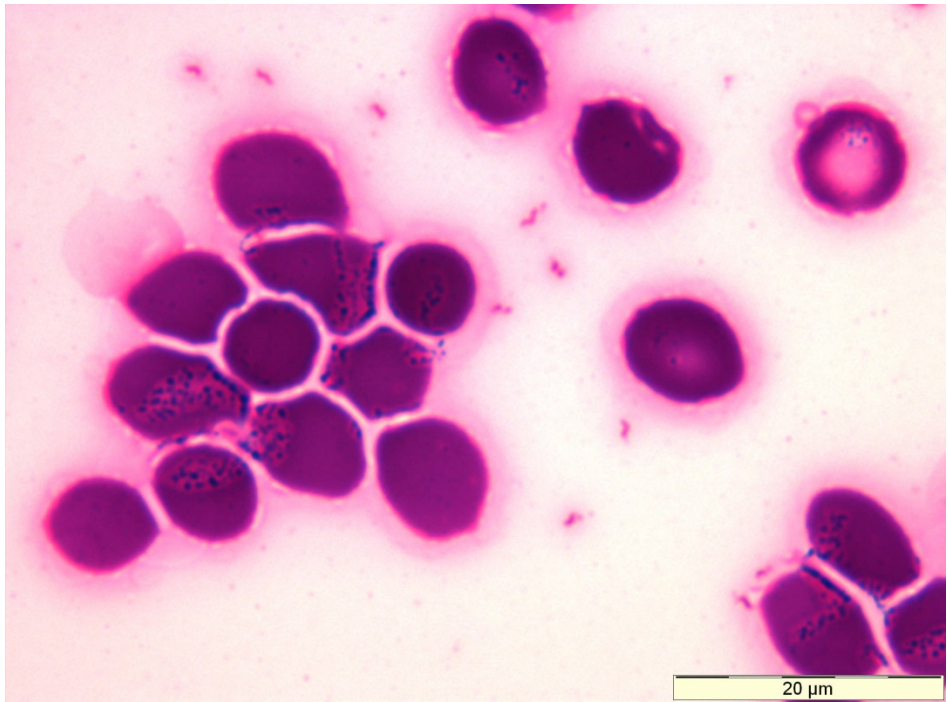
<u>Bacilles à Gram négatif</u>	91	61.9%
Coques à Gram positif	3	
Bacilles à Gram positif	2	
Bacilles à Gram variable	1	
Absence de germes	50	

Un certain nombre de laboratoires ont accompagné leur réponse bacilles à Gram négatif d'une précision:

- 15 labos: type Campylobacter
- 1 labo: type Campylobacter ou Vibrio
- 5 labos: spirilles à Gram négatif
- 1 labo: fins bacilles à Gram négatif

Figures 3.1 et 3.2 Bacilles à Gram négatif dans l'échantillon M/13818





IV. Antibiogramme

Un aperçu général des résultats est présenté au début de la discussion. Dans le traitement ultérieur les résultats sont analysés selon les méthodes utilisées. La dernière colonne du tableau 1 indique les labos 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 (toujours) 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 réalisé sur base des résultats des différents experts. Pour l'échantillon M/13803 les résultats du centre de référence ont également été pris en compte.

Pour l'échantillon M/4813, cinq laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme: les 2 laboratoires qui ont mentionné qu'ils sous-traitaient les hémocultures et 3 laboratoires qui n'ont pas mentionné la raison pour laquelle ils n'ont pas effectué d'antibiogramme.

Pour l'échantillon M/13803, également cinq laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme: les 4 laboratoires qui ont mentionné qu'ils sous-traitaient les hémocultures et 1 laboratoire qui n'a pas mentionné la raison pour laquelle il n'a pas effectué d'antibiogramme.

4.1. Culture M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde)

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

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat indiquant la plus grande résistance dans le tableau suivant.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	-	Pas en routine¹
Ampicilline	S	142	139	1	1	1 ²	2
Amoxicilline ³	S	1	1	-	-	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	S	132	130	1	1	-	20
Céphalosporine 3e génération							
Céfotaxime	S	75	75	-	-	-	24
Ceftazidime	S	51	51	-	-	-	15
Ceftriaxone	S	29	29	-	-	-	9
Céfépime	S	2	2	-	-	-	2
Quinolone							
Ciprofloxacine	S	112	105	2	5	-	-
Lévofloxacine	S	30	24	1	5	-	2
Moxifloxacine	S	1	1	-	-	-	-
Norfloxacine	S	5	5	-	-	-	-
Péfloxacine	S	6	6	-	-	-	3
Acide nalidixique	S	3	3	-	-	-	1

¹ Cette remarque ne concerne que les laboratoires qui ne répondraient en routine qu'un certain nombre d'antibiotiques.

² Un laboratoire a donné la remarque suivante: « Présence d'un second type plus résistant à l'ampicilline. Nous observons une discordance entre les résultats obtenus par disque et Vitek, par rapport à E-test. Dans ces conditions, nous aurions découragé l'emploi de cet antibiotique, en attendant la vérification de l'antibiogramme par le CNR. »

³ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.9. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats des laboratoires ayant lu le diamètre des disques en papier manuellement sont repris dans le tableau 4.1.2. Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée ou ne mentionnent pas la charge des disques utilisés; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

Les résultats des laboratoires ayant utilisé les appareils Adagio ou Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans les tableaux 4.1.3. et 4.1.4. Etant donné le nombre limité d'utilisateurs de ces appareils pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés (nombre de participants minimum nécessaire pour analyse statistique = 6 pour au moins 1 antibiotique). Un laboratoire a utilisé l'appareil Osiris pour déterminer la sensibilité pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la céfotaxime et la ciprofloxacine et a obtenu un résultat "sensible" pour tous ces antibiotiques.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R*
Ampicilline	24 (26)	10	24	17 – 31	26 ¹	-	-
Amoxicilline	1 (1)	20	29	-	1	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	22 (22)	20 + 10	26	22 – 32	22	-	-
Céphalosporine 3e génération							
Céfotaxime	(10)				10	-	-
	6	5	26	23 – 28	6	-	-
	4	30	30	30 – 37	4	-	-
Ceftazidime	(9)				9	-	-
	4	10	27	24 – 30	4	-	-
	5	30	28	23 – 33	5	-	-
Ceftriaxone	5 (5)	30	30	27 – 34	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	22 (22)	5	31.5	26 – 36	21	-	1
Lévofloxacine	4 (4)	5	31	25 – 33	4	-	-
Péfloxacin	4 (4)	5	26	23 – 31	3	-	1
Acide nalidixique	3 (3)	30	23	22 – 27	3	-	-

¹ Ceci comprend entre autres le résultat du laboratoire qui a obtenu des résultats différents pour différentes méthodes et en routine découragerait l'emploi de cet antibiotique, en attendant la vérification de l'antibiogramme par le CNR

² Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes pour ces 2 antibiotiques.

Tableau 4.1.3. Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	5	5	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	5	5	-	-
Céphalosporine 3e génération				
Céfotaxime	5	5	-	-
Ceftazidime	2	2	-	-
Ceftriaxone	1	1	-	-
Quinolone				
Ciprofloxacine	3	3	-	-
Lévofloxacine	2	2	-	-
Péfloxacin	1	1	-	-

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	2	1	-	1
Amoxicilline-acide clavulanique	3	3	-	-
Céphalosporine 3e génération				
Céfotaxime	2	2	-	-
Ceftriaxone	1	1	-	-
Quinolone				
Ciprofloxacine	1	1	-	-
Péfloxacin	1	1	-	-

Dans les tableaux 4.1.5 et 4.1.6. nous mentionnons pour les disques Neosensitabs (charges nouvelles, « new ») les résultats respectivement obtenus par lecture manuelle et avec l'appareil Sirscan. Etant donné le nombre limité d'utilisateurs du Sirscan pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

Un seul laboratoire a lu les résultats des disques Neosensitabs avec charges classiques Neosensitabs (« old ») manuellement et il a obtenu le résultat « S » pour la céfotaxime.

Tableau 4.1.5. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline	12 (12)	10	24.5	20 – 27	12	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	9 (9)	30	26	23 – 27	9	-	-
Céphalosporine 3e génération							
Céfotaxime	2 (4)	30	31.5	30 – 33	4	-	-
Ceftazidime	1 (1)	10	24	-	1	-	-
Ceftriaxone	5 (5)	30	28	26 – 30	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	10 (10)	5	33	28 – 34	9	1	-
Lévofloxacine	3 (3)	5	27	25 – 30	3	-	-

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	3	3	-	-
Amoxicilline-acide clavulanique	3	3	-	-
Céphalosporine 3e génération				
Céfotaxime	2	2	-	-
Ceftriaxone	2	2	-	-
Quinolone				
Ciprofloxacine	2	2	-	-
Lévofloxacine	1	1	-	-
Moxifloxacine	1	1	-	-

Le résultat obtenu avec E-test sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvoorde)

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultats	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	1 x S 1 x R ¹	1 mg/L 12 mg/L
Amoxicilline-acide clavulanique	2	2 x S	2 x 1 mg/L
Céphalosporine 3e génération			
Céfotaxime	2	2 x S	0.047 mg/L; 0.125 mg/L
Ceftriaxone	1	1 x S	0.064 mg/L
Quinolone			
Ciprofloxacine	18	18 x S	6 x 0.012 mg/L; 4 x 0.016 mg/L; 6 x 0.023 mg/L; 1 x 0.064 mg/L; 1 x 0.23 mg/L

¹ Il s'agit du résultat du laboratoire qui a obtenu des résultats différents pour différentes méthodes et en routine découragerait l'emploi de cet antibiotique, en attendant la vérification de l'antibiogramme par le CNR

Trois laboratoires ont utilisé le test MICE pour la détermination de la sensibilité à la ciprofloxacine; ils ont tous obtenu un résultat « S » avec les valeurs de CMI respectives de 0.0225 mg/L, 0.015 mg/l et 0.06 mg/L.

Trois laboratoires ont utilisé le MIC test Strip pour la détermination de la sensibilité à la ciprofloxacine; ils ont tous un résultat « S » avec les valeurs de CMI respectives de 0.016 mg/L, 0.023 mg/L et 0.047 mg/L

Les résultats obtenus avec le Vitek sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/4813 (Salmonella Vilvoorde)

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Ampicilline	51 ¹	-	-	≤2	51 (51)	30	-	-	≤2	30 (30)
Amoxicilline-acide clavulanique	47	-	-	≤2	47 (47)	30	-	-	≤2	30 (30)
Céphalosporine 3e génération										
Céfotaxime	35	-	-	≤1	35 (35)	19	-	-	≤1	19 (19)
Ceftazidime	21	-	-	≤1	21 (21)	12	-	-	≤1	12 (12)
Ceftriaxone	2	-	-	≤1	2 (2)	3	-	-	≤1	3 (3)
Céfépime	2	-	-	≤1	2 (2)	-	-	-	-	-
Quinolone										
Ciprofloxacine	30	2	1	≤0.25	31 (33)	17	-	4	≤0.25	20 (21)
Lévofloxacine	7	-	2	≤0.12	9 (9)	3	-	3	≤0.12	6 (6)
Norfloxacine	2	-	-	≤0.5	2 (2)	3	-	-	≤0.5	3 (3)

¹ Ceci comprend entre autres le résultat du laboratoire qui a obtenu des résultats différents pour différentes méthodes et en routine découragerait l'emploi de cet antibiotique, en attendant la vérification de l'antibiogramme par le CNR

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la ciprofloxacine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.025 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤0.12 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤1.25 mg/L

Un laboratoire a utilisé la méthode ATB pour la détermination de la sensibilité: il a obtenu le résultat « S » pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la céfotaxime et la ciprofloxacine.

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

Tableau 4.1.9. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/4813 (*Salmonella* Vilvorde).

<i>Antibiotique</i>	<i>Résultat</i>			<i>Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)</i>	<i>Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)</i>
	<i>S</i>	<i>I</i>	<i>R</i>		
Ampicilline	16	1	-	≤2	17 (17)
Amoxicilline-acide clavulanique	15	1	1	≤2/2	17 (17)
Céphalosporine 3e génération					
Céfotaxime	1	-	-	<1	1 (1)
Ceftazidime	4	-	-	≤1	4 (4)
Ceftriaxone	11	-	-	≤1	10 (11)
Quinolone					
Ciprofloxacine	5	-	-	≤0.25	4 (5)
Lévofloxacine	6	-	-	≤0.5	6 (6)

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la ceftriaxone 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.5 mg/L
- pour la ciprofloxacine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.125 mg/L

Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité: un des deux pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la céfotaxime et la ciprofloxacine et l'autre pour l'ampicilline, l'amoxicilline- acide clavulanique, la ceftriaxone et la lévofloxacine: tous les deux ont obtenu des résultats « S » pour tous ces antibiotiques.

Il reste à mentionner que

- 1 laboratoire a mentionné que le résultat « S » pour la ciprofloxacine a été dérivé du résultat de la péfloxacine

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Certains laboratoires ont effectué ces modifications, en se basant sur des règles d'expertise ou non:

- L'ampicilline:
 - o S→I
 - Phoenix: 1 labo
- L'amoxicilline- acide clavulanique
 - o S→R
 - Phoenix: 1 labo
 - o S→I
 - Phoenix: 1 labo
- La ciprofloxacine
 - o S→R
 - Vitek 2 compact: 4 labos
 - o S→I
 - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo
 - Vitek 2: 2 labos
- La lévofloxacine:
 - o S→R
 - Vitek 2: 2 labos
 - Vitek 2 compact: 3 labos

4.2. Culture 13803 (*Staphylococcus aureus*)

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

Certains laboratoires ont utilisé plus d'une technique pour quelques antibiotiques ; dans la plupart des cas ils ont obtenu les mêmes résultats pour les mêmes antibiotiques avec différentes méthodes; dans les situations où ceci n'était pas le cas, nous avons choisi de présenter le résultat indiquant la plus grande résistance dans le tableau suivant, sauf pour la vancomycine pour laquelle nous avons repris le résultat de la CMI.

Trois laboratoires n'ont déterminé ni la sensibilité à l'oxacilline, ni la sensibilité à la céfoxitine.

Certains laboratoires ont fourni leur réponse d'une remarque ; dans quelques cas, ils ont précisé plus amplement cette remarque :

- MODSA, BORSA ou mecC: 1 labo
- BORSA ou gène mecC: 5 labos
 - 2 laboratoires ont ajouté que le PBP2a est négatif
 - 1 laboratoire que le gène mecA est négatif
 - 1 laboratoire que le gène mecA et PBP2a sont négatifs et que l'oxacilline et la céfoxitine sont résistantes
- gène mecC?: 11 labos
 - 3 laboratoires ont ajouté que le PBP2a est négatif
 - 1 laboratoire que le PBP2a est positif
 - 1 laboratoire que le PBP2a est négatif et que l'oxacilline et la céfoxitine sont résistantes
 - 1 laboratoire que le PBP2a est négatif, l'oxacilline sensible et la céfoxitine résistante
 - 1 laboratoire que le gène mecA est négatif et le PBP2a positif
- gène mecC probable: 1 labo (le PBP2a est douteux et le gène mecA négatif)
- gène mecC: 3 labos
- gène mecC ou mecA: 2 labos
 - 1 laboratoire a ajouté que le PBP2a est positif et que l'oxacilline et la céfoxitine sont résistantes
 - 1 laboratoire que le PBP2a est négatif
- BORSA ou autre gène mec: 1 labo (le PBP2a et le gène mecA sont négatifs)
- PBP2a et BORSA négatif: 1 labo (la céfoxitine est résistante et donc l'oxacilline est répondu comme résistante; envoi au centre de référence)
- gène mecA: 1 labo
- gène mecA négatif: 3 labos
 - 1 laboratoire a ajouté que le PBP2a est négatif
 - 1 laboratoire que le PBP2a est douteux
 - 1 laboratoire que la céfoxitine est résistante et donc l'oxacilline est répondu comme résistante
- PBP2a négatif: 9 labos
 - 2 laboratoires ont ajouté que l'oxacilline et la céfoxitine sont résistantes et que l'échantillon serait envoyé au centre de référence
 - 3 laboratoires que l'oxacilline est sensible et la céfoxitine résistante
 - 1 laboratoire que par conséquent il ne tient pas compte du résultat de la céfoxitine
- PBP2a positif: 3 labos
 - 1 laboratoire a ajouté que la céfoxitine est résistante
- MRSA: 27 labos

- 2 laboratoires ont ajouté qu'il existe peut-être une hétérorésistance à l'oxacilline
 - 2 laboratoires qu'ils enverraient l'échantillon, pour détection de la toxine Panton-Valentin
 - 1 laboratoire que la souche pourrait également être un VISA
- Discordance entre l'oxacilline et la céfoxitine: envoi pour détermination de la CMI:
1 labo

En plus du laboratoire mentionné ci-dessous qui a évoqué la possibilité d'un VISA, un 2^e laboratoire a mentionné "vancomycine résistante ou VISA".

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon 13803 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Pénicilline	R	132	1	-	131	23
Oxacilline	R	118	9	1	108	7
Céfoxitine	R	118	2	-	116	63
Gentamicine	S	133	132	-	1	19
Amikacine ²	S	3	3	-	-	-
Kanamycine ³	S	1	1	-	-	1
Tobramycine ⁴	S	2	2	-	-	1
Vancomycine	S	131	130	-	1	6
Teicoplanine ⁵	S	2	2	-	-	1
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	81	80	-	1	11
Lévofloxacine	S	42	42	-	-	1
Moxifloxacine	S	20	20	-	-	2
Norfloxacine	S	1	1	-	-	-
Ofloxacine	S	4	4	-	-	1

¹ Cette remarque ne concerne que les laboratoires qui ne répondraient en routine qu'un certain nombre d'antibiotiques.

² Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine au lieu de la gentamicine

³ Un laboratoire a déterminé en plus de la sensibilité à la gentamicine, la sensibilité à la kanamycine.

⁴ Deux laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la gentamicine, la sensibilité à la tobramycine.

⁵ Deux laboratoires ont déterminé en plus de la sensibilité à la vancomycine, la sensibilité à la teicoplanine

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.9. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats des laboratoires ayant lu le diamètre des disques en papier manuellement sont repris dans le tableau 4.2.2. Certains laboratoires n'utilisent pas la charge appropriée ou ne mentionnent pas la charge des disques utilisés; ces laboratoires ne sont pas pris en compte pour le calcul des médianes, minima et maxima.

Les résultats des laboratoires ayant utilisé les appareils Adagio ou Sirscan pour l'interprétation des diamètres des disques en papier sont repris dans les tableaux 4.2.3. et 4.2.4. Etant donné le nombre limité d'utilisateurs du Sirscan pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés (nombre de participants minimum nécessaire pour analyse statistique = 6 pour au moins 1 antibiotique). Un laboratoire a utilisé l'appareil Osiris pour déterminer la sensibilité pour la pénicilline, l'oxacilline, la céfoxitine (toutes les 3 « R ») et la ciprofloxacine (« S »).

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline ¹	(18)				-	-	18
	8	1 U	9.5	6 – 10	-	-	8
	10	6 ²	13	6 – 21	-	-	4
Oxacilline	4 (4)	1	9	6 – 20	1	-	3
Céfoxitine	40 (40)	30	15	6 – 25	2	-	38
Gentamicine	18 (18)	10	23	19 – 28	18	-	-
Amikacine	1 (1)	30	20	-	1	-	-
Vancomycine ¹	(4)				4	-	-
	3	30	18	17 – 19	3	-	-
	1	70	19	-	1	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	13 (13)	5	24	16 – 28	13	-	-
Lévofloxacine	4 (4)	5	26.5	18 – 29	4	-	-
Moxifloxacine	4 (4)	5	32	27 – 33	4	-	-
Norfloxacine	1 (1)	10	25	-	1	-	-
Ofloxacine	2 (2)	5	26.5	25 – 28	2	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

² 6 µg = 10 U

Tableau 4.2.3. Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline ¹	(3)				-	-	3
	1	1 U	6	-	-	-	1
	2	6 ²	14	12 – 16	-	-	2
Oxacilline	2 (2)	1	7.5	6 – 9	1	-	2
Céfoxitine	6 (6)	30	17	12 – 19	-	-	6
Gentamicine	3 (3)	10	22	20 – 23	3	-	-
Amikacine	1 (1)	30	22	-	1	-	-
Vancomycine	2 (2)	30	18	18 – 18	2	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	1 (1)	5	26	-	1	-	-
Lévofloxacine	1 (1)	5	27	-	1	-	-
Ofloxacine	2 (2)	5	24.5	24 – 25	2	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

² 6 µg = 10 U

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pénicilline	2	-	-	2
Céfoxitine	3	-	-	3
Gentamicine	2	2	-	-
Quinolone				
Ciprofloxacine	1	1	-	-
Lévofloxacine	2	2	-	-

Dans les tableaux 4.2.5 et 4.2.6. nous mentionnons pour les disques Neosensitabs (charges nouvelles, « new ») les résultats respectivement obtenus par lecture manuelle et avec l'appareil Sirscan. Etant donné le nombre limité d'utilisateurs du Sirscan pour ce germe, les médianes, minima et maxima n'ont pas été calculés.

Aucun laboratoire n'a utilisé les disques Neosensitabs avec charges classiques Neosensitabs (« old »).

Tableau 4.2.5. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pénicilline ¹	5 (5)				1	-	4
	2	1	9.5	9 – 10	-	-	2
	3	6 ²	9	9 – 16	1	-	2
Oxacilline	6 (6)	1	9	9 – 10	-	-	6
Céfoxitine	14 (14)	30	13.5	9 – 30	-	-	14
Gentamicine	6 (6)	10	22.5	22 – 25	6	-	-
Vancomycine	5 (5)	30	16	12 – 17	5	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	5 (5)	5	21	5 – 25	4	-	1
Lévofloxacine	1 (1)	5	30	-	1	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	25	-	1	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

² 6 µg = 10 U

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (charge nouvelle) pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Pénicilline	3	-	-	3
Oxacilline	3	-	-	3
Céfoxitine	4	-	-	4
Gentamicine	2	2	-	-
Amikacine	1	1	-	-
Vancomycine	3	2	1	-
Quinolone				
Ciprofloxacine	3	3	-	-
Lévofloxacine	1	1	-	-
Moxifloxacine	1	1	-	-

Les résultats obtenus avec l'E test sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultats	Valeur CMI (mg/L)
Pénicilline	2	2 x R	0.75 mg/L; 8 mg/L
Oxacilline	8	1 x S 7 x R	1 mg/L 3 x 2 mg/L; 4 mg/L; 2 x 16 mg/L; 32 mg/L
Céfoxitine	3	3 x R	8 mg/L; 16 mg/L; 32 mg/L
Gentamicine	2	2 x S	0.25 mg/l; 0.125 mg/L
Vancomycine	13	12 x S 1 x R	3 x 0.75 mg/L; 5 x 1 mg/l; 3 x 1.5 mg/L; 2 mg/L 3 mg/L
Quinolone			
Ciprofloxacine	2	2 x S	0.012 mg/L; 0.5 mg/L

Trois laboratoires ont utilisé le test MICE pour la détermination de la sensibilité à la vancomycine; ils ont tous obtenu un résultat « S »; 1 a obtenu une valeur de CMI de 1.5 mg/L et 2 une valeur de CMI de 2 mg/l.

Cinq laboratoires ont utilisé le MIC test Strip pour la détermination de la sensibilité à la vancomycine; ils ont tous un résultat « S »; 3 ont obtenu une valeur de CMI de 0.75 mg/L mg/L; 1 une valeur de CMI de 1 mg/L et 1 une valeur de CMI de 1.5 mg/L.

Les résultats obtenus avec le Vitek sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Pénicilline	-	-	56	≥0.5	51 (56)	-	-	31	≥0.5	23 (31)
Oxacilline	6	-	48	0.5	21 (54)	1	-	29	0.5	15 (30)
Céfoxitine	-	-	33	‡	(33)	-	-	14	‡	(14)
Gentamicine	57	-	-	≤0.5	57 (57)	29	-	1	≤0.5	29 (30)
Kanamycine	1	-	-	≤4	1 (1)	-	-	-	-	-
Tobramycine	2	-	-	≤1	2 (2)	-	-	-	-	-
Vancomycine	55	-	-	1	43 (55)	27	-	-	1	17 (27)
Teicoplanine	2	-	-	≤0.5	2 (2)	-	-	-	-	-
Quinolone										
Ciprofloxacine	27	-	1	≤0.5	26 (28)	18	-	-	≤0.5	17(18)
Lévofloxacine	20	-	-	0.25	18 (20)	11	-	-	0.25	9 (11)
Moxifloxacine	10	-	-	≤0.25	10 (10)	2	-	-	≤0.25	2 (2)

‡ Le Vitek ne donne pas de résultat quantitatif pour la céfoxitine mais la réponse du dépistage à la céfoxitine est mentionné comme positif ou négatif (pour des raisons de simplicité nous avons repris « négatif » comme « S » et « positif » comme « R »).

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pénicilline 4 laboratoires ont mentionné une CMI ≥0.25 mg/L pour le Vitek 2 et 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.5 mg/L (probablement une erreur de frappe); pour le Vitek 2 compact 8 laboratoires ont mentionné une CMI ≥0.25 mg/L
- pour l'oxacilline 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≤0.25 mg/L, 19 laboratoires une CMI de 1 mg/L, 2 une CMI ≥2 mg/L, 9 une CMI ≥4 mg/L et un laboratoire une CMI de 16 mg/L pour le Vitek 2 ; pour le Vitek 2 compact 7 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 mg/L et 8 laboratoires une CMI ≥4 mg/L
- pour la gentamicine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.25 mg/L pour le Vitek 2
- pour la vancomycine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.25 mg/L et 11 laboratoires une CMI ≤0.5 mg/L pour le Vitek 2 ; pour le Vitek 2 compact 10 laboratoires ont mentionné une CMI ≤0.5 mg/L
- pour la ciprofloxacine 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.25 mg/L pour le Vitek 2 ; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.25 mg/L
- pour la lévofloxacine 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≤0.12 mg/L pour le Vitek 2 et 2 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact

Un laboratoire a utilisé la méthode ATB pour la détermination de la sensibilité: il a obtenu le résultat « R » pour la pénicilline l'oxacilline« S » pour la céfoxitine, la vancomycine et la lévofloxacine.

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

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/13803 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pénicilline	1	-	17	>0.25	17 (18)
Oxacilline	-	1	16	≥2	16 (17)
Céfoxitine	-	-	19	≥8	19 (19)
Gentamicine	19	-	-	≤1	19 (19)
Vancomycine	18	-	-	1	18 (18)
Quinolone					
Ciprofloxacine	15	-	-	0.25	12 (15)
Lévofloxacine	1	-	-	≤0.25	1 (1)
Moxifloxacine	3	-	-	≤0.125	3 (3)

Dans la plupart des cas la « valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pénicilline 1 laboratoire a mentionné une CMI de ≥0.25 mg/L (il s'agit du laboratoire qui a donné la réponse « S »)
- pour l'oxacilline 1 laboratoire a mentionné une CMI de 1 mg/L
- pour la ciprofloxacine 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L

Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité: un des 2 a déterminé la sensibilité à la pénicilline, à l'oxacilline, à la céfoxitine (toutes les 3 « R »), à la gentamicine, à la vancomycine et à la ciprofloxacine (toutes les 3 « S »); l'autre laboratoire a déterminé la sensibilité à la pénicilline (« R »), à l'oxacilline, à la gentamicine, à la vancomycine et à la lévofloxacine (toutes les 4 « S »).

Il reste à mentionner que

- 1 laboratoire a mentionné que le résultat « R » pour la pénicilline a été dérivé
- 2 laboratoires ont mentionné que le résultat « R » pour l'oxacilline a été dérivé du résultat de la céfoxitine
- 1 laboratoire a considéré la vancomycine comme sensible sur base du résultat du vancoscreen agar

Un certain nombre de laboratoires ont changé le résultat brut pour la réponse du résultat final. Certains laboratoires ont effectué ces modifications en se basant sur les résultats de tests complémentaires:

- L'oxacilline:
 - o R→S
 - Disques en papier: 1 labo (sur base du résultat négatif pour le PBP2a)
 - o S→R
 - E-test: 2 labos (sur base du résultat positif pour le gène mecC)
 - Vitek 2: 26 labos (22 labos sur base des résultats pour le PBP2a et la céfoxitine)
 - Vitek 2 compact: 17 labos (14 labos sur base des résultats pour le PBP2a et la céfoxitine)
 - Phoenix: 5 labos (également sur base des résultats d'autres techniques et du résultat de la céfoxitine)
 - Microscan: 1 labo (sur base du résultat positif pour le PBP2a)
 - o I→R
 - E-test: 2 labos 1 labo (sur base du résultat douteux pour le PBP2a)
 - Vitek 2 compact: 1 labo (sur base du résultat de la céfoxitine)
 - o S→I
 - Phoenix: 1 labo (sur base du résultat de la céfoxitine)
- La céfoxitine:
 - o R→S
 - Disques en papier: 1 labo (sur base du résultat négatif pour le PBP2a)
 - o S→R
 - Neosensitabs (nouvelle charge): 1 labo (sur base du résultat positif pour le PBP2a)
- La ciprofloxacine
 - o S→R
 - Vitek 2: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques)

5.1 Les échantillons

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

160 laboratoires ont participé à l'enquête.

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

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/10696

Une femme de 58 ans revient du Mali mais n'a pas pris de prophylaxie. Elle présente une légère fièvre et consulte son médecin traitant.

Cet échantillon était déjà coloré avant envoi.

P/11990

Une patiente se présente aux urgences pour malaise général, maux de tête, maux de gorge et fièvre. Elle prend depuis 1 jour 1 g d'amoxicilline. Elle est de retour depuis 10 jour du Pakistan.

L'échantillon P/10696 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.

L'échantillon P/11990 contenait des trophozoïtes, des schizontes et des gamétocytes de *Plasmodium vivax*.

Les résultats des 2 échantillons été confirmés par PCR.

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.

5.2 Les résultats pour l'échantillon P/10696

Les 160 laboratoires ont identifié 161 parasites. 159 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 1 laboratoire a répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1 Résultats pour l'échantillon P/10696

Résultat	Nombre
<i>Plasmodium falciparum</i>	156
<i>Plasmodium species</i>	1
<i>Plasmodium malariae</i>	1
<i>Babesia species</i>	3
Total	161

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

Les trois laboratoires ayant répondu *Babesia* sp., enverraient en routine l'échantillon à un centre de référence; un entre eux effectuée en routine également un test d'antigène et un autre un test d'antigène et une PCR pour différencier *Babesia* et *Plasmodium*.

Deux laboratoires ayant répondu *P. falciparum*, ont mentionné que *Babesia* sp. ne peut pas être exclu (mais qu'il est peu probable).

Le laboratoire qui a répondu *Plasmodium* sp., a mentionné utiliser en routine le test Optimal-IT pour différencier *P. falciparum* et *Plasmodium* non-falciparum; ce laboratoire enverrait en routine l'échantillon également au centre de référence.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium falciparum* sont repris dans le tableau 5.2.2. 152 laboratoires ont répondu un stade d'évolution, 3 laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution (2 : trophozoïte + schizonte ; 1 : trophozoïte + gamétocyte) et 1 laboratoire trois stades d'évolution (trophozoïte + schizonte + gamétocyte).

Tableau 5.2.2 Stades d'évolution de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/10696

Stade d'évolution	Nombre
Trophozoïte	156
Schizonte	3
Gamétocyte	2
Total	161

Un laboratoire a mentionné la présence de 2 à 3 trophozoïtes par lame, un la présence de 7 trophozoïtes par lame et un la présence de 5 à 10 trophozoïtes par lame.

Pour les autres laboratoires le tableau 5.2.3. montre le nombre de parasites par stade d'évolution exprimé en ‰ de GR.

Tableau 5.2.3 Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/10696

‰	N Labos		
	Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte
<1	1	1	2
1		1	1
1 à 2	1		
2	1		
2 à 3	1		
3	1		
3 à 4	1		
5	1		
8	1		
5 à 10	6		
10	2		
12	1		
15	2		
20	7		
25	12		
50	53		
100	27		
>100	35		

Un certain nombre de laboratoires ont précisé les valeurs différentes des catégories existantes plus élevés: 35, 40, 50, 70 (3x) et 80.

73 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification : les 3 laboratoires ayant répondu *Babesia* species, le laboratoire ayant répondu *Plasmodium* species et 69 laboratoires ayant répondu *P. falciparum*.

5.3 Les résultats pour l'échantillon P/11990

Un laboratoire n'a pas envoyé de réponse pour cet échantillon. Les 159 autres laboratoires ont fourni 160 réponses. 158 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/11990

Résultat	Nombre
<i>Plasmodium vivax</i>	110
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	38
<i>Plasmodium malariae</i>	8
<i>Plasmodium ovale</i>	2
<i>Plasmodium falciparum</i>	2
Total	160

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

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

- 13 ont mentionné qu'il s'agit probablement de *P. vivax*
- 3 ont mentionné qu'il s'agit probablement de *P. ovale*
- 2 ont mentionné qu'il s'agit probablement de *P. malariae*
- 2 ont mentionné qu'ils utilisent en routine un test rapide d'Ag pour confirmer l'identification

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

- 13 ont mentionné qu'une infection mixte avec *P. falciparum* ne peut pas être exclue
- 3 ont mentionné que pour la décision sur l'espèce ils ont pris en compte le fait que la patiente a été au Pakistan
- 1 a mentionné qu'il utilise en routine un test rapide d'Ag et une PCR pour confirmer l'identification

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

- 1 a mentionné qu'il utilise en routine le test Optimal-IT pour différencier *P. falciparum* et *Plasmodium non-falciparum*
- 1 a mentionné qu'il faut effectuer le diagnostic différentiel avec *P. vivax*

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

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium vivax* sont repris dans le tableau 5.3.2. 38 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution, 39 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution et 33 laboratoires ont mentionné 3 stades d'évolution. Les combinaisons des stades d'évolution sont reprises dans le tableau 5.3.3.

Tableau 5.3.2 Stades d'évolution de *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/11990

<i>Stade d'évolution</i>	<i>Nombre</i>
Schizonte	93
Trophozoïte	72
Gamétocyte	50
Total	215

Tableau 5.3.3 Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/11990

<i>Nombre de stades d'évolution</i>	<i>Stade d'évolution</i>	<i>Nombre de laboratoires</i>
1 stade d'évolution	Schizonte	24
	Gamétocyte	10
	Trophozoïte	4
2 stades d'évolution	Trophozoïte + schizonte	32
	Gamétocyte + schizonte	4
	Trophozoïte + gamétocyte	3
3 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte	33
Total		110

Un laboratoire a mentionné la présence de 1 trophozoïte par lame, 2 la présence de 2 à 3 trophozoïtes par lame, un la présence de 3 trophozoïtes par lame et un la présence de 10 trophozoïtes par lame.

Un laboratoire a mentionné la présence de 1 schizonte par lame, 1 la présence de 2 schizontes par lame et 2 la présence de 2 à 3 schizontes par lame.

Pour les autres laboratoires le tableau 5.3.4. montre le nombre de parasites par stade d'évolution exprimé en ‰ de GR.

Tableau 5.3.4 Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium vivax* pour l'échantillon P/11990

‰	N Labos		
	Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte
<1	31	19	26
1	7	7	17
1 à 2	9	5	12
2	5	2	6
2 à 3	3	3	8
3	1	3	2
3 à 4		2	3
4		1	2
5	5	3	1
7			1
5 à 10	4	4	5
10	2	1	
12			1
15			1
20			1
25			3

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium non-falciparum* sont repris dans le tableau 5.3.5. 8 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution (trophozoïte), 21 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution et 9 laboratoires 3 stades d'évolution. Les combinaisons des stades d'évolution sont reprises dans le tableau 5.3.6.

Tableau 5.3.5 Stades d'évolution de *Plasmodium non-falciparum* pour l'échantillon P/11990

Stade d'évolution	Nombre
Schizonte	31
Trophozoïte	30
Gamétocyte	16
Total	77

Tableau 5.3.6 Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/11990

Nombre de stades d'évolution	Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
1 stade d'évolution	Schizonte	5
	Gamétocyte	2
	Trophozoïte	1
2 stades d'évolution	Trophozoïte + schizonte	16
	Trophozoïte + gamétocyte	4
	Gamétocyte + schizonte	1
3 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte	9
Total		38

Un laboratoire a mentionné la présence de <1 trophozoïte par lame, un laboratoire la présence de <1 gamétocyte par lame et 1 un laboratoire la présence de 1 schizonte par lame.

Pour les autres laboratoires le tableau 5.3.7. montre le nombre de parasites par stade d'évolution exprimé en ‰ de GR.

Tableau 5.3.7 Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/11990

‰	N Labos		
	Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte
<1	19	7	13
1	1	2	4
1 à 2		1	5
2	2	1	
2 à 3	2	1	3
3	2		
3 à 4		1	2
4			1
5	1		1
5 à 10	1	1	
10	1		
20		1	1

95 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification : 53 laboratoires ayant répondu *P. vivax*, 33 laboratoires ayant répondu *Plasmodium* non-falciparum, 5 laboratoires ayant répondu *P. malariae.*, 2 laboratoires ayant répondu *P. ovale* et 2 laboratoires ayant répondu *P. falciparum.*

5.4. Commentaire sur l'enquête

Les résultats de l'enquête étaient excellents (même si la qualité des frottis n'était pas optimale) avec respectivement 97.5% et 98.7% de réponses correctes ou acceptables pour les échantillons P/10696 et P/11990. En analogie avec les enquêtes précédentes contenant les parasites dans le sang, les tableaux 1 et 2 reprennent la division en résultats corrects et erreurs *majeures* et *mineures* où i) ne pas trouver un *P. falciparum* ou de le répondre erronément et ii) répondre *Plasmodium* species sans s'être exprimé sur la présence ou l'absence d'un *P. falciparum* sont considérés comme « erreurs majeures ». La raison en est que le traitement d'une infection à *P. falciparum* est différent de celui d'une infection à *P. non-falciparum*. Une *erreur mineure* n'est cependant pas correcte parasitologiquement mais elle n'a pas d'implications importantes pour le traitement et elle est donc acceptable.

Tableau 1. Evaluation des résultats pour l'échantillon P/10696.

Groupe	Réponse	Commentaire	Score (n, %)
Groupe I	<i>P. falciparum</i>	Correct	155 (96.9%)
Groupe II	<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	Erreur mineure Acceptable	1 (0.6%)
Groupe III	<i>Plasmodium</i> species	Erreur majeure*	1 (0.6%)
	<i>Babesia</i> species		3 (1.9%)

Tableau 1. Evaluation des résultats pour l'échantillon P/11990.

Groupe	Réponse	Commentaire	Score (n, %)
Groupe I	<i>P. vivax</i>	Correct	109 (68.5%)
Groupe II	<i>P. vivax</i> + <i>P. malariae</i>	Erreur mineure Acceptable	1 (0.6%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i>		38 (23.9%)
	<i>P. malariae</i>		7 (4.4%)
	<i>P. ovale</i>		2 (1.3%)
Groupe III	<i>P. falciparum</i>	Erreur majeure*	2 (1.3%)

En plus d'une identification correcte de l'espèce, une interprétation correcte de la parasitémie est important afin d'estimer la sévérité de l'infection et la réponse au traitement, surtout en cas d'une infection par *P. falciparum* qui est toujours considéré comme potentiellement dangereux. En plus le remboursement du traitement intraveineux avec l'artésunate, utilisé dans le traitement des infections sévères par *P. falciparum*, dépend de la parasitémie¹.

La distribution de la parasitémie (uniquement pour les trophozoïtes) des 2 échantillons est reprise dans les figures 1 et 2. Au centre de référence (IMT) on a rapporté une parasitémie de respectivement 70 et <1 parasites asexués/1000 globules rouges pour les échantillons P/10696 et P/11990. Nous conseillons aux

laboratoires qui ont répondu une parasitémie qui dévie fortement, de revoir leur comptage.

Figure 1. Distribution de la parasitémie pour l'échantillon P/10696.

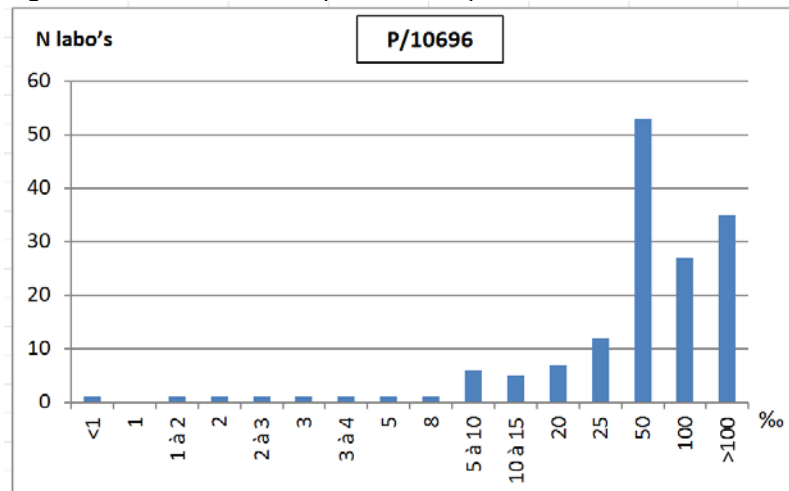
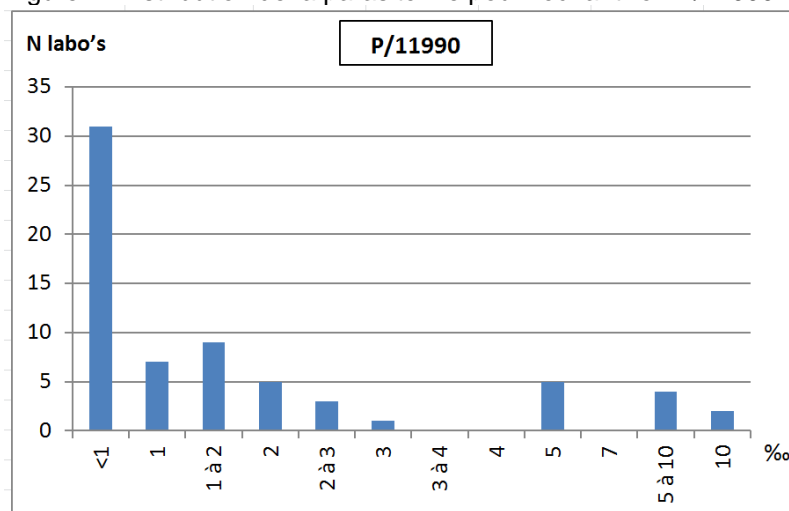


Figure 2. Distribution de la parasitémie pour l'échantillon P/11990.



La méthode la plus précise pour déterminer la parasitémie, qui est conseillée par l'OMS², consiste à compter le nombre de parasites asexués (PA) (trophozoïtes et schizontes) vis-à-vis d'un nombre fixe de globules blancs (GB) dans la goutte épaisse et de calculer ensuite le nombre de PA/ μ l de préférence sur base du nombre exact de GB du patient ou sinon vis-à-vis d'un nombre standard de 8000 GB/ μ l (si la quantité exacte des GB du patient n'est pas connue) .

A l'IMT nous comptons le nombre PA vis-à-vis de 200 GB. Si on compte sur 200 GB moins de 100 PA, nous comptons jusque 500 GB. Si on compte 500 PA avant d'avoir compté 200 GB, on compte le nombre de PA et de GB de ce champ et on arrête le comptage.

Formule si le nombre exact de GB du patient est connu:

$\frac{\text{Nombre de PA}}{\text{Nombre de GB comptés}} \times \text{nombre de GB } \mu\text{l du patient} = \text{Nombre de PA } \mu\text{l}$

Ou si le nombre exact de GB du patient n'est pas connu:

$$\frac{\text{Nombre de PA}}{\text{Nombre de GB comptés}} \times 8000 \text{ GB } /\mu\text{l} = \text{Nombre de PA } /\mu\text{l}$$

Si on ne dispose pas de goutte épaisse, ou si le nombre de PA dans la goutte épaisse est trop élevé pour compter, on peut compter dans un frottis le nombre de PA vis-à-vis un nombre de globules rouges (GR) et calculer le nombre de PA/ μl de préférence sur base d'un nombre exact de GR/ μl du patient ou sinon vis-à-vis d'un nombre standard de 5.10^6 GR/ μl . Une alternative est d'exprimer la parasitémie comme pourcentage ou pourmille de GR infectés.

On compte le nombre de GR dans un ou plusieurs champs où les GR sont distribués régulièrement et si nécessaire on fait la moyenne. Dans la même partie du frottis on compte le nombre de GR infectés par champs dans un certain nombre de champs. C'est une bonne pratique de décrire le nombre de champs qu'il faut compter (p.ex. 25 ou 30), dans une procédure de laboratoire avec la possibilité de le modifier si le nombre de GR infectés est très élevé ou très bas.

Formule si le nombre exact de GR du patient est connu:

$$\frac{\text{Nombre de GR infectés}}{\text{Nombre de GR comptés}} \times \text{nombre de GR}/\mu\text{l du patient} = \text{Nombre de PA } /\mu\text{l}$$

Ou si le nombre exact de GR du patient n'est pas connu:

$$\frac{\text{Nombre de GR infectés}}{\text{Nombre de GR comptés}} \times 5.10^6 \text{ GR}/\mu\text{l} = \text{Nombre de PA } /\mu\text{l}$$

Formule pour calculer le pourcentage de GR infectés:

$$\frac{\text{Nombre de GR infectés}}{\text{Nombre de GR comptés}} \times 100 = \% \text{ de GR infectés}$$

ou pour calculer le nombre de GR infectés par 1000 GR (‰) comme demandé à l'occasion de l'EEQ:

$$\frac{\text{Nombre de GR infectés}}{\text{Nombre de GR comptés}} \times 1000 = \text{‰ de GR infectés}$$

Si on part d'une quantité de 5.10^6 GR/ μl une parasitémie de 50.000 PA/ μl est égale à 1%.

$$\frac{50.000 \text{ PA}/\mu\text{l}}{5.10^6 \text{ GR}/\mu\text{l}} \times 100 = 1\%$$

On examine la possibilité de pouvoir répondre la parasitémie en nombre de parasites asexué par μ l à l'occasion des enquêtes suivantes.

Nous encourageons les laboratoires à accepter l'offre du laboratoire de référence pour confirmer les résultats de malaria. Les résultats des échantillons qui arrivent avant 16h15 au laboratoire, sont rendus le même jour. La PCR est effectuée une fois par semaine en batch. Idéalement il faut envoyer une goutte épaisse –de préférence-non-colorée et un frottis, faits à partir de sang frais et 2.5 ml se sang prélevé sur EDTA

Références

Moniteur belge 19.12.2013

WHO Basic malaria microscopy – 2nd edition. Part 1: Learner's guide. ISBN 978 92 4 154782 6

6.1 Brucellose

6.1.1 Les échantillons

Deux échantillons lyophilisés, IS/13728 et IS/13795, ont été envoyés pour effectuer la détermination des anticorps anti-brucellose.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

IS/13728 Un patient a fait un voyage dans les îles du sud-est de la Méditerranée. Trois semaines après son retour il se sent moins bien et il a de la fièvre. Il souffre de céphalée et d'une diarrhée. Son appétit diminue, il se plaint d'insomnie et il souffre de douleurs musculaires. Le jour d'admission à l'hôpital, il se réveille avec une douleur thoracique et des nausées; malgré une sensation de froid, il transpire. L'examen clinique montre la présence d'une spléno- et d'une hépatomégalie. Il n'a pas de méléna ni de dysurie.

IS/13795 En juin le patient a fait un voyage en Turquie. Depuis début août il se sent moins bien, il souffre d'une adynamie et de fatigue. Début août il a également eu de la fièvre, « état grippal ». La deuxième semaine d'août il a de nouveau de la fièvre, selon le généraliste il souffre d'une pneumonie et la radiographie montre un infiltrat basal droit, pour lequel il reçoit des antibiotiques pendant 4 jours. Pas de toux ni d'expectorations. Le lendemain de son admission il a une douleur thoracique, une sensation oppressante bilatérale en bas du thorax, qui a commencé au cours du petit déjeuner. Pas de palpitations. Aujourd'hui il est constamment fatigué. Pas de douleur abdominale, pas de diarrhée, de temps en temps des nausées, pas de vomissements, pas de perte de sang via l'anus, pas de méléna, pas de dysurie.
Perte de poids - 3 kg. Pas de sueurs nocturnes.

L'échantillon IS/13728 était négatif en anticorps anti-brucellose.
L'interprétation attendue était : « Absence d'anticorps. »

L'échantillon IS/13795 était positif en anticorps anti-brucellose.
L'interprétation attendue était : « Présence d'anticorps, suggérant une infection. »

L'échantillon IS/13728 a déjà été envoyé dans l'enquête 2011/3 sous le numéro IS/7727.

6.1.2 Les participants

53 laboratoires ont renvoyé leurs résultats.

Ils ont effectué 71 tests sur l'échantillon IS/13728 et 72 tests sur l'échantillon IS/13795.

Sur l'échantillon IS/13728, 37 laboratoires ont effectué 1 test, 14 laboratoires ont effectué 2 tests et 2 laboratoires ont effectué 3 tests.

40 tests servaient à déterminer les anticorps totaux:

- 25 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. abortus*
- 12 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. melitensis*
- 3 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. abortus* et anti-*B. melitensis* (les 2)

27 tests servaient à déterminer les IgG

4 tests servaient à déterminer les IgM;

Sur l'échantillon IS/13795, 36 laboratoires ont effectué 1 test, 15 laboratoires ont effectué 2 tests et 2 laboratoires ont effectué 3 tests.

40 tests servaient à déterminer les anticorps totaux:

- 25 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. abortus*
- 12 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. melitensis*
- 3 tests servaient à déterminer les anticorps anti-*B. abortus* et anti-*B. melitensis* (les 2)

27 tests servaient à déterminer les IgG

5 tests servaient à déterminer les IgM.

Le tableau 6.1.1. présente un aperçu des combinaisons des tests effectués.

Tableau 6.1.1 Aperçu des combinaisons des tests utilisés dans la détermination des anticorps anti-Brucella

N tests	Paramètres effectués	IS/13728	IS/13795
1 test effectué	Anticorps totaux: <i>B. abortus</i>	12	12
	Anticorps totaux: les 2	1	1
	IgG	22	21
	IgM	2	2
2 tests effectués	Anticorps totaux: <i>B. abortus</i> et <i>B. melitensis</i>	10	10
	IgG + Anticorps totaux: les 2	2	2
	IgG + IgM	2	3
3 tests effectués	Anticorps totaux: 2 * <i>B. abortus</i> + 1 * <i>B. melitensis</i>	1	1
	Anticorps totaux: <i>B. abortus</i> et <i>B. melitensis</i> + IgG	1	1
Total		53	53

6.1.3 Réactifs utilisés

Les tableaux suivants reprennent le nombre d'utilisateurs par trousse de réactifs.

Tableau 6.1.2 Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps totaux anti-Brucella

<i>Fabricant</i>		<i>Réactif</i>	<i>IS/13724</i>	<i>IS/13725</i>
BioSystems Medigal)	(distributeur	Febrile serodiagnostic agglutination test*	3	3
		Rose Bengal*	2	2
Cypress Diagnostics		Brucella Abortus bacterial antigens for slide, tube agglutination*	1	1
Diamondial Biotrading)	(distributeur	Stained Febrile Antigens Brucella abortus*	13	13
		Stained Febrile Ag Brucella melitensis†	6	6
Plasmatec Forlab)	(distributeur	Stained febrile antigens B. abortus*	2	2
		Stained febrile antigens B. melitensis†	2	2
Remel (distributeur Oxoïd)		Stained Suspension Brucella abortus*	4	4
		Stained Suspension Brucella melitensis†	4	4
Serion Labconsult)	(distributeur	Brucella CFT reagens‡	3	3
Total			40	40

* trousses qui déterminent les Ac anti-*B. abortus*

† trousses qui déterminent les Ac anti-*melitensis*

‡ trousses qui déterminent les Ac anti-*B. abortus* et anti-*B. melitensis*

Tableau 6.1.3 Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps IgG anti-Brucella

<i>Fabricant</i>		<i>Réactif</i>	<i>IS/13724</i>	<i>IS/13725</i>
Biorad		Brucella Rose Bengal	25	25
DiaSorin		Brucella IgG Elisa	1	1
Vircell (distributeur Medigal)		Brucella IgG Elisa	1	1
Total			27	27

Tableau 6.1.4 Réactifs utilisés pour la détermination des anticorps IgM anti-Brucella

<i>Fabricant</i>		<i>Réactif</i>	<i>IS/13724</i>	<i>IS/13725</i>
Biorad		Brucella Wright	2	3
DiaSorin		Brucella IgM Elisa	1	1
Vircell (distributeur Medigal)		Brucella IgM Elisa	1	1
Total			4	5

6.1.4 Résultats

L'échantillon IS/13728

Résultats techniques

Les anticorps totaux ont été trouvés négatifs par 38 laboratoires (indépendamment de la spécificité de ces anticorps ; le laboratoire qui a utilisé 2 troussees différentes pour la détermination des anticorps anti-*B. abortus* a obtenu des résultats négatifs avec ces 2 troussees) et positifs par 1 laboratoire (Ac. totaux contre les 2).

Les IgG ont été trouvées négatifs par 26 laboratoires et positifs par 1 laboratoire.

Les IgM ont été trouvées négatifs par tous les laboratoires.

Aperçu des interprétations

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau suivant:

Tableau 6.1.5 Interprétations pour l'échantillon IS/13728

<i>Interprétation</i>	<i>N labos</i>
Absence d'anticorps	51
Présence d'anticorps, suggérant une infection	2
Total	53

L'interprétation « Présence d'anticorps, suggérant une infection » a été donnée par les 2 laboratoires qui avaient obtenu un résultat positif.

42 laboratoires ont fourni une remarque pour la réponse « Absence d'anticorps ». Un aperçu de ces remarques est présenté dans le tableau 6.1.6.

Tableau 6.1.6 Remarques pour la réponse « Absence d'anticorps » pour l'échantillon IS/13728

<i>Remarque</i>	<i>N labos</i>
Une confirmation n'est pas nécessaire	31
Une confirmation est souhaitée par un prélèvement de suivi ¹	6
Une confirmation est souhaitée par tests complémentaires: culture bactérienne (hémoculture)	2
Une confirmation est souhaitée par tests complémentaires: ELISA	1
Une confirmation est souhaitée par tests complémentaires: recherche des ac. bloquants	1
En fonction du risque d'exposition et de l'évolution d'autres diagnostics (invasifs)	1
Total	42

¹ Un laboratoire a précisé cette réponse : « en cas de symptômes présents depuis moins de 2 semaines ».

A un seul labo près (qui effectue 3 tests à l'occasion de l'EEQ et 1 seul en routine (détermination des IgG)), tous les laboratoires effectueraient en routine, tous les tests qu'ils ont effectués pour l'EEQ.

L'échantillon IS/13795

Résultats techniques

Les anticorps totaux contre les 2 espèces de *Brucella* ont été trouvés négatifs par les 3 laboratoires effectuant ce test.

Les résultats obtenus pour les anticorps totaux contre respectivement *B. abortus* et *B. melitensis* sont repris dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 6.1.7 Résultats des tests pour les anticorps totaux anti-*Brucella abortus* pour l'échantillon IS/13795

Résultat	N labos
Positif	16
Négatif ¹	5
Borderline	3
Total	24

¹ Le laboratoire qui a utilisé 2 trousse à ce sujet, a obtenu un résultat négatif avec ces 2 trousse

Les résultats borderline et négatifs ont été obtenus avec différentes trousse:

Borderline: Stained febrile antigens *B. abortus* (Diamondial) (2), *Brucella Abortus* bacterial antigens for slide, tube agglutination (Cypress Diagnostics)

Négatif: Stained febrile antigens *B. abortus* (Diamondial) (3), Rose Bengal (Biosystems) (2), Stained Suspension *Brucella abortus* (Remel)

Pour la trousse Stained febrile antigens *B. abortus* (Diamondial), qui est la seule avec de données quantitatives en nombre suffisant de participants pour faire une analyse statistique, nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (N = 11; médiane = 1/40, minimum = 1/2, maximum = 1/160). Il est à noter que l'interprétation des résultats quantitatifs varie selon les laboratoires (p.ex. 1/20 est interprété comme négatif par 1 laboratoire et comme positif par 2 autres; 1/80 est interprété comme borderline par 1 laboratoire).

Tableau 6.1.8 Résultats des tests pour les anticorps totaux anti-*Brucella melitensis* pour l'échantillon IS/13795

Résultat	N labos
Négatif	8
Borderline	3
Positif	1
Total	12

Les résultats borderline et positifs ont été obtenus avec différentes trousse:

Borderline: Stained Febrile antigens *Brucella melitensis* (Plasmatec), Stained febrile antigens *B. melitensis* (Diamondial), Stained Suspension *Brucella melitensis* (Remel)

Positif: Stained Febrile antigens *Brucella melitensis* (Plasmatec)

Les résultats obtenus pour les IgG sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6.1.9 Résultats des tests pour les IgG pour l'échantillon IS/13795

Résultat	N labos
Positif	17
Négatif	8
Borderline	2
Total	27

Tous les résultats borderline et négatifs ont été obtenus avec la trousse Brucella Rose Bengal kit de Biorad (les 15 autres utilisateurs de cette trousse ont obtenu un résultat positif). La compagnie BioRad a examiné l'échantillon; vous trouverez ci-dessous le résultat de leur examen: « L'échantillon a un titre proche de la limite de sensibilité du coffret de Bio-Rad. Bio-Rad suspecte qu'on trouve un résultat NEG, probablement du à un effet de dilution en utilisant le flacon compte-gouttes (>30µl). On propose de pipeter 30µl du flacon au lieu d'utiliser les compte-gouttes. »

Les IgM ont été trouvées borderline par 3 laboratoires et négatifs par 2 laboratoires.

Aperçu des interprétations

Un aperçu des interprétations est présenté dans le tableau suivant:

Tableau 6.1.10 Interprétations pour l'échantillon IS/13795

Interprétation	N labos
Présence d'anticorps, suggérant une infection	33
Absence d'anticorps ¹	14
Résultat douteux ²	1
Résultat borderline, un échantillon de suivi est souhaitable ³	1
Zone grise, envoyé en routine pour confirmation ⁴	1
L'agglutination n'est pas claire; une interférence est possible. Une confirmation est nécessaire. ⁵	1
Discordance de résultat entre les 2 techniques: faux-positif en agglutination? A confirmer sur un nouveau prélèvement dans 15 jours. ⁶	1
Suspicion d'une infection. Un contrôle est recommandé dans 2-3 semaines. ⁷	1
Total	53

¹ Tous ces laboratoires ont obtenu des résultats négatifs avec toutes les méthodes qu'ils ont utilisées.

² Résultats techniques: Ac. totaux anti-*B. abortus* et Ac. totaux anti-*B. melitensis*: borderline tous les 2. Ce laboratoire enverrait en routine l'échantillon au centre de référence.

³ Résultat technique: IgM: borderline. Ce laboratoire enverrait en routine l'échantillon au centre de référence et demanderait d'effectuer un nouveau prélèvement.

⁴ Résultats techniques: Ac. totaux anti-*B. abortus* borderline et Ac. totaux anti-*B. melitensis*: négatif. Ce laboratoire enverrait en routine l'échantillon au centre de référence.

⁵ Résultat technique: IgG: borderline Ce laboratoire enverrait en routine l'échantillon au centre de référence.

⁶ Résultats techniques: Ac. totaux contre les 2 espèces de *Brucella*: négatif; IgG: positif. Ce laboratoire enverrait en routine l'échantillon au centre de référence.

⁷ Résultat technique: IgG: positif et IgM: borderline. Ce laboratoire demanderait en routine d'effectuer un nouveau prélèvement.

30 laboratoires ont fourni une remarque pour la réponse « Présence d'anticorps ». Un aperçu de ces remarques est présenté dans le tableau 6.1.11.

Tableau 6.1.11 Remarques pour la réponse « Présence d'anticorps » pour l'échantillon IS/13795

Remarque	N labos
Envoi au centre de référence ¹	15
Une confirmation est souhaitée par un prélèvement de suivi ²	5
Une confirmation n'est pas nécessaire	3
ELISA ³	3
Envoi à un centre universitaire pour détermination des IgM	1
IgG et IgM anti- <i>B. abortus</i>	1
PCR	1
Culture bactérienne (hémoculture)	1
Total	30

¹ Deux laboratoires ont mentionné envoyer l'échantillon pour l'exécution d'une ELISA, deux pour l'exécution d'une ELISA et l'agglutination, 1 pour l'exécution d'une PCR en 1 laboratoire a mentionné qu'il effectuerait un test de Wright test en plus de l'envoi au centre de référence.

² Un laboratoire a mentionné que le nouveau prélèvement doit être effectué après 3 semaines.

³ Un laboratoire a mentionné qu'il s'agit de la détermination des IgG et des IgM.

Tous les laboratoires effectueraient en routine, tous les tests qu'ils ont effectués pour l'EEQ

Commentaire

La Belgique est un pays officiellement indemne de brucellose bovine (2003/467/CE) et brucellose ovine et caprine (93/52/CEE). La présence du germe est toutefois étendue à d'autres réservoirs tels que les mammifères sauvages et marins, sans qu'aucun cas de brucellose humaine ne soit encore enregistré en Belgique associé à ce type de contact. La majorité des cas confirmés au sein du centre de référence fait suite à un voyage en pays endémiques. La brucellose est une maladie à déclaration obligatoire en Belgique. La définition d'un cas probable/confirmé repose sur une décision de l'EU (2012/506/UE) pour la déclaration des maladies transmissibles, qui prend en considération les paramètres cliniques et l'analyse de laboratoire. Les critères de laboratoire considérés sont l'isolement de *Brucella spp.* ou la détection d'anticorps spécifiques de *Brucella*.

Dans le contexte de cet EQA, deux échantillons cliniques ont été utilisés provenant de patients dont l'anamnèse répondait aux critères cliniques de Brucellose comme définis par l'ECDC (présence de fièvre associée à céphalée ou fatigue, et un lien épidémiologique avéré, dans ce cas, voyage en pays endémique). Les sérums de ces patients étaient caractérisés au préalable par le centre de référence en utilisant des méthodes référencées par le manuel de l'OIE (OIE Terrestrial Manual 2009). Pour l'échantillon IS/13728, sur les 53 laboratoires participants, seuls deux ont donné une réponse discordante par rapport à celle attendue. Cette erreur peut être considérée comme mineure si l'algorithme diagnostique est suivi par une confirmation du résultat par le centre de référence. La présence d'une remarque suggérant un sérum de suivi et/ou une hémoculture n'a par contre été envisagée que par 8/53 laboratoires. En considérant le moment du début des symptômes, une hémoculture devrait être toujours recommandée aussi bien que un sérum de suivi pour exclure avec certitude la présence d'une infection et ainsi apporter une correcte prise en charge du patient. Pour l'échantillon IS/13795, 14/53 laboratoires

participants ont donné une réponse discordante par rapport à celle attendue. Cela montre que au moins un quart des laboratoires sont sujets à des réactions faussement négatives dans le cadre diagnostique de cette pathologie. Ces variations de résultats d'un laboratoire à l'autre confirment les doutes émis par le centre national de référence pendant l'exercice de son activité. En effet, il avait déjà pu constater de rares cas où des patients avaient été diagnostiqués négatifs dans le laboratoire de première ligne et positif au sein du centre. Un taux assez important de résultats faussement négatifs détectés au sein de ces laboratoires peut s'expliquer par différents facteurs. Tout d'abord le type de tests utilisés par la majorité des laboratoires repose sur une réaction d'agglutination entre le sérum et l'antigène. L'interprétation de ce type de test peut facilement être influencée par des opinions subjectives données par l'opérateur. Afin de limiter au maximum ce biais, les tests en question sont généralement confiés à du personnel spécialisé. Une expertise limitée de l'opérateur peut par contre avoir une influence non négligeable sur le résultat final. Un autre facteur pourrait être la présence de problèmes liés aux trousse diagnostiques présentes sur le marché tels que leur performance limitée et la facilité d'utilisation et d'interprétation. Les résultats discordants observés d'un lot à l'autre pour une même trousse confirment l'hypothèse d'un problème de performance de ces trousse. Le centre de référence a entamé des initiatives pour évaluer ce facteur. A ce propos, il est important de rappeler que les trousse présentes en Belgique pour un diagnostic clinique de la brucellose (et utilisé dans le contexte de cet EQA) sont tous soumis à la réglementation requise pour un marquage CE. Le diagnostic de la brucellose animale se base sur l'utilisation de trousse validées au sein du laboratoire de référence.

Même pour la prise en charge du deuxième patient, l'hémoculture devrait être envisagée en parallèle.

Le centre de référence envisage néanmoins des raisons plus complexes derrière ce haut taux de faux négatifs, qui est probablement explicable par une combinaison des facteurs susmentionnés (par exemple nous observons des résultats discordants donnés par deux laboratoires différents utilisant la même trousse) et d'autres habitudes. Par exemple, suite à une enquête menée en parallèle, nous réalisons que pour une même trousse les seuils de positivité utilisés par les laboratoires sont variables.

Centre National de Référence pour les Brucella, CODA-CERVA
Department: Operational Direction Bacterial Diseases

Personne de contact : Dr. Marcella Mori
Groeselenberg 99, B-1180 Ukkel, België
Tél. : 02/379.04.43
Fax : 02/379.06.70
E-mail: marcella.mori@coda-cerva.be

6.2 Antigène RSV

6.2.1 Les échantillons

Il y avait 3 échantillons pour la recherche de l'antigène du RSV, Ag/13841, Ag/13842 et Ag/13843. Les résultats des échantillons Ag/13842 et Ag/13843 étaient positifs; le résultat de l'échantillon Ag/13841 était négatif.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

« Ag/13841 Infection respiratoire en août chez un enfant de 2 ans.

Ag/13842 Infection respiratoire en mars chez un enfant de 4 ans.

Ag/13843 Infection respiratoire en novembre chez un enfant de 1 an.

Nous vous demandons de prendre cette information en compte quand vous répondez à la question de savoir si vous effectuez ce test en routine. »

6.2.2. Les participants

132 laboratoires ont participé à cette enquête.

Pour les 3 échantillons, 128 laboratoires ont effectué un test et 4 laboratoires 2 tests (pour un total de 136 tests).

6.2.3 Réactifs utilisés

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

Tableau 6.2.1 Trousses utilisées pour les tests pour la détection de l'antigène RSV

<i>Fabricant</i>	<i>Trousse</i>	<i>Ag/13841</i>	<i>Ag/13842</i>	<i>Ag/13843</i>
Alere health	BinaxNOW RSV	59	59	59
Becton Dickinson	Veritor System for Rapid Detection of RSV	11	11	11
bioMérieux	Directigen EZ RSV test kit	6	6	6
	RSV Direct IF (ID)	5	5	5
	Argene Anti- RSV fluorescein conjugated concentrated	1	1	1
CerTest Biotec	RSV Detection kit	2	2	2
Coris Bioconcept	RSV K-set	23	23	23
	RSV Respi-strip	1	1	1
Meridian	Tru RSV	16	16	16
Millipore (distributeur Biognost)	Simulfluor Respiratory Screen	3	3	3
	Respiratory Viral screen DFA	1	1	1
Novamed (distributeur BMD)	RSV stick	1	1	1
Novolab (distributeur Vedalab)	RSV Check 1	1	1	1
Quidel	QuickVue RSV Test	4	4	4
	Sofia RSV FIA	1	1	1
Sekisui Diagnostics	OSOM RSV/Adenovirus Test	1	1	1
Total		136	136	136

6.2.4 Résultats

L'échantillon Aq/13841

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif. Les laboratoires ayant utilisé 2 trousseaux ont obtenu les mêmes résultats (négatifs) avec ces différentes trousseaux.

26 laboratoires ont répondu ne pas effectuer en routine le test sur cet échantillon. Un 27^e laboratoire, qui a utilisé 2 tests, n'utiliserait en routine qu'un de ces 2 tests.

Un certain nombre de laboratoires ont fourni une explication de la raison pour laquelle ils n'effectueraient pas la détection de l'Ag du RSV sur cet échantillon en routine:

- 5 laboratoires ont mentionné ne pas effectuer la détection de l'Ag du RSV au mois d'août (la pertinence clinique est limitée dans cette période de l'année)
- 3 laboratoires ont mentionné d'utiliser le test rapide commercial uniquement dans la période épidémique et en dehors de cette période un test d'immunofluorescence
- 1 laboratoire a mentionné ne disposer que rarement (voire jamais) du contexte clinique
- 1 laboratoire a mentionné l'effectuer uniquement à la demande du médecin qui connaît la clinique

Un certain nombre de laboratoires qui ont mentionné effectuer le test en routine, ont fourni une explication:

Six laboratoires ayant mentionné qu'il s'agit d'une demande en dehors de la « saison » de RSV, effectueraient quand-même le test. Deux autres laboratoires ont mentionné qu'à cause de cette raison il est peu probable qu'il s'agisse d'un RSV mais que vu l'âge du patient ils effectueraient quand-même le test. Trois autres laboratoires ont mentionné l'effectuer après prise de contact avec le clinicien; un laboratoire a mentionné que les pédiatres et les infectiologues insistent pour avoir le test même en dehors de la saison. Trois laboratoires ont mentionné effectuer toujours le test si le clinicien le demande.

L'échantillon Ag/13842

131 laboratoires ont obtenu un résultat positif. Les laboratoires ayant utilisé 2 trousseaux ont obtenu les mêmes résultats (positifs) avec ces différentes trousseaux.

Un laboratoire a obtenu un résultat borderline.

12 laboratoires ont répondu ne pas effectuer en routine le test sur cet échantillon. Un 13^e laboratoire, qui a utilisé 2 tests, n'utiliserait en routine qu'un de ces 2 tests.

Un certain nombre de laboratoires ont fourni une explication de la raison pour laquelle ils n'effectueraient pas la détection de l'Ag du RSV sur cet échantillon en routine:

- 2 laboratoires ont mentionné que vu l'âge du patient (≥ 2 ans) ils n'effectueraient pas la détection de l'Ag du RSV (non remboursé)
- 3 laboratoires ont mentionné d'utiliser le test rapide commercial uniquement dans la période épidémique et en dehors de cette période un test d'immunofluorescence
- 1 laboratoire a mentionné de disposer quasi jamais des informations clinique et qu'ils répondent aux demandes des cliniciens qui n'imposeraient (normalement, pas une aspiration naso-pharyngée sans bonne raison)
- 1 laboratoire a mentionné l'effectuer uniquement à la demande du médecin qui connaît la clinique

Un certain nombre de laboratoires qui ont mentionné effectuer le test en routine, ont fourni une explication:

Un laboratoire ayant mentionné que l'âge du patient doit être ≤ 2 ans, effectuerait quand-même le test. Un laboratoire a mentionné qu'il effectue le test jusque l'âge de 5 ans. Un laboratoire a mentionné effectuer le test étant donné la période de l'année. Trois laboratoires ont mentionné effectuer toujours le test si le clinicien le demande.

L'échantillon Ag/13843

Le tableau ci-dessous présente les résultats par laboratoire.

Tableau 6.2.2 Résultats pour les tests pour la détection de l'antigène RSV (échantillon Ag/13843)

Résultat	N labos
Positif ¹	92
Borderline	29
Négatif	10
Positif/négatif ²	1
Total	132

¹ Trois des 4 participants qui ont utilisé deux trousse ont obtenu des résultats positifs pour ces 2 trousse.

² Un laboratoire a obtenu des résultats différents pour les 2 trousse utilisées.

Les résultats « borderline » et négatifs ont été obtenus avec des trousse différentes ; ces mêmes trousse ont également donné des résultats positifs.

L'explication pour ces résultats « borderline » et négatifs se trouve probablement dans le fait que l'échantillon est effectivement faible positif: il s'agissait d'une dilution 1/10 de l'échantillon positif Ag/13842.

Etant donné que 5 des 16 utilisateurs de la trousse kit Tru RSV (Meridian) ont obtenu un résultat faux négatif, la firme a examiné l'échantillon. Vous trouverez ci-dessous la conclusion de leur examen:

“ We received notification of your interest into the 2016 WIV ISP proficiency survey, and wanted to provide you with the results of our investigation into this survey. On the 2016 WIV ISP proficiency survey, 5 of 16 Meridian Bioscience TRU RSV users obtained a false negative result on specimen Ag/13843. The WIV intended result was positive. We received one complaint from one end-user regarding this issue, and understand that you discussed concerns regarding this survey with our Meridian Bioscience Europe (MBE) office via telephone on February 25, 2016.

As part of our investigation, controls and qualified known value specimens were tested on the implicated kit lot reported by our complaining user, 751330G070. The controls were valid and known value specimens performed as expected, which indicates the kit is continuing to perform acceptably. Additionally, our MBE office performed testing on a new aliquot of the proficiency specimen Ag/13843 on the same kit that was used by the laboratory which reported the complaint. The MBE office obtained a positive result for this specimen, as intended. A second new aliquot of the proficiency specimen Ag/13843 was tested at our Meridian Bioscience Corporate office on kit lot 751330G070, and again tested positive, as intended.

Thank you for interest in this matter regarding the TRU RSV product. Your comments and concerns are a key source of information in our efforts to continuously improve our products and services.”

Un laboratoire a répondu ne pas effectuer en routine le test sur cet échantillon (mais l'effectuer uniquement à la demande du médecin qui connaît la clinique). Un 2^e laboratoire, qui a utilisé 2 tests, n'utiliserait en routine qu'un de ces 2 tests.

Trois laboratoires ont mentionné d'effectuer le test étant donné qu'il s'agit de la période épidémiologique. Trois laboratoires ont mentionné d'effectuer toujours le test si le clinicien le demande.

Discussion des résultats de l'enquête

Trois échantillons ont été envoyés pour détection de l'antigène du RSV. L'échantillon Ag/13841 était négatif. L'échantillon Ag/13842 était une culture très positive pour le RSV du type A (Ct 18, RT-PCR, ULB Erasme). L'échantillon Ag/13843 était une dilution 1/10 de cet échantillon très positif dans le milieu de culture.

La performance analytique était, malgré la grande diversité des tests utilisés, plus que satisfaisante. Uniquement pour l'échantillon Ag/13843 10 participants sur 132 (7.6%) ont obtenu un résultat faux négatif. Cinq d'entre eux ont utilisé la trousse Meridian Bioscience TRU RSV (nombre total d'utilisateurs : 16).

L'échantillon a été ré-analysé par le lot concerné par le producteur. Il a obtenu des résultats positifs reproductibles.

La plupart des infections par RSV en Belgique sont retrouvées chez les enfants en-dessous de 2 ans entre les semaines 40 (début octobre) et 15 (fin mars). L'épidémie annuelle connaît d'habitude son pic dans la semaine 50 (mi-décembre) (Information concernant bronchiolite, WIV-ISP, juillet 2009).

A l'occasion de cette enquête nous avons demandé si les laboratoires effectuent la détection de l'antigène RSV en dehors de cette période épidémique et chez les enfants au-dessus de 2 ans. La basse prévalence de RSV dans ces populations peut en effet influencer la performance clinique des tests d'antigène RSV. D'un autre côté, la performance analytique peut également être réduite en raison d'une charge virale plus basse chez ces patients.

Dans une étude belge multicentre (1) la performance de 2 tests antigéniques qui ont été récemment introduits sur le marché belge a été comparée avec la « reverse transcriptase polymerase chain reaction » (RT-PCR) comme « gold standard ». La prévalence de RSV était de 61.7% (153/248) dans la population testée (enfants <6 ans, entre novembre et décembre 2014). La sensibilité était de 79.1% pour les 2 tests. Les spécificités étaient respectivement de 96.8% et 95.8%. Ces tests antigéniques peuvent donc être utilisés surtout en clinique pour leur valeur prédictive positive élevée (VPP, respectivement 97.6% et 96.8%): un résultat positif confirme le diagnostic d'infection par RSV. Un résultat négatif n'exclut par contre pas une infection par RSV (valeur prédictive négative VPN, respectivement 74,2 et 74,0%). Si nous utilisions ces tests antigéniques dans une population avec une prévalence de RSV plus basse, la VPP descend à une valeur inacceptable. Par exemple pour une prévalence de 10% les VPP sont respectivement 73.1% et 67.1%. Pour une prévalence de 5% les VPP ne sont respectivement que 57.1% et 50.0%.

Même si ce n'était pas significatif, l'étude a également montré une tendance à une sensibilité plus basse chez les enfants plus âgés: elle était de 83.0% chez les enfants en-dessous de 1 an et de 72.9% chez les enfants au-dessus de 1 an. Il y avait également une association (non-significative) entre l'âge et la valeur de Ct (Cycles threshold) des résultats RT-PCR positifs. Ceci indique une charge virale plus basse dans les échantillons des enfants plus âgés, ce qui est expliqué par les auteurs par une possibilité plus grande de réinfection que d'infection primaire et un prélèvement plus difficile.

Lors de cette enquête le comité d'experts veut attirer l'attention sur le fait que les tests antigéniques sont surtout développés et validés pour le diagnostic des infections par RSV chez les jeunes enfants (<=2 ans) pendant la période épidémique (octobre jusque mars). Ce type de tests est cependant moins utile en dehors de cette période épidémique et/ou chez de patients de plus de 2 ans.

Deux laboratoires ont mentionné ne pas effectuer le test d'antigène chez des enfants >2 ans étant donné qu'il n'y a pas de remboursement prévu. Ceci est remarquable parce qu'il n'existe malheureusement pas de nomenclature spécifique pour l'exécution d'un test d'antigène RSV. Probablement ces laboratoires ont confondu avec la nomenclature pour la recherche du rotavirus dans les selles.

Dans l'étude mentionnée, la sensibilité plus basse des tests examinés pour le RSV type de B (64.7% et 52.9%) que pour celui de type A (80.9% et 82.4%) est également à noter. Cette observation souligne l'importance d'organiser régulièrement un contrôle externe pour les tests antigéniques viraux. L'EEQ permet de repérer plus vite des problèmes d'affinité des trousseaux avec des souches virales locales.

J. Van Acker, AZ St-Lucas, Gent

(1) Jonckheere S et al. Multicenter evaluation of BD Veritor System and RSV K-SeT for rapid detection of respiratory syncytial virus in a diagnostic laboratory setting. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015 Sep;83(1):37-40. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.05.012. Epub 2015 May 27.

FIN

© Institut Scientifique de Santé Publique, Bruxelles 2016.
Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de l'ISP.