

EXPERTISE ET PRESTATIONS DE SERVICE
QUALITE DES LABORATOIRES

COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS

EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE
DES ANALYSES EN BIOLOGIE CLINIQUE

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
MICRO/SERO/PARA
ENQUETE 2019/3**

Microbiologie

Burkholderia multivorans
Enterococcus gallinarum
Escherichia coli
Pseudomonas aeruginosa

Parasitologie

Diphyllobotrium latum
Taenia species

Sérologie

Sérologie VIH
Antigène de la Legionella

Sciensano/Micro/Séro/Para/122-FR

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

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS

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

Dr. VAN GASSE Natasja	ZNA Antwerpen
Dr. VERROKEN Alexia	UCL Bruxelles
Pharm. VIJGEN Sara	JESSA ZIEKENHUIS Hasselt

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts à partir du 24/10/2019.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité d'experts le : 09/01/2020.

Autorisation de diffusion de rapport:

Par Kris Vernelen, coordinateur d'enquête, le
13/01/2021



Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

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

Tables des matières

I. Remarques générales	5
II. Identification.....	6
2.1. Culture M/4830 <i>Enterococcus gallinarum</i>	6
2.2. Culture M/16723 <i>Escherichia coli</i>	7
2.3. Culture M/16724 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.4. Culture M/16759 <i>Burkholderia multivorans</i>	13
III. Résultats des identifications	15
3.1. Culture M/4830 <i>Enterococcus gallinarum</i> (hémoculture).....	15
3.2. Culture M/16723 <i>Escherichia coli</i> (frottis de plaie)	16
3.3. Culture M/16724 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	17
3.4. Culture M/16759 <i>Burkholderia multivorans</i> (liquide LBA)	18
IV. Antibiogramme.....	19
4.1. Culture M/16723 (<i>Escherichia coli</i>)	20
4.2. Culture M/16724 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>).....	30
V. PARASITOLOGIE.....	36
5.1. Les échantillons	36
5.2. Les résultats pour l'échantillon P/16534.....	37
5.3. Les résultats pour l'échantillon P/16535.....	39
5.4. Commentaire concernant l'enquête : échantillon P/16534	40
VI. Sérologie	43
6.1. VIH	43
6.1.1. Information concernant les échantillons envoyés	43
6.1.2. Les participants	44
6.1.3. Réactifs utilisés	45
6.1.4. Résultats	46
6.1.5. Commentaire.....	46
6.2. Antigène de la Legionella.....	47
6.2.1. Les échantillons	47
6.2.2. Les participants	47
6.2.3. Réactifs utilisés	48
6.2.4. Résultats	49
6.2.5. Utilisation d'un reader.....	50
6.2.6. Commentaire.....	50

I. Remarques générales

Pour la 3^e enquête du cycle 2019 (enquête 2019/3), le matériel suivant a été expédié le 7 octobre 2019.

1.1. 4 échantillons lyophilisés pour identification.

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

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

1.3. Deux échantillons de plasma pour la sérologie du **VIH** et **2 échantillons d'urine** pour la détermination de **l'antigène de Legionella**.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	133
2.	Pour la parasitologie:	122
3.	Pour la sérologie	
	Le VIH:	142
	L'antigène de Legionella:	91

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

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

Pour la bactériologie :

https://www.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. Identification

2.1. Culture M/4830 *Enterococcus gallinarum*

Enterococcus gallinarum peut être associé à des infections graves, telles que les bactériémies et les endocardites. Ce germe est cependant beaucoup moins fréquemment isolé qu'*Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis*.

Neuf opérons codant pour la résistance aux glycopeptides ont été décrits (*vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* et *vanN*). *Enterococcus gallinarum* et *Enterococcus casseliflavus* disposent toujours de l'opéron *vanC* qui est chromosomique et qui est associé à une résistance de bas niveau à la vancomycine. *VanA* et *vanB* peuvent être acquis via des éléments mobiles ou un plasmide. Quelques souches d'*E. gallinarum* avec un opéron *vanA* et/ou *vanB* ont déjà été décrits. Cependant, étant donné qu'elles n'ont été isolées que très rarement et qu'il n'existe pas de tendance à une dispersion épidémique, il n'est pas nécessaire de rechercher chez ces espèces *vanA* et *vanB* de façon routinière en cas d'un isolement unique sauf si la CMI pour la vancomycine est $\geq 16.0 \mu\text{g/ml}$ (cfr également le conseil du CSS, avril 20149, CSS n° 9277).

M. Depypere, UZ Leuven

2.2. Culture M/16723 *Escherichia coli*

Il s'agit d'une souche de *Escherichia coli* isolée dans une plaie d'escarre chez un patient paraplégique. La souche est résistante de haut niveau aux aminopénicillines, amoxicilline/clavulanate (AMC), pipéracilline/tazobactam (PTZ), témocilline (TMO) et résistante de bas niveau aux carbapénèmes (résistante à l'ertapénème et sensible au méropénème selon les seuils cliniques EUCAST), alors qu'elle reste sensible aux céphalosporines de 3^{ème} et 4^e génération (CEPH3/4). Cette souche est également résistante aux fluoroquinolones (ciprofloxacine), à la gentamicine et à la colistine, mais sensible au cotrimoxazole. Ce profil de résistance aux bêta-lactamines est typique d'une souche d'entérobactérie productrice de carbapénémase (CPE) de type OXA-48, la souche portant par ailleurs une résistance plasmidique transférable à la colistine MCR-1.

La carbapénémase de type OXA-48 est actuellement l'enzyme la plus fréquemment rencontrée en Belgique chez les entérobactéries de type CPE et *E. coli* est la deuxième espèce (avec *Enterobacter cloacae*) qui produit le plus souvent une carbapénémase parmi les CPE, derrière l'espèce principale *K. pneumoniae* qui a déjà fait l'objet de plusieurs EEQ précédemment. Cette souche présente un faible niveau d'expression de la résistance aux carbapénèmes : avec une CMI méropénème =0.5-1 µg/ml (S selon les seuils cliniques EUCAST) et une CMI ertapénème =1-2 µg/ml (R selon les seuils cliniques EUCAST), mais ce niveau de résistance est suffisant pour dépasser les seuils de screening EUCAST (CMI > 0.125 µg/ml pour méropénème ou ertapénème ; diamètres d'inhibition <28 mm pour méropénème ou <25 mm pour ertapénème) pour la détection de carbapénémases. Nous observons favorablement aussi que la témocilline dont la résistance de haut niveau (diamètre <11 mm ou CMI >128 µg/ml) est très suggestive de la présence de carbapénémases (dont OXA-48), est testée par 93% des laboratoires. D'une manière globale, la présence d'une carbapénémase de type OXA-48 ou la suspicion d'une CPE sans préciser le type d'enzyme a été signalé en commentaire par 59% (75/128) des laboratoires. Par ailleurs, 84% (n=107) laboratoires ont répondu positivement que la souche présente un intérêt épidémiologique et/ou une importance pour l'hygiène hospitalière. Seuls 12 (9%) laboratoires n'ont ni signalé la suspicion de CPE, ni indiqué l'importance épidémiologique de la souche. Nous pouvons donc noter une très bonne connaissance des laboratoires à reconnaître et à rapporter ce mécanisme de résistance d'importance épidémiologique. S'il est moins fréquent d'observer une épidémie clonale avec une *E. coli* OXA-48 (en comparaison avec *K. pneumoniae*), il est important de les détecter au vu du risque de dissémination du plasmide de résistance pouvant être transféré au sein d'une même espèce ou entre des espèces différentes d'entérobactéries.

Rappelons que de nombreux tests (hydrolyse des carbapénèmes par tests colorimétriques ou par MALDI-TOF MS, tests immunochromatographiques pour la détection d'antigènes spécifiques, tests moléculaires...) permettent d'effectuer localement le screening et la confirmation de la présence des principales carbapénémases retrouvées chez les CPE (OXA-48, KPC, NDM, VIM). Il est probable que leur utilisation plus fréquente contribue à l'amélioration de performance et de rapidité de détection des CPE par les laboratoires de microbiologie.

L'autre caractéristique particulière de cette souche de *E. coli* CPE de type OXA-48 est sa résistance additionnelle à la colistine (CMI=4-8 µg/ml) ici liée à la présence d'une résistance plasmidique MCR-1.

Les caractéristiques et le mécanisme d'action de la colistine largement détaillés dans l'enquête 2017/2 sont brièvement résumés ici. Les polymyxines (polycations) dont fait partie la colistine, se fixent sur le lipopolysaccharide (LPS) bactérien (structure chargée négativement), composant de la membrane externe des bacilles à gram-négatif (BGN) et entraînent une désorganisation de la paroi externe, une perméabilisation de la membrane cytoplasmique et mort cellulaire (bactéricide). La colistine possède un spectre d'activité limité aux seules BGN aérobies (incluant les entérobactéries sauf les *Serratia* spp. et les Proteaceae, *Pseudomonas* spp. et *Acinetobacter* spp.). Alors que l'utilisation de la colistine est réservée dans le traitement d'infections systémiques sévères à BGN multi-résistants (tel que les CPE) en médecine humaine, leur utilisation en médecine vétérinaire est par contre restée importante (souvent abusive) comme agent promoteur de croissance dans le domaine agro-alimentaire.

La résistance à la colistine est le plus souvent liée à des modifications par ajout de résidus chargés positivement (surtout phosphoéthanolamines [pEtN] ou 4-amino-4-désoxy-L-arabinose [L-Ara4N]) sur le lipide A du LPS des BGN, ce qui diminuent la charge négative du LPS, entraînant ainsi une diminution d'affinité de la colistine avec sa cible d'action. Chez les entérobactéries, ces modifications du LPS sont finement régulées par deux systèmes distincts à deux composants nommés PhoP/PhoQ et PmrA/PmrB. Le système PhoP/PhoQ est lui-même régulé par la protéine transmembranaire MgrB. Dans la majorité des cas, la résistance à la colistine est corrélée avec des altérations de gènes chromosomiques (mutations, délétions ou insertions) impliqués dans l'un ou l'autre de ces systèmes à deux composants et/ou du gène *mgrB*. Chez les entérobactéries, le mécanisme de résistance le plus fréquemment rencontré correspond à une inactivation du gène *mgrB* conduisant à une addition incontrôlée de L-Ara4N sur le LPS conférant un niveau de résistance à la colistine généralement assez élevé (CMI entre 4 et 64 mg/L). L'émergence d'une résistance plasmidique à la colistine et transférable d'une espèce à une autre a été rapportée pour la première fois fin 2015 en Chine sous la dénomination de MCR-1. La protéine MCR-1 fait partie de la famille des phosphoéthanolamine transférase dont l'expression chez les entérobactéries aboutit à l'addition de pEtN sur le lipide A. Les modifications du LPS par l'ajout de pEtN confèrent des niveaux de résistance aux polymyxines plus faibles que celui conféré par l'ajout de L-Ara4N (CMI habituellement entre 4 et 8 mg/L).

Il y a eu un nombre croissant de rapports sur l'identification des gènes *mcr* à travers le monde sur tous les continents depuis la première caractérisation en Chine. Plusieurs études rétrospectives ont démontré la présence de souches productrices de MCR-1 depuis les années 1980 (isolement à partir de volaille en Chine) et en Europe au début des années 2000 (isolement dans des veaux d'élevages en France dès 2005) suggérant que l'émergence de ce mécanisme de résistance à la colistine n'était pas si récente et que l'émergence du gène pourrait être liée à l'utilisation intensive des polymyxines dans l'industrie agro-alimentaire. Plusieurs gènes *mcr* (*mcr-1* à *mcr-9*) en plus de plusieurs variantes ont été rapportés dans de nombreuses espèces bactériennes des Enterobacteriaceae (surtout *E. coli* et dans une moindre mesure *Salmonella* spp. et beaucoup plus rarement chez *K. pneumoniae*), mais à ce jour la résistance plasmidique à la colistine n'a été décrite que de manière anecdotique chez *Pseudomonas* spp. ni chez *Acinetobacter* spp. Les gènes *mcr* ont été détectés dans une large diversité de plasmides (IncI2, IncHI2, IncX4 sont les plus fréquents) suggérant une large dissémination de cette résistance. Alors que *mcr-1* représente la large majorité (95%) parmi les gènes *mcr* rapportés et quasiment le seul à être détecté dans les prélèvements cliniques humains, les autres gènes *mcr* ont été isolés des animaux d'élevage ainsi que des produits alimentaires dérivés tels que le porc, le poulet et le bœuf, en plus de nombreuses sources environnementales telles que les eaux usées des hôpitaux, les rivières et les mers. Les données sur le rôle de l'environnement et/ou d'une voie alimentaire pour la dissémination de *mcr* sont encore fragmentaires et imprécises.

Chez l'homme, la prévalence de la résistance à la colistine reste actuellement basse dans de nombreux pays. La prévalence de la résistance à la colistine par mutations chromosomiques essentiellement observée chez *K. pneumoniae* semble étroitement corrélée à celle de la résistance aux carbapénèmes : <5 % dans les pays où la dissémination des CPE est encore faible (p.ex. : France, Belgique, Allemagne, Suède, Finlande, Danemark, Norvège) à 20 à 30 % pour certains pays considérés comme endémiques pour les CPE (ex. : Grèce ou Italie) liée à l'augmentation importante de l'utilisation de la colistine pour le traitement des infections à BGN multi-résistant et à la dissémination de souches épidémiques MDR résistantes à la colistine (essentiellement des CPE de type KPC). Par contre, la prévalence des souches *mcr-1* positives reste toujours très faible (<0.5% chez *E. coli*). Cependant il n'existe qu'un très petit nombre d'études, celles-ci étant de surcroît souvent de taille limitée et ciblées sur des groupes de population très spécifiques (dépistage du portage de bactéries MDR à partir de frottis rectaux chez des patients hospitalisés).

En Belgique, il n'existe pas de données de prévalence de la résistance à la colistine en médecine humaine, cet antibiotique n'étant testé que par certains laboratoires surtout hospitaliers. Notre laboratoire du centre de référence (CNR) a évalué la sensibilité in vitro à la colistine par microdilution en bouillons sur un échantillon de plus de 400 souches CPE collectées en 2017-2018 isolées à partir de prélèvements cliniques ou de frottis de dépistage dans plus de 90 laboratoires (hospitaliers et privés) belges. Une résistance associée à la colistine a pu être mise en évidence

pour 2% des souches de *E. coli* CPE et pour 13% des *K. pneumoniae* CPE testées avec un taux de résistance à la colistine particulièrement élevé chez les souches productrices de carbapénémase de type KPC (24%) par rapport à celles produisant d'autres types de carbapénémases (<10%) probablement liée à la diffusion épidémique régionale d'un clone ST512 producteur de carbapénémase KPC-3 bien reconnue.

Parmi toutes les souches de CPE résistantes à la colistine testées au CNR depuis 2014, seules 3 souches de *E. coli* toutes productrices d'une carbapénémase OXA-48 étaient également positives par PCR pour le gène de résistance plasmidique à la colistine *mcr-1*. Par contre en parallèle entre 2016 et 2018, le CNR a confirmé la présence du gène *mcr-1* dans 11 souches de *E. coli* résistantes à la colistine (provenant de 4 laboratoires) qui présentaient comme particularité des sensibilités à la majorité des antibiotiques (sauf à l'ampicilline et pour certaines au cotrimoxazole ou aux fluoroquinolones). En 2019, les résultats préliminaires de l'étude de surveillance nationale sur une période de 6 mois confirment la présence de *mcr-1* (plus d'un tiers des souches *E. coli* COL-R et détectées dans au moins 17 laboratoires dont 3 desservant la communauté) majoritairement associées aux souches de *E. coli* multi-sensibles et toutes carbapénème sensibles isolées presque exclusivement d'urines (données CNR). La présence simultanée de gène *mcr* chez une souche CPE ont également été détecté avec tous les types de carbapénémase majeure (OXA-48, KPC, VIM, NDM, IMP) dans d'autres pays, mais les cas observés restent sporadiques et exceptionnels du moins en dehors des pays où les résistances MCR sont plus fréquemment retrouvées (ex : Chine).

Compte tenu de l'absence d'épidémies nosocomiales associées à la présence de souches d'entérobactéries productrices de MCR-1, de la méconnaissance des facteurs de risque de portage, de la survenue tout à fait exceptionnelle d'épidémies hospitalières associées à l'espèce *E. coli*, de la proportion importante de souches MCR-positives multi-sensibles aux antibiotiques d'origine communautaire (non associées à des infections hospitalières), il ne nous paraît pas indiqué de réaliser actuellement un dépistage spécifique pour la recherche du mécanisme de résistance à la colistine de type MCR chez des patients hospitalisés.

Il est important de rappeler l'importance du choix de la méthodologie utilisée au laboratoire pour tester la sensibilité *in vitro* de la colistine et en particulier déterminer la CMI en cas de nécessité d'usage thérapeutique pour traiter des infections à BGN multi-résistants. Depuis 2017, les valeurs de seuils critiques d'interprétation ont été harmonisées pour les différents groupes de BGN (entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.) et sont maintenant identiques (S \leq 2 μ g/ml et R $>$ 2 μ g/ml) pour les deux principaux référentiels (EUCAST et CLSI). Il est actuellement recommandé de ne plus évaluer la sensibilité à la colistine par des méthodes de diffusion en milieu solide (disques ou bandelettes par gradient de diffusion de type E-test ou analogues). La méthode de référence préconisée par les sociétés savantes (tant EUCAST que CLSI) pour évaluer la sensibilité aux polymyxines est la méthode de dilution en milieu liquide (macro- ou microdilution) (Matuscheck et al. CMI 2018) (http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf). Les systèmes commerciaux de microdilution en bouillons existent sous forme de plaque (Sensititre) ou de barrette unique (MICRONAUT MIC-Strip, Biocentric UMIC) pouvant comprendre une large gamme de concentrations de colistine lyophilisée (de 0.06 à 64 μ g/ml) ont des performances jugées équivalentes avec la méthode de référence de microdilution en bouillon (Standard ISO 20776-1) et sont donc recommandées pour déterminer la CMI à la colistine et éventuellement confirmer les résultats obtenus à partir de la méthode utilisée en routine.

Les systèmes automatisés (VITEK2, Phoenix, MicroScan) n'ont pas fait l'objet d'une validation FDA pour tester la colistine. Une étude sur 76 souches Enterobacteriaceae (dont 21 *mcr-1*) rapporte un taux de résultat faussement sensible (VME) de 36% pour Vitek2 et de résultat faussement résistant (ME) de 16% pour MicroScan (Chew et al. JCM 2017). Deux études rapportent des taux de VME de 8% à 15% pour la détection de la résistance à la colistine par le système Phoenix, néanmoins les souches présentant une résistance plasmidique à la colistine de type MCR seraient cependant bien détectées (Poirel et al. CMR 2017, Jayol et al. CMI 2017).

Cette enquête a ainsi révélé qu'environ 2/3 (86/127) des laboratoires participants ont déterminé la sensibilité à la colistine. Il est possible que certains n'ont pas estimé nécessaire vu sa sensibilité à de multiples classes d'antibiotiques. Cependant, une proportion importante (40%) des laboratoires qui ont testé la colistine ont rapporté un résultat S pour cette souche, ce qui démontre une mauvaise performance des méthodes utilisées en routine. Il est à déplorer que 8 labos ont utilisé une méthode de diffusion (E-test ou disques) qui n'est actuellement plus recommandée et deux d'entre eux ont catégorisé erronément cette souche comme S. Par contre, seuls 14 labos (16%) ont utilisé une méthode de microdilution liquide recommandée et qui ont tous catégorisé correctement cette souche comme R. Il est intéressant d'observer que parmi les 53 utilisateurs de Vitek 2, 58% ont répondu faussement S. En revanche, parmi les 11 utilisateurs de Phoenix et 2 de MicroScan qui ont rapporté un résultat pour la colistine, tous ont répondu correctement R. Ces résultats rejoignent donc les performances rapportées pour ces automates dans la littérature décrite plus haut. En l'état, il paraît souhaitable en cas d'utilisation de système automatisé de **confirmer le résultat de la sensibilité à la colistine par une méthode en microdilution liquide (seule technique recommandée) surtout dans les situations où l'usage thérapeutique de la colistine est indiqué.**

Pour information, le laboratoire CNR peut confirmer la résistance à la colistine et la détermination de la CMI par méthode de microdilution en cas de nécessité thérapeutique et peut aussi détecter la résistance plasmidique MCR par PCR (*mcr-1* à *mcr-5*).

TD Daniel Huang

Olivier Denis

CNR des Bacilles Gram-négatifs multirésistants, CHU UCL Namur

Références :

1. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. V2.0. EUCAST July 2017.

2. Göttig S, Gruber TM, Stecher B, Wichelhaus TA, Kempf VA. In vivo horizontal gene transfer of the carbapenemase OXA-48 during a nosocomial outbreak. *Clin Infect Dis*. 2015 Jun 15;60(12):1808-15. doi: 10.1093/cid/civ191. Epub 2015 Mar 10.

Caniaux, I.; van Belkum, A.; Zambardi, G.; Poirel, L.; Gros, M.F. MCR: Modern colistin resistance. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2017, 36, 415–420.

Nang, S.C.; Li, J.; Velkov, T. The rise and spread of *mcr* plasmid-mediated polymyxin resistance. *Crit. Rev. Microbiol*. 2019, 45, 131–161.

Ellis C, Chung C, Tijet N, et al. OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Ottawa, Canada. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;76(3):399–400.

Huang TD, Bogaerts P, Berhin C, et al. Increasing proportion of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and emergence of a MCR-1 producer through a multicentric study among hospital-based and private laboratories in Belgium from September to November 2015. *Euro Surveill*. 2017;22(19):30530.

Yao, X.; Doi, Y.; Zeng, L.; Lv, L.; Liu, J.H. Carbapenem-resistant and colistin-resistant *Escherichia coli* co-producing NDM-9 and MCR-1. *Lancet Infect. Dis*. 2016, 16, 288–289.

Caltagirone, M.; Nucleo, E.; Spalla, M.; Zara, F.; Novazzi, F.; Marchetti, V.M.; Piazza, A.; Bitar, I.; De Cicco, M.; Paolucci, S.; et al. Occurrence of Extended Spectrum-Lactamases, KPC-Type, and

MCR-1.2-Producing Enterobacteriaceae from Wells, River Water, and Wastewater Treatment Plants in Oltrepò Pavese Area, Northern Italy. *Front. Microbiol.* 2017, 8.

Chavda KD, Westblade LF, Satlin MJ, et al. First Report of blaVIM-4- and mcr-9-Coharboring Enterobacter Species Isolated from a Pediatric Patient. *mSphere.* 2019;4(5):e00629-19.

Di Pilato V, Arena F, Tascini C, et al. mcr-1.2, a New mcr Variant Carried on a Transferable Plasmid from a Colistin-Resistant KPC Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strain of Sequence Type 512. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(9):5612–5615.

Elena A, Cejas D, Magariños F, et al. Spread of Clonally Related *Escherichia coli* Strains Harboring an IncA/C1 Plasmid Encoding IMP-8 and Its Recruitment into an Unrelated MCR-1-Containing Isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(6):e02414-17.

Matuschek E, Ahman J, Webster C et al. Antimicrobial susceptibility testing of colistin - evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clin Microbiol Infect* 2018; 24: 865-70.

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org/>.

CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E). http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf.

Chew KL, La MV, Lin RTP et al. Colistin and Polymyxin B Susceptibility Testing for Carbapenem-Resistant and mcr-Positive Enterobacteriaceae: Comparison of Sensititre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with Broth Microdilution. *J Clin Microbiol* 2017; 55: 2609-16.

Pfennigwerth N, Kaminski A, Korte-Berwanger M et al. Evaluation of six commercial products for colistin susceptibility testing in Enterobacterales. *Clin Microbiol Infect* 2019; 25: 1385-9.

2.3. Culture M/16724 *Pseudomonas aeruginosa*

Nous référons aux commentaires des enquêtes précédentes; les trois derniers étaient 2009/3, 2009/2 et 2007/2.

2.4. Culture M/16759 *Burkholderia multivorans*

Burkholderia species sont des bacilles à Gram négatif, aérobies, non sporulant qui ne fermentent pas le glucose. La première espèce de ce genre, *Pseudomonas cepacia*, a été décrite dans les années 40 du siècle précédent comme agent responsable de la pourriture bactérienne des oignons par Walter Burkholder (1).

Depuis lors plus de 70 autres espèces différentes ont été décrites au sein du genre *Burkholderia* dont *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia gladioli* et *Burkholderia cepacia* complex sont considérées comme pathogènes humaines. Ce dernier groupe contient les espèces qui sont surtout importantes chez les patients souffrant de mucoviscidose avec comme plus importantes *B. cenocepacia* et *B. multivorans* (2).

Sur base d'examens génotypiques et épidémiologiques on a pu démontrer que les souches du complexe *B. cepacia* peuvent être transmises entre patients, aussi bien entre les patients atteints de mucoviscidose qu'entre d'autres patients (par exemple les patients intubés dans les services de soins intensifs), et elles peuvent donc être responsables d'épidémies (3).

L'importance de l'isolation du complexe *B. cepacia* chez les patients atteints de mucoviscidose se trouve dans la corrélation avec une exacerbation infectieuse aiguë ou une septicémie (syndrome cepacia) ou un tableau clinique plutôt chronique avec détérioration de la fonction pulmonaire. Les deux sont associées à des morbidités et mortalités augmentées (4,5).

A cause de l'importance d'un tel isolat chez le patient individuel atteint de mucoviscidose et le risque potentiel de transmission il est très important d'envoyer une souche du complexe *B. cepacia* au centre national de référence. Ceci permet également au CNR de suivre l'épidémiologie au sein de la Belgique.

En plus il faut également prêter attention à cette souche dans le cadre de la prévention d'infection, surtout s'il s'agit de patients atteints de mucoviscidose ou de patients intubés. Néanmoins les autres espèces de *Burkholderia* sont souvent des contaminants originaires de l'eau ou du sol.

L'identification au niveau de l'espèce au sein du complexe *B. cepacia* reste un grand défi, comme le prouve les résultats de cette enquête. Il est impossible de distinguer les différentes espèces du complexe à l'aide de tests biochimiques et l'identification fiable du complexe *Burkholderia cepacia* reste un challenge.

Avec le MALDI-TOF MS (aussi bien Bruker que BioMérieux) une identification fiable au niveau du complexe *B. cepacia* est possible (concordance de 100% avec séquençage *recA*) (6). Il est à noter que dans l'enquête 64.7% des participants ont répondu une identification au niveau de *B. multivorans* même si dans la littérature la fiabilité au niveau de l'espèce par MALDI-TOF MS n'est située qu'aux alentours de 80%. Dans ce sens la réponse « *B. multivorans* » n'est pas fautive mais les réponses « *B. cepacia complex* », « *B. cepacia* » et « *B. cepacia* groupe » sont plus correctes.

Les laboratoires ayant répondu *Burkholderia* species n'ont strictement pas fait d'erreur mais une identification approfondie est nécessaire dans ce cas car la distinction entre le complexe cepacia et les autres espèces pathogènes *B. mallei* et *B. pseudomallei* est de la plus grande importance. *B. mallei* et *pseudomallei* causent un tableau clinique complètement différent (respectivement la gourme (une zoonose) et la mélioïdose) et elles sont considérées comme des agents potentiels de bioterrorisme.

Une identification fiable au niveau de l'espèce peut être effectuée avec des techniques moléculaires dont le séquençage d'*hisA* (distinction au sein du complexe *B. cepacia*), *rpsU* et *recA* (19 espèces différentes du genre *Burkholderia*, pas de bonne distinction avec les souches non *Burkholderia*) (6,7).

Références

1. Burkholder WH. Sour skin, a bacterial rot of onion bulbs. *Phytopathology* 1950; 40: 115-117.
2. *Manual of Clinical Microbiology*, 11th Edition, ED. Jorgensen JH et al.
3. LiPuma JJ. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23: 299-323.
4. Isles A et al. *Pseudomonas cepacia* infection in cystic fibrosis: an emerging problem. *J. Pediatr* 1984; 104: 206-210.
5. Liou TG et al. Predictive 5-year survivorship model of cystic fibrosis. 2001; 153: 345-352.
6. Ragupathi NKD et al. Accurate identification and epidemiological characterization of *Burkholderia cepacia* complex: an update. *Annals of Clin Microbiol and Antimicrobials* 2019; 18:7.
7. Vandamme P et al. Occurrence of multiple genomovars of *Burkholderia cepacia* in cystic fibrosis patients and proposal of *Burkholderia multivorans* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 1188-1200.

III. Résultats des identifications

133 laboratoires sur 136 inscrits (97.8%) ont introduit une réponse.

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

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

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

3.1. Culture M/4830 *Enterococcus gallinarum* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Patient de 66 ans souffrant d'endocardite. Six flacons d'hémocultures sont positifs. **Nous vous demandons de traiter l'échantillon comme en routine : répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine.** »

<u><i>Enterococcus gallinarum</i></u>	123	92.5%
<i>Enterococcus faecium</i>	4	
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	
<i>Streptococcus gallinarum</i>	1	
<i>Streptococcus intermedius</i>	1	
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	4
Dans un but épidémiologique	3
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	12
Sous-traité	3
N'est pas envoyé	111
Total	133

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 11 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 18 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique et 8 laboratoires que la souche a un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière.

3.2. Culture M/16723 *Escherichia coli* (frottis de plaie)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Frottis de plaie d'escarre sacrée chronique de décubitus chez un patient de 40 ans paraplégique.

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

<i>Escherichia coli</i>	128	96.2%
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	
Absence de pathogènes	1	
Les écouvillons des plaies de décubitus ne sont pas traités au labo	1	
Sous-traité	2	

Le laboratoire qui a répondu *B. cepacia*, a probablement inversé 3 échantillons: pour l'échantillon M/16724 ce laboratoire a répondu *E. coli* et pour l'échantillon M/16759 *P. aeruginosa*.

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 précisée	1
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	27
Dans un but épidémiologique	13
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	30
Sous-traité	2
N'est pas envoyé	60
Total	133

¹ Sept laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme: 6 pour la confirmation/recherche d'une carbapénémase, 1 à cause du profil multirésistant de la souche.

² Dix laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme dont 3 ont mentionné explicitement la confirmation/recherche d'une carbapénémase et 5 la détermination de la sensibilité à la colistine.

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 79 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 7 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique et 25 laboratoires que la souche a un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière.

3.3. Culture 16724 (*Pseudomonas aeruginosa* (hémoculture))

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Hémoculture positive chez un patient de 50 ans intubé sous ventilation mécanique dans une unité de soins intensifs et qui développe un choc septique avec détresse respiratoire.

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

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	129	97.0%
<i>Escherichia coli</i>	1	
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 + autre raison non précisée	3
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	23
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	39
Dans un but épidémiologique	17
Sous-traité	3
N'est pas envoyé	48
Total	133

¹ Cinq laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme dont 1 a mentionné explicitement la confirmation du VIM et 3 ont mentionné explicitement la confirmation/recherche d'une carbapénémase.

² Douze laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme dont 2 ont mentionné explicitement la confirmation du VIM, 3 la confirmation/recherche d'une carbapénémase, 1 la détermination de la sensibilité à la colistine et 5 la confirmation du profil multirésistant de la souche.

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 76 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 4 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique et 30 laboratoires que la souche a un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière.

3.4. Culture M/16759 *Burkholderia multivorans* (liquide LBA)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Détérioration de la fonction pulmonaire chez un patient de 22 ans souffrant de mucoviscidose.

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

<i>Burkholderia multivorans</i>	86	64.7%
<i>Burkholderia cepacia</i> complexe	12	9.0%
<i>Burkholderia cepacia</i> groupe	2	1.5%
<i>Burkholderia cepacia</i>	22	16.5%
<i>Burkholderia</i> species	2	
<i>Burkholderia multivorans</i> + <i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	
<i>Corynebacterium</i> species	1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	
Présence de commensales	1	
Bacilles à Gram négatif	1	
Sous-traité	1	

* réponse non acceptée car les laboratoires n'ont pas mentionné d'envoyer la souche en routine pour une plus ample identification

Sept laboratoires qui ont répondu *B. multivorans*, ont mentionné que ce germe appartient au complexe *B. cepacia*. Le laboratoire qui a répondu « Bacilles à Gram négatif », a mentionné que sur base de quelques tests biochimiques on peut supposer qu'il s'agit d'un *B. cepacia*.

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	7
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	34
Sous-traité	1
N'est pas envoyé	79
Total	133

¹ Un laboratoire a mentionné explicitement la surveillance des patients souffrant de mucoviscidose.

² Deux laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme

A la question de savoir l'intérêt de la souche, 13 laboratoires ont répondu que la souche a aussi bien un intérêt épidémiologique qu'un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière. 22 laboratoires ont répondu que la souche a un intérêt épidémiologique et 20 laboratoires que la souche a un intérêt d'un point de vue de l'hygiène hospitalière.

IV. Antibiogramme

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

L'antibiogramme type a été établi sur base des résultats des différents experts et du centre de référence.

Pour l'échantillon M/16723, 5 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme: les 2 laboratoires qui ont mentionné qu'ils sous-traitent ce type d'échantillon, le laboratoire qui ne traite pas des écouvillons des plaies de décubitus et 2 laboratoires qui ont pas mentionné ne pas effectuer d'antibiogramme sur ce type d'échantillon. Le laboratoire qui a répondu « absence de pathogènes » a bien effectué un antibiogramme. Pour l'échantillon M/16724 6 laboratoires n'ont pas effectué d'antibiogramme: les 3 laboratoires qui ont mentionné qu'ils sous-traitent ce type d'échantillon, un laboratoire qui a mentionné de ne pas effectuer d'antibiogramme pour *P. aeruginosa* et 2 laboratoires qui n'ont pas mentionné la raison pour laquelle ils n'ont pas effectué d'antibiogramme pour cet échantillon.

4.1. Culture M/16723 (*Escherichia coli*)

La souche était porteuse d'une carbapénèmase OXA-48 confirmés par le centre de référence.

Un certain nombre de laboratoires ont agrémenté leur réponse d'une remarque: 59% des labos (75/128) signalent suspicion de CPE.

- 53 labos: (suspicion de) OXA-48 (ou OXA-48 like)
- 9 labos: OXA-48, BLSE négatif
- 2 labos: OXA-48, BLSE positif
- 9 labos: (suspicion de) carbapénèmase
- 2 labos: (suspicion de) carbapénèmase, BLSE négatif
- 1 labo: carbapénèmase négatif
- 2 labos: carbapénèmase et BLSE négatifs

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 si le laboratoire l'a indiqué différemment.

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Ampicilline	R	125	-	-	125	4
Amoxicilline-acide clavulanique	R	127	-	-	127	-
Pipéracilline-tazobactam	R	122	-	1	121	7
Témocilline	R	116	-	-	116	18
Céfuroxime	S	125	77	6	42	6
Céfotaxime	S	102	68	2	32	18
Ceftazidime	S	126	95	2	29	22
Ceftriaxone ¹		7	7	-	-	1
Céfépime	S	117	88	2	27	28
Ertapénem	R	99	2	4	93	59
Méropénem	S/I	124	71	43	10	11
Imipénem ²		1	-	1	-	-
Ciprofloxacine	R	120	1	-	119	8
Lévofloxacine ³		6	-	-	6	-
Gentamicine	R	112	-	-	112	22
Amikacine	S	122	121	1	-	11
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	S	124	123	-	1	3
Colistine	R	86	34	-	52	49

¹ Sept laboratoires ont déterminé la sensibilité à la ceftazidime et à la ceftriaxone.

² Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ertapénem, au méropénem et à l'imipénem.

³ Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la lévofloxacine et à la ciprofloxacine; trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la lévofloxacine au lieu de la ciprofloxacine.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.8. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

Les résultats et les diamètres obtenus par les laboratoires qui utilisent les disques en papier sont repris dans le tableau suivant. Les laboratoires qui ne mentionnent pas la charge utilisée ou qui n'utilisent pas la charge appropriée ne sont pas repris dans ce tableau.

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
					S	I	R
Ampicilline	31 (33)	10	6	5 – 7	-	-	33
Amoxicilline-acide clavulanique	32 (32)	20 + 10	6	5 – 8	-	-	32
Pipéracilline-tazobactam ¹	(33)				-	1	32
	27	30 + 6	12	6 – 16	-	1	26
	5	100 + 10	13	13 – 16	-	-	5
Témocilline	27 (28)	30	6	6 – 12	-	-	28
Céfuroxime	31 (31)	30	21	17 – 26	25	3	3
Céfotaxime ²	(22)				19	1	2
	5	16	22	20 – 27	15	1	-
	30	6	27	22 – 30	4	-	2
Ceftazidime ³	(31)				29	1	1
	26	10	28	22 - 34	24	1	1
	5	30	29	26 – 31	5	-	-
Ceftriaxone	2 (2)	30	28.5	27 – 30	2	-	-
Céfépime	25 (25)	30	30	26 – 34	24	1	-
Ertapénem	15 (15)	10	17	14 – 23	14	1	-
Méropénem	32 (32)	10	21	16 – 26	12	16	4
Imipénem	1 (1)	10	18	-	-	1	-
Ciprofloxacine	28 (28)	5	6	5 – 7	1	-	27
Lévofloxacine	3 (3)	5	6	6 – 6	-	-	3
Gentamicine	22 (23)	10	6	5 – 9	-	-	23
Amikacine	30 (30)	30	23	18 – 27	30	-	-
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	32 (32)	1.25 + 23.75	22	18 – 26	31	-	1
Colistine	3 (3)	10	13	11 – 13	-	-	3

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 30 + 6 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI utilisent des charges de 100 + 10 µg.

² Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 5 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI utilisent des charges de 30 µg (avec une exception: 1 laboratoire qui a mentionné suivre les directives d'EUCAST a mentionné l'utilisation d'une charge de 30 µg).

³ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 10 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI utilisent des charges de 30 µg.

Les résultats et les diamètres obtenus par les laboratoires qui utilisent les disques Neosensitabs sont repris dans le tableau suivant. Les laboratoires qui ne mentionnent pas la charge utilisée ou qui n'utilisent pas la charge appropriée ne sont pas repris dans ce tableau.

Tableau 4.1.3. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
					S	I	R
Ampicilline	7 (8) ¹	10	10	9 – 10	-	-	8
Amoxicilline-acide clavulanique	10 (11) ¹	20 + 10	9	² 9 – 10	-	-	11
Pipéracilline-tazobactam ²	(10)				-	-	10
	5	30 + 6	13	12 – 15	-	-	5
	4	100 + 10	14	12 – 18	-	-	4
Témocilline	9 (10) ¹	10	10	9 – 10	-	-	10
Céfuroxime	10 (10)	30	18	14 – 21	2	2	6
Céfotaxime	4 (5)	5	22	21 – 22	4	-	1
Ceftazidime ²	(9)				5	-	4
	6	10	27	24 – 28	3	-	3
	3	30	27	27 – 30	2	-	1
Céfépime	5 (5)	30	28	24 – 30	3	-	2
Ertapénem	2 (2)	10	18.5	18 – 19	-	1	1
Méropénem	11 (11)	10	22	20 – 26	7	4	-
Ciprofloxacine	5 (6) ¹	5	9	9 – 10	-	-	6
Lévofloxacine	2 (2)	5	9.5	9 – 10	-	-	2
Gentamicine	4 (5) ¹	10	10	9 – 10	-	-	5
Amikacine	9 (9)	30	22	16 – 24	8	1	-
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	9 (9)	1.25 + 23.75	23	20 – 24	9	-	-

¹ Pour chacun de ces antibiotiques un laboratoire a mentionné un diamètre égal à 0.

² Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 30 + 6 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI ou des Neosensitabs utilisent des charges de 100 + 10 µg (et 1 laboratoire qui suit les directives d'EUCAST).

³ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 10 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI ou des Neosensitabs utilisent des charges de 30 µg.

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

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Ampicilline	1	1 x R	≥ 256 mg/L
Témocilline	6	1 x S	4 mg/L
		5 x R	48 mg/L; 3 x 256 mg/L; 512 mg/L
Céfuroxime	1	1 x S	8 mg/L
Céfotaxime	1	1 x S	0.38 mg/L
Ceftazidime	2	2 x S	2 x 0.094 mg/L
Céfépime	2	2 x S	2 x 0.38 mg/L
Ertapénem	2	1 x S	0.38 mg/L
		1 x R	0.5 mg/L
Méropénem	17	12 x S	2 x 0.19 mg/L; 4 x 0.25 mg/L; 2 x 0.38 mg/L; 0.5 mg/L; 0.75 mg/L; 2 x 1 mg/L
		3 x I	2 x 0.38 mg/L; 0.75 mg/L
		2 x R	0.25 mg/L; 0.5 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x R	>32 mg/L
Colistine	5	2 x S	1.5 mg/L; 2 mg/L
		3 x R	2 x 3 mg/L; 4 mg/L

Un laboratoire a utilisé le M.I.C. Evaluator pour la détermination de la sensibilité au méropénem (« R »; >32 mg/L).

Les résultats obtenus avec le MIC test Strip sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec le MIC Test Strip pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Céfuroxime	1	1 x S	8 mg/L
Ertapénem	1	1 x R	1.5 mg/L
Méropénem	5	5 x S	0.05 mg/L; 0.38 mg/L; 1 mg/L; 2 x 1.5 mg/L
Imipénem	1	1 x I	3 mg/L
Colistine	1	1 x S	2 mg/L

Trois laboratoires ont utilisé la méthode UMIC pour la détermination de la sensibilité à la colistine (3 x « R »; valeurs de CMI respectives: 2 x 4 mg/L et 1 x 16 mg/L).

Un laboratoire a utilisé la méthode Sensititre pour la détermination de la sensibilité avec comme résultats : « R » pour l'amoxicilline-acide clavulanique (>64 mg/L), la pipéracilline-tazobactam (32 mg/L), la ciprofloxacine (>2 mg/L), la gentamicine (>8 mg/L) et la colistine (8 mg/L) et « S » pour la céfotaxime (<0.5 mg/L), la ceftazidime (<0.5 mg/L), la céfépime (0.125 mg/L), le méropénem (0.5 mg/L), l'amikacine (<4 mg/L) et le triméthoprime-sulfaméthoxazole (<1/19 mg/L).

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

Tableau 4.1.6. Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Ampicilline	-	-	55	≥32	52 (55)	-	-	23	≥32	22 (23)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	55	≥32	52 (55)	-	-	23	≥32	22 (23)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	53	≥128	49 (53)	-	-	21	≥128	20 (21)
Témocilline	-	-	52	≥32	49 (52)	-	-	22	≥32	21 (22)
Céfuroxime	29	1	24	≤4	52 (54)	12	1	11	≤4	23 (24)
Céfotaxime	33	1	20	≤0.25	20 (54)	14	-	9	0.25	11 (23)
Ceftazidime	35	1	18	≤0.12	52 (54)	14	-	9	≤0.12	23 (23)
Céfépime	35	1	18	0.5	27 (54)	15	-	8	0.5	12 (23)
Ertapénem	-	-	50	2	50 (50)	-	3	18	2	18 (21)
Méropénem	28	19	3	1	26 (50)	8	1	11	1	8 (20)
Ciprofloxacine	-	-	52	≥4	49 (52)	-	-	23	≥4	21 (23)
Lévofloxacine	-	-	-	-	-	-	-	1	≥8	1 (1)
Gentamicine	-	-	53	≥16	49 (53)	-	-	23	≥16	22 (23)
Amikacine	54	-	-	≤2	54 (54)	23	-	-	≤2	23 (23)
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	54	-	-	≤20	53 (54)	24	-	-	≤20	24 (24)
Colistine	22	-	15	2	22 (37)	9	-	7	2	8 (16)

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 l'ampicilline 3 laboratoires ont mentionné une CMI ≥16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥16 mg/L
- pour l'amoxicilline-acide clavulanique 3 laboratoires ont mentionné une CMI >16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI de 16 mg/L
- pour la pipéracilline-tazobactam 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥32 mg/L et 3 laboratoires une CMI >64 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI >64 mg/L
- pour la témocilline 3 laboratoires ont mentionné une CMI >16 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥16 mg/L
- pour la céfuroxime 1 laboratoire a mentionné une CMI 16 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 40 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥3 mg/L
- pour la céfotaxime 17 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L, 13 laboratoires une CMI de 1 mg/L, 1 laboratoire une CMI de 4 mg/L et 3 laboratoires une CMI de 8 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L, 5 laboratoires une CMI de 1 mg/L, 1 1 laboratoire une CMI de 2 mg/L et 3 laboratoires une CMI de 8 mg/L
- pour la ceftazidime 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.125 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.25 mg/L
- pour la céfépime 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.012 mg/L, 13 laboratoires une CMI ≤0.12 mg/L et 13 laboratoires une CMI de 0.25 mg/L

- pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 4 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.12 mg/L et 7 laboratoires une CMI de 0.25 mg/L
- pour l'ertapénem 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 mg/L pour le Vitek 2 compact
 - pour le méropénem 3 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.25 mg/L, 15 laboratoires une CMI de 0.5 mg/L et 6 laboratoires une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.19 mg/L, 3 laboratoires une CMI ≤ 0.25 mg/L, 3 laboratoires une CMI de 0.5 mg/L et 5 laboratoires une CMI de 2 mg/L
 - pour la ciprofloxacine 3 laboratoires ont mentionné une CMI > 2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI > 2 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≥ 8 mg/L
 - pour la gentamicine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥ 4 mg/L et 3 laboratoires une CMI > 8 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI > 8 mg/L
 - pour le triméthoprim-sulfaméthoxazole 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 1 mg/L pour le Vitek 2
 - pour la colistine 14 laboratoires ont mentionné une CMI de 4 mg/L et 5 laboratoires une CMI de 4 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI de 1 mg/L, 5 laboratoires une CMI de 4 mg/L et 2 laboratoires une CMI 8 mg/L.

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

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	-	-	17	≥8	17 (17)
Amoxicilline-acide clavulanique	-	-	17	≥32/2	17 (17)
Pipéracilline-tazobactam	-	-	17	≥16/4	12 (17)
Témocilline	-	-	17	>32	17 (17)
Céfuroxime	14	-	3	4	13 (17)
Céfotaxime	1	-	-	≤1	1 (1)
Ceftazidime	15	-	1	≤1	11 (16)
Ceftriaxone	-	-	5	≤0.5	4 (5)
Céfépime	16	-	1	≤1	16 (17)
Ertapénem	-	-	14	≥1	14 (14)
Méropénem	14	2	-	0.5	9 (16)
Ciprofloxacine	-	-	17	>1	17 (17)
Lévofloxacine	-	-	1	>2	1 (1)
Gentamicine	-	-	16	>4	16 (16)
Amikacine	17	-	-	≤4	17 (17)
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	16	-	-	≤1/19	16 (16)
Colistine	-	-	11	4	9 (11)

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 pipéracilline-tazobactam 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≥32/4 mg/L et 3 laboratoires une CMI ≥64/4 mg/L
- pour la céfuroxime 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 8 mg/L et 1 laboratoire une CMI >8 mg/L
- pour la ceftazidime 5 laboratoires ont mentionné une CMI ≤0.5 mg/L
- pour la ceftriaxone 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤1 mg/L
- pour la céfépime 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.5 mg/L
- pour le méropénem 7 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 mg/L
- pour la colistine 2 laboratoires ont mentionné une CMI >2 mg/L

Un laboratoire a utilisé la méthode ATB pour la détermination de la sensibilité à l'ampicilline, à l'amoxicilline-acide clavulanique, à la pipéracilline-tazobactam, à la ciprofloxacine, à la gentamicine (tous « R »), à la ceftazidime, à la céfotaxime, à la céfépime, à l'amikacine et au triméthoprim-sulfaméthoxazole (tous « S »).

Deux laboratoires ont utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité : un laboratoire pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la pipéracilline-tazobactam, la céfuroxime, la céfotaxime (tous « R ») et la ceftazidime (« S »). L'autre laboratoire pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la pipéracilline-tazobactam, la ciprofloxacine, la colistine (tous « R »), la céfuroxime, la ceftazidime, la céfotaxime, la céfépime, l'ertapénem, le méropénem, l'amikacine et la triméthoprim-sulfaméthoxazole (tous « S »).

Deux laboratoires ont utilisé la méthode Micronaut pour la détermination de la sensibilité à la colistine (tous les 2 « R »).

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

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec la microdilution pour l'échantillon M/16723 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Ampicilline	1	1 x R	>64 mg/L
Amoxicilline-acide clavulanique	2	2 x R	>32 mg/L; >64 mg/L
Pipéracilline-tazobactam	4	4 x R	2 x >32 mg/L; 64 mg/L; 128 mg/L
Témocilline	3	3 X R	>32 mg/L; >64 mg/L; >128 mg/L
Céfotaxime	3	3 x S	≤0.25 mg/L; 2 x ≤0.5 mg/L
Ceftazidime	6	6 x S	≤0.2 mg/L; 0.25 mg/L; 3 x ≤0.5 mg/L; 1 mg/L
Céfépime	3	3 x S	≤0.2 mg/L; 0.5 mg/L; 1 mg/L
Ertapénem	3	1 x I 2 x R	1 mg/L 1 mg/L; 2 mg/L
Méropénem	7	5 x S 2 x I	0.25 mg/L; 3 x 0.5 mg/L; 2 mg/L 2 x 0.5 mg/L
Ciprofloxacine	5	5 x R	>2 mg/L; 2 x >8 mg/L; 2 x >16mg/L
Gentamicine	3	3 x R	>8 mg/L ; 2 x 32 mg/L
Amikacine	4	4 x S	≤2 mg/L; 2 x ≤4 mg/L; 8 mg/L
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	3	3 x S	3 x >1 mg/L
Colistine	8	8 x R	4 x 4 mg/L; 4 x 8 mg/L

Il reste à mentionner que 2 laboratoires ont mentionné explicitement que l'échantillon est envoyé pour la détermination de la sensibilité à la colistine.

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

- La pipéracilline-tazobactam
 - I→R
 - Disques Neosensitabs 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques)
- La céfuroxime
 - S→I
 - Disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - S→R
 - Disques en papier: 2 labos (dont 1 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Disques Neosensitabs 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 21 labos (dont 2 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 9 labos (dont 3 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 1 labo
 - I→R
 - Disques Neosensitabs 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 1 labo
 - Vitek 2 compact: 2 labos
- La céfotaxime
 - S→I
 - Disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - S→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Disques Neosensitabs 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques)

- Vitek 2: 17 labos
 - Vitek 2 compact: 5 labos
- R→S
 - Vitek 2: 1 labo
- Ceftazidime
 - S→I
 - Disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - S→R
 - Disques en papier: 1 labo
 - Disques Neosensitabs 4 labos (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 18 labos (dont 2 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 9 labos (dont 2 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 1 labo
- La céfépime
 - S→I
 - Disques en papier: 1 labo
 - Vitek 2: 1 labo
 - S→R
 - Disques Neosensitabs 2 labos (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 18 labos (dont 2 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 7 labos (dont 1 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 1 labo
 - I→R
 - Vitek 2 compact: 1 labo
- L'ertapénem
 - S→I
 - Vitek 2 compact: 1 labo
 - S→R
 - E-test: 1 labo
- Le méropénem
 - S→I
 - Disques en papier: 2 labos (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Disques Neosensitabs 3 labos (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - E-test: 3 labos (dont 2 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2: 19 labos (dont 6 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Vitek 2 compact: 9 labos (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Phoenix: 2 labos (dont 1 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - Microdilution: 2 labos (également sur base des résultats d'autres techniques)
 - S→R

- E-test: 2 labos (dont 1 également sur base des résultats d'autres techniques)
- Vitek 2 compact: 1 labo
- I→R
 - Disques en papier: 2 labos
 - Vitek 2: 19 labos (dont 2 également sur base des résultats d'autres techniques)
- I→S
 - Disques en papier: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques).

4.2. Culture M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*)

La souche était porteuse d'une carbapénèmase VIM confirmé par le centre de référence. Un certain nombre de laboratoires ont agrémenté leur réponse d'une remarque:

- 37 labos: (suspicion de) VIM
- 1 labo: VIM ou IMP
- 13 labos: (suspicion de) carbapénèmase

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 si le laboratoire l'a indiqué différemment.

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	Pas en routine
Pipéracilline-tazobactam	R	126	-	7	119	5
Ceftazidime	R	127	2	-	125	2
Céfépime	R	119	-	4	115	21
Méropénem	R	128	1	-	127	7
Imipénem ¹		2	-	-	2	-
Aztréonam	S	72	42	17	13	18
Ciprofloxacine	R	124	-	-	124	6
Lévofloxacine ²		4	-	-	4	-
Gentamicine	R	112	14	1	97	20
Amikacine	R	120	-	-	120	8
Tobramycine ³		2	-	-	2	-
Colistine	S/borderline R	93	85	-	8	31

¹ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité au méropénem et à l'imipénem.

² Trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la lévofloxacine et à la ciprofloxacine; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la lévofloxacine au lieu de la ciprofloxacine.

³ Un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine, à l'amikacine et à la tobramycine; un laboratoire a déterminé la sensibilité à la gentamicine et à la tobramycine.

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

Les résultats et les diamètres obtenus par les laboratoires qui utilisent les disques en papier sont repris dans le tableau suivant. Les laboratoires qui ne mentionnent pas la charge utilisée ou qui n'utilisent pas la charge appropriée ne sont pas repris dans ce tableau.

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam ¹	(50)				-	6	44
	42	306 + 6	7	5 – 12	-	-	42
	8	100 + 10	15	11 – 18	-	6	2
Ceftazidime ²	(49)				2	-	47
	41	10	7	5 – 14	-	-	41
	8	30	14	14 – 19	2	-	6
Céfépime	42 (42)	30	14	10 – 17	-	4	38
Méropénem	49 (49)	10	6	5 – 10	-	-	49
Aztréonam	39 (40)	30	22	18 – 28	33	6	1
Ciprofloxacine	48 (48)	5	6	5 – 9	-	-	48
Gentamicine	40 (41)	10	11	6 – 15	3	1	37
Amikacine	46 (46)	30	6	5 – 9	-	-	46
Tobramycine	1 (1)	10	6	-	-	-	1
Colistine	6 (6)	10	15	6 – 16	5	-	1

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 30 + 6 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI utilisent des charges de 100 + 10 µg.

² Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 10 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI utilisent des charges de 30 µg.

Les résultats et les diamètres obtenus par les laboratoires qui utilisent les disques Neosensitabs sont repris dans le tableau suivant. Les laboratoires qui ne mentionnent pas la charge utilisée ou qui n'utilisent pas la charge appropriée ne sont pas repris dans ce tableau.

Tableau 4.2.3. Résultats obtenus avec les disques Neosensitabs pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Pipéracilline-tazobactam ¹	(10)				1	-	9
	5 ²	30 + 6	10	10 – 19	1	-	5
	4	100 + 10	12	10 – 16	-	-	4
Ceftazidime ³	(9)				-	-	9
	5 ²	10	10	9 – 10	-	-	6
	3	30	11	10 – 12	-	-	3
Céfépime	5 (5)	30	12	9 – 17	-	-	5
Méropénem	8 (9) ²	10	9	9 – 10	-	-	9
Aztréonam	3 (3)	30	22	19 – 22	1	2	-
Ciprofloxacine	5 (6) ²	5	9	9 – 10	-	-	6
Lévofloxacine	2 (2)	5	9.5	9 – 10	-	-	2
Gentamicine	4 (4)	10	12	9 – 13	-	-	4
Amikacine	8 (9) ²	30	9	9 – 10	-	-	9
Colistine	3 (3)	10	15	14 – 16	3	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 30 + 6 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI ou des Neosensitabs utilisent des charges de 100 + 10 µg.

² Pour chacun de ces antibiotiques un laboratoire a mentionné un diamètre égal à 0.

³ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes: les laboratoires qui suivent les directives d'EUCAST utilisent des charges de 10 µg et les laboratoires qui suivent les directives du CLSI ou des Neosensitabs utilisent des charges de 30 µg

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

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Céfépime	1	1 x R	48 mg/L
Méropénem	9	1 x S 8 x R	<0.002 mg/L 8 x ≥32 mg/L
Aztréonam	1	1 x S	8 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x R	>32 mg/L
Gentamicine	1	1 x R	16 mg/L
Colistine	8	8 x S	0.19 mg/L; 0.25 mg/L; 0.38 mg/L; 0.75 mg/L; 3 x 1.5 mg/L; ≤2 mg/L

Un laboratoire a utilisé le MIC strip pour la détermination de la sensibilité à la colistine (« S »; 1 mg/L).

Les résultats obtenus avec le « MIC Test Strip » sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec le « MIC Test Strip » pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Ceftazidime	1	1 x R	>256 mg/L
Méropénem	1	1 x R	>32 mg/L
Aztréonam	1	1 x S	16 mg/L
Colistine	4	3 x S 1 x R	2 x 0.5 mg/L; 2 mg/L 3 mg/L

Un laboratoire a utilisé la méthode UMIC pour la détermination de la sensibilité à la pipéracilline-tazobactam (« R », 64 mg/L). Trois laboratoires ont utilisé la méthode UMIC pour la détermination de la sensibilité à la colistine (3 x « S »; valeurs de CMI respectives: 1 x 0.5 mg/L et 2 x 2 mg/L).

Un laboratoire a utilisé la méthode Sensititre pour la détermination de la sensibilité avec comme résultats: « R » pour la pipéracilline-tazobactam (>32 mg/L), la ceftazidime (>16 mg/L), la céfépime (24 mg/L), le méropénem (>16 mg/L), la ciprofloxacine (>2 mg/L) et l'amikacine (>32 mg/L) et « S » pour l'aztréonam 4 mg/L) et la gentamicine (>4 mg/L).

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

Tableau 4.2.6. Résultats obtenus avec le Vitek pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Pipéracilline-tazobactam	-	-	42	≥128	39 (42)	-	-	22	≥128	20 (22)
Ceftazidime	-	-	43	16	36 (43)	-	-	23	16	15 (23)
Céfépime	-	-	42	≥16	28 (42)	-	-	23	≥16	15 (23)
Méropénem	-	-	43	≥16	40 (43)	-	-	20	≥16	19 (20)
Imipénem	-	-	-	-	-	-	-	2	≥16	2 (2)
Aztréonam	5	4	6	16	14 (15)	1	2	6	16	8 (9)
Ciprofloxacine	-	-	42	≥4	39 (42)	-	-	22	≥4	21 (22)
Lévofloxacine	-	-	-	-	-	-	-	2	≥8	2 (2)
Gentamicine	-	-	41	8	41 (41)	-	-	22	≥8	22 (22)
Amikacine	-	-	41	≥64	38 (41)	-	-	22	≥64	20 (22)
Tobramycine	-	-	1	≥16	1 (1)	-	-	1	≥16	1 (1)
Colistine	33	-	-	≤0.5	30 (33)	17	-	-	≤0.5	15 (17)

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 pipéracilline-tazobactam 3 laboratoires ont mentionné une CMI >64 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI >4 et 1 laboratoire une CMI >64 mg/L
- pour la ceftazidime 4 laboratoires ont mentionné une CMI de 32 mg/L et 3 laboratoires une CMI ≥64 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 6 laboratoires ont mentionné une CMI de 32 mg/L et 2 laboratoires une CMI ≥64 mg/L
- pour la céfépime 14 laboratoires ont mentionné une CMI ≥32 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 8 laboratoires ont mentionné une CMI ≥32 mg/L
- pour le méropénem 3 laboratoires ont mentionné une CMI >8 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥32 mg/L
- pour l'aztréonam 1 laboratoire a mentionné une CMI de 8 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥16 mg/L
- pour la ciprofloxacine 3 laboratoires ont mentionné une CMI >2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI >2 mg/L
- pour l'amikacine 3 laboratoires ont mentionné une CMI >32 mg/L pour le Vitek 2 ; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥16 mg/L et 1 laboratoire une CMI >32 mg/L
- pour la colistine 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 mg/L et 1 laboratoire une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 2 laboratoires ont mentionné une CMI de 2 mg/L

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

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat final			Valeur de CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labos ayant mentionné cette valeur de CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pipéracilline-tazobactam	-	-	18	≥16/4	11 (18)
Ceftazidime	-	-	18	>8	16 (18)
Céfépime	-	-	18	>8	11 (18)
Méropénem	-	-	18	>8	18 (18)
Aztréonam	3	4	-	16	6 (7)
Ciprofloxacine	-	-	17	≥1	17 (17)
Lévofloxacine	-	-	1	>2	1 (1)
Gentamicine	10	-	6	4	9 (16)
Amikacine	-	-	17	≥16	17 (17)
Colistine	10	-	-	≤1	10 (10)

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 pipéracilline-tazobactam 7 laboratoires ont mentionné une CMI de 32/4 mg/L
- pour la ceftazidime 2 laboratoires ont mentionné une CMI >16 mg/L
- pour la céfépime 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≥16 mg/L
- pour l'aztréonam 1 laboratoire a mentionné une CMI de 8 mg/L
- pour la gentamicine laboratoire a mentionné une CMI de >2 mg/L et 6 laboratoires une CMI >4 mg/L (il s'agit des 6 laboratoires qui ont répondu « R »)

Un laboratoire a utilisé l'appareil Microscan pour la détermination de la sensibilité à la ceftazidime, à la céfépime, au méropénem, à la ciprofloxacine, à l'amikacine (tous « R »), à la pipéracilline-tazobactam (« I ») et à la colistine (« S »).

Quatre laboratoires ont utilisé la méthode Micronaut pour la détermination de la sensibilité à la colistine (tous « S »).

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

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec la microdilution pour l'échantillon M/16724 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultat	Valeur de CMI (mg/L)
Pipéracilline-tazobactam	6	6 x R	4 x >32 mg/L, >64 mg/L; 128 mg/L
Ceftazidime	5	5 x R	3 x ≥16 mg/L; >32 mg/L; 64 mg/L
Céfépime	3	3 x R	16 mg/L; 2 x 32 mg/L
Méropénem	7	7 x R	5 x 16 mg/L : >32 mg/L ; 64 mg/L
Aztréonam	9	8 x S 2 x I	4 x 8 mg/L; 4 x 16mg/L 8 mg/L
Ciprofloxacine	5	5 x R	2 x >2 mg/L; 8 mg/L; 2 x >16mg/L
Gentamicine	2	1 x S 1 x R	4 mg/L 8 mg/L
Amikacine	5	5 x R	4 x ≥32 mg/L; 64 mg/L
Colistine	11	4 x S 7 R	0.5 mg/L; 3 x 2 mg/L 6 x 4 mg/L; >8 mg/L

Il reste à mentionner qu'un laboratoire a mentionné explicitement que l'échantillon est envoyé pour la détermination de la sensibilité à l'aztréonam et à la colistine.

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

- L'aztréonam
 - S→I
 - Disques en papier: 1 labo
 - S→R
 - Vitek 2: 1 labo
 - I→R
 - Vitek 2: 2 labos
 - Vitek 2 compact: 4 labos (dont 1 également sur base des résultats d'autres techniques)
 - I→S
 - Vitek 2: 1 labo (également sur base des résultats d'autres techniques)
- La gentamicine
 - S→R
 - Disques en papier: 1 labo

V. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

A l'occasion de cette enquête 2 échantillons de selles ont été envoyés.
122 laboratoires sur 127 inscrits (soit 96.1%) ont introduit leurs résultats.

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

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/16534

Un homme de 44 ans est de retour d'un voyage dans le Sud-Est de l'Asie depuis 2 mois. Il se plaint maintenant de fatigue. Etant donné ses antécédents de voyage on demande un examen parasitaire des selles

P/16535

Une femme de 48 ans est de retour d'un voyage en Egypte depuis 3 mois.
Elle mentionne maintenant avoir trouvé des "vers" dans ses sous-vêtements.
Le clinicien demande un examen parasitaire des selles.

L'échantillon P/16534 contenait des œufs de *Diphyllobotrium latum*

L'échantillon P/16535 contenait des œufs de *Taenia* species.

Ces réponses comprennent les parasites que tous les laboratoires auraient dû retrouver. Il est cependant possible qu'un aliquot contienne encore d'autres parasites. L'échantillon P/16535 contenait également *Enterobius vermicularis* en faible concentration (ce qui explique pourquoi tous les laboratoires ne l'ont pas retrouvé).

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/16534

Les 122 laboratoires ont fourni 139 réponses. 106 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 15 laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites et 1 laboratoire la présence de 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/16534

Résultat	Nombre
<i>Diphyllobotrium latum</i>	84
<i>Diphyllobotrium species</i>	29
<i>Fasciolopsis buski</i>	4
<i>Fasciola hepatica</i>	2
<i>Fasciola species</i>	1
<i>Paragonimus westermani</i>	3
<i>Clonorchis sinensis</i>	1
<i>Ancylostomatoidea</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i>	13
<i>Endolimax nana</i>	1
Total	139

Les combinaisons de parasites répondues par les laboratoires sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.2. Combinaisons de parasites répondues pour l'échantillons P/16534

N parasites	Réponses	N labos
1 parasite		
	<i>Diphyllobotrium latum</i>	78
	<i>Diphyllobotrium species</i>	20
	<i>Fasciolopsis buski</i>	3
	<i>Fasciola species</i>	1
	<i>Paragonimus westermani</i>	3
	<i>Clonorchis sinensis</i>	1
2 parasites		
	<i>Diphyllobotrium latum</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	5
	<i>Diphyllobotrium species</i> + <i>Blastocystis hominis</i>	7
	<i>Diphyllobotrium species</i> + <i>Fasciola hepatica</i>	1
	<i>Diphyllobotrium species</i> + <i>Ancylostomatoidea</i>	1
	<i>Fasciola hepatica</i> + <i>Fasciolopsis buski</i>	1
3 parasites		
	<i>Diphyllobotrium latum</i> + <i>Blastocystis hominis</i> + <i>Endolimax nana</i>	1
	Total	122

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour respectivement *Diphyllobotrium latum* et *Diphyllobotrium species* sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 5.2.3. Stades d'évolution de *Diphyllobotrium latum* pour l'échantillon P/16534

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Œuf	82
Œuf fécondé	1
Œuf non-fécondé	1
Total	84

Tableau 5.2.4. Stades d'évolution de *Diphyllobotrium species* pour l'échantillon P/16534

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Œuf	27
Kyste	1
Forme adulte	1
Total	29

27 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour confirmation de l'identification. 13 d'entre eux ont répondu *Diphyllobotrium latum*, 1 « *Diphyllobotrium latum* + *Blastocystis hominis* », 7 *Diphyllobotrium species*, 2 « *Diphyllobotrium species* + *Blastocystis hominis* », 1 *Fasciolopsis buski*, 2 *Paragonimus westermani* et 1 *Clonorchis sinensis*.

5.3. Les résultats pour l'échantillon P/16535

Les 122 laboratoires ont fourni 142 réponses. 105 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite, 14 laboratoires ont répondu la présence de 2 parasites et 3 laboratoires la présence de 3 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/16535

Résultat	Nombre
<i>Taenia</i> species	116
<i>Taenia saginata</i>	4
<i>Taenia solium</i>	1
<i>Enterobius vermicularis</i>	10
<i>Balantidium coli</i>	1
<i>Diphyllobothrium latum</i>	1
<i>Echinococcus granulosus</i>	1
<i>Cryptosporidium</i> species	5
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1
<i>Endolimax nana</i>	1
<i>Entamoeba histolytica</i>	1
Total	142

Plusieurs laboratoires ont mentionné qu'il est impossible de faire la distinction entre *T. saginata* et *T. solium* sur la seule base des œufs. Deux laboratoires ont mentionné que la présence de "vers" dans les sous-vêtements fait plutôt penser à la présence de *T. saginata*.

Les combinaisons de parasites répondues par les laboratoires sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau 5.3.2. Combinaisons de parasites répondues pour l'échantillons P/16535

N parasites	Réponses	N labos
1 parasite	<i>Taenia</i> species	100
	<i>Taenia saginata</i>	3
	<i>Taenia solium</i>	1
	<i>Echinococcus granulosus</i>	1
2 parasites	<i>Taenia</i> species + <i>Enterobius vermicularis</i>	7
	<i>Taenia</i> species + <i>Cryptosporidium</i> species	4
	<i>Taenia</i> species + <i>Entamoeba histolytica</i>	1
	<i>Taenia</i> species + <i>Endolimax nana</i>	1
	<i>Taenia saginata</i> + <i>Enterobius vermicularis</i>	1
3 parasites	<i>Taenia</i> species + <i>Enterobius vermicularis</i> + <i>Cryptosporidium</i> species	1
	<i>Taenia</i> species + <i>Enterobius vermicularis</i> + <i>Balantidium coli</i>	1
	<i>Taenia</i> species + <i>Diphyllobothrium latum</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	1
	Total	122

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Taenia* species sont repris dans le tableau suivant.

Tableau 5.3.3. Stades d'évolution de *Taenia* species pour l'échantillon P/16535

Stade d'évolution	Nombre de laboratoires
Œuf	113
Œuf fécondé	2
Kyste	1
Total	116

Les 4 laboratoires qui ont répondu *T. saginata* et le laboratoire qui a répondu *T. solium* ont tous mentionné « œuf » comme stade d'évolution.

18 laboratoires enverraient en routine cet échantillon à un centre de référence : 15 d'entre eux ont répondu *Taenia* species, 1 *Taenia solium*, 1 « *Taenia* species + *Enterobius vermicularis* + *Cryptosporidium* species » et 1 « *Taenia* species + *Diphyllobothrium latum* + *Cryptosporidium parvum* ».

5.4. Commentaire concernant l'enquête : échantillon P/16534

92.6% des participants ont correctement identifié le genre *Diphyllobothrium*, aucun laboratoire n'a considéré l'échantillon comme négatif. Il s'agit d'une légère diminution par rapport à l'enquête 2017/2 lors de laquelle 98.6% des participants l'avaient repéré, il s'agit cependant d'un autre échantillon.

Une infection par *Diphyllobothrium* spp. ou « ténia du poisson » est d'habitude associée à l'ingestion de poisson d'eau douce cru ou pas assez cuit. Celui-ci contient le stade larvaire du ver (larve plérocercarioïde). Les larves s'attachent à la muqueuse de l'intestin (d'habitude au niveau de l'iléon) et ils se développent chez l'hôte final en ver adulte qui a une durée de vie de 30 ans. *Diphyllobothrium* est également parfois décrit comme « ténia large » étant donné que la forme des proglottis matures est plutôt large que long. Cependant les proglottis sont rarement retrouvés dans les selles parce qu'ils se désintègrent déjà dans l'intestin. Un ver adulte peut produire jusqu'un million d'œufs par jour. Les œufs apparaissent dans les selles environ 1,5 mois après l'infection initiale. Les œufs sont le stade diagnostique chez l'homme.

Les œufs non embryonnés sont excrétés et ils développeront dans l'eau après 20 jours en une oncosphère. Ces œufs embryonnés se développeront, après ingestion par des petits crustacés (comme les copépodes) en larve procercoïde. Quand ces petits crustacés sont mangés par les poissons d'eau douce, les larves procercoïdes se développent en larves plérocercarioïdes. Ils peuvent ensuite être ingurgités soit par un autre hôte intermédiaire (paraténique) (de grands poissons) soit par un hôte final approprié, représenté par les mammifères qui mangent des poissons, tel que l'homme.

Le diagnostic repose sur l'identification des œufs dans les selles. Les œufs non embryonnés ovaliformes mesurent 58-76µm sur 40-51µm. D'un côté on peut voir l'opercule, de l'autre côté une petite excroissance (qui n'est pas toujours visible). La présence de l'opercule peut mener à une confusion par laquelle ils sont identifiés comme des œufs de trématodes (par exemple *Fasciola*, *Paragonimus*), comme c'était le cas pour certains participants à cette enquête. Dans ce cas, la distinction peut être effectuée sur base de la taille des œufs.

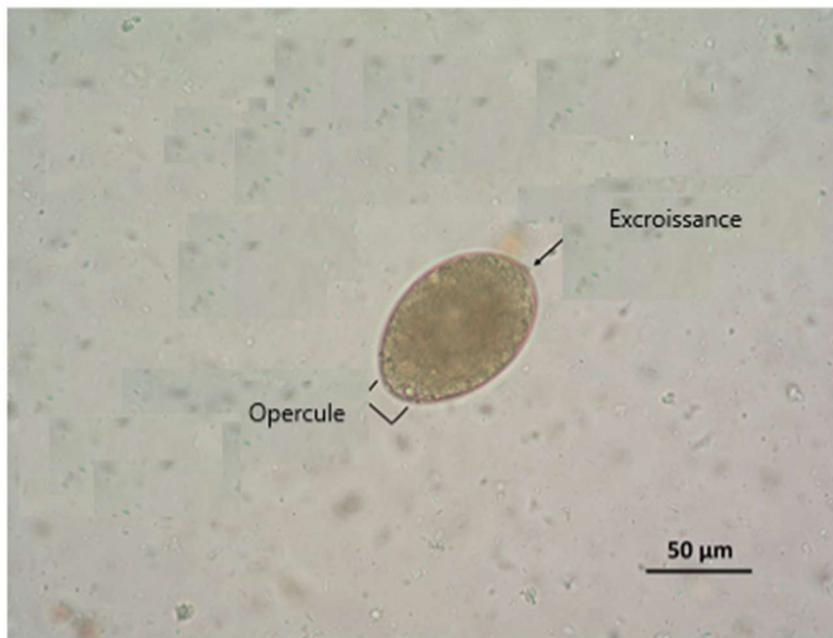


Fig. 1: *Diphyllobothrium* spp. œuf (de cette enquête) avec opercule et excroissance (photo I. Potters).



Fig. 2: *Diphyllobothrium* spp. œuf avec opercule ouvert (Photo I. Potters)

Mondialement plus de 50 espèces ont été décrites, dont 14 chez l'homme. Il est impossible de les distinguer sur base de la morphologie. *Diphyllobothrium* est cosmopolite, cependant la plupart des infections sont décrites en Europe du Nord, en Asie (entre autres le Japon, la Corée du Nord, le Taiwan,...) et en Amérique du Nord et du Sud. *Diphyllobothrium latum* est l'espèce la plus décrite, même si un examen récent sur base des examens moléculaires (séquençage gène *cox1*) propose une reclassification. Historiquement beaucoup de cas ont été décrits comme *Diphyllobothrium latum*, tandis qu'ils étaient probablement causés par d'autres espèces qui sont donc sous-rapportées. Au Japon, *D. nihonkaiense* est le cestode le plus prévalent transmis par des poissons. *Diphyllobothrium dendriticum* prédomine dans les régions arctiques.

La plupart des infections sont asymptomatiques, une sur cinq s'accompagne de diarrhée, de constipation, et/ou de douleurs abdominales, plus rarement on observe une obstruction au niveau des intestins ou il existe une cholécystite. La capacité du ver adulte à absorber la Vitamine B12 peut causer une anémie pernicieuse. Le genre *Diphyllobothrium* est étroitement apparenté au genre *Spirometra*. Cependant la validité des différentes espèces de ce genre et leur relation avec le genre *Diphyllobothrium* ne sont pas encore complètement clarifiées. Une infection par

Spirometra spp est associée avec tableau clinique de sparganose. Dans ce cas l'homme peut servir d'hôte paraténique dans lequel les larves plérocercoides migrent vers les tissus sous-cutanées où ils forment un nodule ou un kyste. Dans ces cas on ne retrouve pas d'œufs dans l'intestin. Suivant la localisation de l'infection, ceci peut avoir de graves conséquences (par exemple cérébrales, viscérales).

La congélation du poisson infecté par *Diphyllbothrium* tue les larves, le fumage ou le salage ne sont pas assez efficaces. Le traitement de préférence est le praziquantel ou le niclosamide.

Dorien Van den Bossche, Instituut voor Tropische Geneeskunde

Références

Tsuboi M et al. Clinical characteristics and epidemiology of intestinal tapeworm infections over the last decade in Tokyo, Japan: A retrospective review. PLoS Negl Trop Dis. 2018 Feb 20;12(2):e0006297. doi: 10.1371/journal.pntd.0006297.

Kuchta R. et al. Tapeworm *Diphyllbothrium dendriticum* (Cestoda) – Neglected or Emerging Human Parasite? PLoS Negl Trop Dis. 2013 Dec ; 7(12) e2535.

Scholz T et al. Update on the human broad tapeworm (genus *diphyllbothrium*), including clinical relevance. Clin Microbiol Rev. 2009 Jan;22(1):146-60

Liu Q. et al. Human sparganosis, a neglected food borne zoonosis. Lancet Infect Dis 2015. 15:1226-35.

VI. Sérologie

6.1.VIH

6.1.1. Information concernant les échantillons envoyés

2 échantillons « prêts-à-l'emploi » (IS/13191 et IS/16544) ont été envoyés pour effectuer la sérologie du VIH.

Les résultats attendus étaient :

L'échantillon IS/13191 était réactif pour le VIH.

L'échantillon IS/16544 était négatif pour le VIH. Cet échantillon a déjà été envoyé dans l'enquête 2014/3 sous le numéro IS/10544.

6.1.2. Les participants

142 laboratoires sur 145 inscrits (96.6%) ont introduit leurs résultats.

Le tableau ci-dessous illustre le nombre de tests de dépistage effectués par laboratoire. Plusieurs laboratoires ont effectué 2 tests de dépistage différents par échantillon.

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

Echantillon	1 test	2 tests	Total
IS/13191 (N labos)	130	12	142
IS/16544 (N labos)	135	7	142

Au total les laboratoires ont donc effectué 154 tests de dépistage sur l'échantillon IS/13191 et 149 sur l'échantillon IS/16544.

Le tableau 6.1.2. montre la distribution par génération de trousse.

Tableau 6.1.2. Distribution par génération des trousse utilisées pour la sérologie du VIH.

N tests	Génération	IS/13191 (N labos)	IS/16544 (N labos)
1 test			
	3 ^e gén.	1	1
	4 ^e gén.	129	134
2 tests			
	3 ^e + 4 ^e gén.	1	1
	4 ^e + 4 ^e gén.	11	6
Total		142	142

Pour l'échantillon IS/13191 les laboratoires ont donc utilisé 152 trousse de 4^e génération et 2 trousse de 3^e génération et pour l'échantillon IS/16544 147 trousse de 4^e génération et 2 trousse de 3^e génération.

Un certain nombre des laboratoires ont transmis les résultats obtenus pour l'Ag p24 avec les trousse combinées, les résultats obtenus pour l'Ag p24 avec d'autres trousse et les résultats des tests de confirmation. Les méthodes utilisées sont reprises dans la discussion des résultats.

6.1.3. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.1.3. Réactifs utilisés pour les tests de dépistage du VIH.

Fabricant	Réactif	IS/13191	IS/16544
Abbott	Architect HIV Ag/Ab Combo	36	36
	Alinity i HIV Ag/Ab Combo	3	3
	PRISM HIV 0 Plus	2	2
Alere Health	HIV Combo	1	-
bioMérieux	VIDAS HIV DUO ULTRA	9	7
	VIDAS HIV DUO QUICK	7	5
BioRad	Access HIV Combo op Unicel Dxl 800 ¹	4	4
	Genscreen Ultra HIV Ag/Ab	1	1
DiaSorin	Liaison XL Murex HIV Ag/Ab	10	10
	Liaison XL HIV Ag/Ab	2	2
Ortho Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products HIV Combo reagent Pack	4	4
Roche	HIV Combi PT	41	41
	Elecsys HIV Duo	18	18
	Cobas HIV Combi 2 nd Generation	2	2
Siemens	ADVIA Centaur HIV Combo	10	10
	Atellica HIV Ag/Ab Combo (CHIV)	4	4
Total		154	149

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

6.1.4. Résultats

6.1.4.1. Echantillon IS/13191

141 laboratoires ont obtenu un résultat réactif avec les tests de dépistage (tous les laboratoires ayant utilisé deux techniques ont obtenu des résultats réactifs avec ces techniques). Un laboratoire a obtenu un résultat négatif ; étant donné que ce laboratoire a répondu un résultat réactif pour l'échantillon IS/16544, il s'agit probablement d'une inversion d'échantillons.

Pour les trousse avec un nombre suffisant d'utilisateurs (au moins 6) nous avons calculé la médiane, le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif et utilisé la même unité). Ils sont présentés dans le tableau suivant. Pour la trousse ADVIA Centaur HIV Combo 9 laboratoires ont répondu un index >12 et 1 laboratoire un index de 9.137.

Tableau 6.1.4. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les anticorps anti-VIH pour l'échantillon IS/13191 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse	Nombre de laboratoires	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour réactivité
Architect HIV Ag/Ab Combo (index S/CO)	36	892.39	720.33	1200.00	≥ 1.0
VIDAS HIV DUO QUICK (index)	7	31.55	26.40	34.65	≥ 0.25
VIDAS HIV DUO ULTRA (index)	9	23.98	18.60	30.80	≥ 0.25
Liaison XL Murex HIV Ab/Ag (index S/CO) ¹	8	93.0	62.2	106.0	≥ 1.0
Elecsys HIV Duo (index)	18	464	294	556	≥ 1.0
HIV Combi PT (index S/CO) ²	38	466.8	349.2	825.1	≥ 1.0

¹ En plus 1 laboratoire a répondu un ratio >2.

² En plus 1 laboratoire a répondu un index > 431 et 1 laboratoire un index de 0.33.

Résultats des déterminations de l'Ag p24 et des tests de confirmation.

Huit laboratoires ont mentionné le résultat de l'Ag p24 obtenu avec les trousse combinés Ac/Ag (1 laboratoire a mentionné les résultats de 2 trousse: au total donc 9 résultats). Trousse: Liaison XL Murex HIV Ab/Ag (Diasorin) (3 labos), Liaison XL HIV Ab/Ag (Diasorin) (2 labos), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (1 labo), HIV Combi PT (Roche) (1 labo), Architect HIV Ag/Ab Combo (1 labo) et Elecsys HIV Duo (Roche) (1 labo).

Un laboratoire a mentionné le résultat de la trousse VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux).

Tous les résultats des déterminations de l'Ag p24 étaient négatifs.

Trois laboratoires ont mentionné les résultats des tests blot (HIV 2.2 BLOT (MP Diagnostics), InnoLia HIV I/II (Fujirebio) et recomLine HIV1 & HIV2 IgG (Mikrogen)); un laboratoire a mentionné le résultat d'un test immunodot.

Tous ces résultats étaient positifs.

Deux laboratoires ont mentionné les résultats de la méthode immunochromatographique : Geenius HIV 1/2 Confirmatory System (Bio-Rad). Ces 2 résultats étaient positifs.

En routine, trois laboratoires belges n'enverraient pas l'échantillon à un centre de référence : un laboratoire ayant mentionné effectuer lui-même des tests de confirmation, le laboratoire qui a donné la réponse « négatif » pour cet échantillon et un laboratoire qui a obtenu un résultat positif.

6.1.4.2. Echantillon IS/16544

140 laboratoires ont rapporté un résultat négatif avec les tests de dépistage (tous les laboratoires ayant utilisé deux techniques ont obtenu des résultats négatifs avec ces techniques). Un des 2 laboratoires qui a fourni un résultat réactif est le laboratoire qui a probablement interverti les 2 échantillons (cfr. ci-dessus). L'autre laboratoire a trouvé un index juste au-dessus du cut-off de la trousse ADVIA Centaur HIV Combo (1.525; cut-off: >1.0); les 9 autres utilisateurs de cette trousse ont trouvé de valeurs clairement négatives.

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

Sept laboratoires ont mentionné le résultat de l'Ag p24 obtenu avec les trousse combinés Ac/Ag. Truusses : Liaison XL Murex HIV Ab/Ag (Diasorin) (3 labos), Liaison XL HIV Ab/Ag (Diasorin) (1 labo), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (2 labos) et Elecsys HIV Duo (Roche) (1 labo).

Un laboratoire a mentionné le résultat de la trousse VIDAS HIV p24 II kit (bioMérieux).

Tous les résultats des déterminations de l'Ag p24 étaient négatifs.

En routine, trois laboratoires belges enverraient cet échantillon à un laboratoire de référence : les 2 laboratoires qui ont mentionné le résultat réactif et 1 laboratoire qui a obtenu un résultat négatif.

6.1.5. Commentaire

Nous référons aux commentaires des enquêtes précédentes.

6.2. Antigène de la Legionella

6.2.1. Les échantillons

Il y avait 2 échantillons d'urine pour la recherche de l'antigène Legionella, Ag/16696 et Ag/16697. L'échantillon Ag/16696 était positif et l'échantillon Ag/16697 négatif. L'échantillon Ag/16697 a déjà été envoyé lors des enquêtes 2015/1 (sous le numéro Ag/12900) et 2017/1 (sous le numéro Ag/14681).

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

Ag/16696: Au cours de l'épidémie de Legionella dans la zone portuaire gantoise sud, un boucher polonais de 50 ans, qui habite à Gentbrugge mais qui travaille à Anvers, se présente aux urgences avec une fièvre élevée (40°C) et de la tachypnée. La radiologie du thorax montre une pneumonie lobaire droite. L'examen sanguin montre un comptage normal des GB (4600 / μ l) mais avec une leucocytose, des transaminases fortement élevées et une CRP approchant les 500 mg/L.

Ag/ 16697: Une femme de 55 ans est admise à l'hôpital avec une pneumonie sévère après un séjour en Espagne.

6.2.2. Les participants

92 laboratoires sur 102 inscrits (90.2%) ont introduit leurs résultats : il s'agit de 91 laboratoires cliniques et un laboratoire de firme. Ce dernier n'est pas pris en compte dans l'analyse des résultats. Il a utilisé la trousse Legionella K-set (Coris Bioconcept) avec des résultats corrects pour les 2 échantillons.

Deux laboratoires avaient mal compris la question et ils ont déterminé les anticorps au lieu de l'antigène. La confusion était dû au fait que la nature des échantillons n'ait pas reprise sur le formulaire (uniquement dans l'e-mail annonçant l'envoi des échantillons); dans le futur cette nature sera clairement indiquée.

Au total l'analyse des résultats concerne donc les résultats de 89 laboratoires : sur les 2 échantillons 88 laboratoires ont effectué un seul test et 1 laboratoire 2 tests. Au total les laboratoires ont donc effectué 90 tests pour chacun des échantillons.

6.2.3. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.2.1. Réactifs utilisés pour les tests pour la détection de l'antigène Legionella.

Fabricant	Réactif	Ag/16696	Ag/16697
Abbott ¹	Binax Now Legionella Urinary Ag test	79	79
All Test (distributeur AKSA Medical)	Legionella pneumophila Rapid Test Cassette	2	2
Coris Bioconcept (distributeur International Medical)	Legionella K-Set	3	3
	Legionella V-test	1	1
Meridian	Tru Legionella	3	3
Nal von Minden	Nadal Legionella /S. pneumoniae test cassettes	1	1
Quidel	Sofia Legionella FIA	1	1
Total		90	90

¹ La firme Alere Health a été reprise par Abbott: la trousse Binax Now Legionella Urinary Ag test est donc classé sous Abbott.

6.2.4. Résultats

6.2.4.1. Echantillon Ag/16696

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif (le laboratoire qui a utilisé deux trousse, a obtenu des résultats positifs pour ces 2 trousse).

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

Tableau 6.2.2. Interprétations pour l'échantillon Ag/16696 (Ag Legionella).

Interprétation	N labos
Positif (visuellement et/ou reader)	80
Positif (uniquement reader)	4
Des tests supplémentaires sont nécessaires	4
Pas d'interprétation ¹	1
Total	89

¹ Un laboratoire n'a pas répondu à la question concernant l'interprétation.

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

Tableau 6.2.3. Tests supplémentaires pour l'échantillon Ag/16696 (Ag Legionella).

Tests supplémentaires	N labos
PCR sur un échantillon respiratoire	2
Le typage de la souche est recommandé dans le cadre d'un examen épidémiologique.	1
Procédure de traitement de l'urine pour confirmation de la positivité	1
Total	4

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

- 1 laboratoire a mentionné que le test ne détecte que le séro groupe 1 de *Legionella pneumophila*
- 1 laboratoire a mentionné que l'excrétion dans les urines peut durer longtemps après l'infection (jusque 1 an)
- 1 laboratoire a mentionné qu'une culture bactérienne est faite en même temps
- 2 laboratoires ont mentionné qu'une PCR et une culture seraient effectuées sur un échantillon respiratoire

6.2.4.2. Echantillon Ag/16697

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif (le laboratoire qui a utilisé deux trousse, a obtenu des résultats négatifs pour ces 2 trousse).

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

Tableau 6.2.4. Interprétations pour l'échantillon Ag/16697 (Ag Legionella).

Interprétation	N labos
Négatif	73
Résultat négatif pour le test d'antigène. Une culture pour la recherche des agents bactériens et une PCR pour la recherche de pathogènes respiratoire atypiques, la Legionella et le <i>Mycoplasma pneumoniae</i> sont indiquées.	1
En cas de suspicion d'une Legionella un test d'antigène urinaire négatif est insuffisant pour exclure le diagnostic. Des tests complémentaires sur un échantillon respiratoire sont nécessaires.	1
Commentaire sur le rapport: L'antigène urinaire de <i>L. pneumophila</i> séro groupe 1 n'a pas été détecté. D'autres sérogroupes et espèces de Legionella ne sont pas recherchés adéquatement avec ce test. Des tests complémentaires sur un échantillon respiratoire sont indiqués s'il y a une suspicion clinique d'une infection par Legionella.	1
Si arguments cliniques évocateurs d'une légionellose, après discussion clinico-biologique, ajout de PCR et culture spécifique <i>Legionella pneumophila</i> afin de ne pas passer à côté d'une souche appartenant à un séro groupe différent du séro groupe 1.	1
Des tests supplémentaires sont nécessaires	4
Positif (visuellement et/ou reader) ¹	6
Positif (uniquement reader) ¹	1
Pas d'interprétation ²	1
Total	89

¹ Sept laboratoires ont obtenu un résultat négatif mais ils ont répondu l'interprétation « positif ». Peut-être ils ont mal interprété la question.

² Un laboratoire n'a pas répondu à la question concernant l'interprétation.

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

Tableau 6.2.5. Tests supplémentaires pour l'échantillon Ag/16697 (Ag Legionella).

Tests supplémentaires	N labos
PCR sur un échantillon respiratoire	1
PCR + culture sur un échantillon respiratoire	1
Examen sur un échantillon respiratoire	2
Total	4

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

- 3 laboratoires ont mentionné que le test ne détecte que le sérotype 1 de *Legionella pneumophila* et que par conséquent des tests supplémentaires sont nécessaires (1 laboratoire : culture + PCR sur un échantillon respiratoire; 1 laboratoire : PCR sur un échantillon respiratoire; 1 laboratoire : recherche d'autres sérotypes)
- 1 laboratoire a mentionné que le test ne détecte que le sérotype 1 de *Legionella pneumophila*
- 3 laboratoires ont mentionné demander des tests supplémentaires (2 laboratoires: PCR sur un échantillon respiratoire; 1 laboratoire culture sur un échantillon respiratoire)
- 1 laboratoire a mentionné que si le reader donne un résultat positif mais que le résultat est négatif visuellement, le test est refait après traitement par le chaud de l'urine

6.2.5. Utilisation d'un reader

87 laboratoires ont répondu à la question de savoir s'ils utilisent un reader: 20 laboratoires utilisent un reader: 17 toujours (le laboratoire qui utilise la trousse Sofia Legionella FIA, a mentionné qu'une lecture visuelle est impossible), 1 laboratoire si la lecture visuelle est négative, 1 laboratoire uniquement en cas de doute et 1 laboratoire a mentionné que le reader est en phase de validation.

6.2.6. Commentaire

Il n'y avait pas de problème analytique pour cette EEQ. **Tous les laboratoires ont obtenu un résultat correct.**

Nous avons demandé aux laboratoires s'ils **utilisent un reader** pour la lecture objective d'un test antigénique de la Legionella. Même si on ne trouve pas dans la littérature de publications qui comparent la performance analytique de lecture par reader avec la lecture visuelle, nous avons constaté empiriquement une augmentation importante de la sensibilité à l'occasion de l'épidémie de Legionella pneumophila sérotype 1 dans la zone du canal de Gand (mai 2019). Sept des 20 cas (35%) de cette épidémie étaient négatifs visuellement mais positif avec le reader (d'Alere). D'autre part l'utilisation du reader n'a pas donné plus de réactions aspécifiques. Les tests antigéniques positifs, même ceux obtenus uniquement avec le reader, ont tous été confirmés.

A l'occasion de l'enquête, une minorité de laboratoires, 20 sur 87 (23%), ont mentionné l'utilisation d'un reader.

Nous voulons souligner que pour établir le diagnostic d'une infection par Legionella ce n'est pas une bonne idée de se fier uniquement au résultat d'un test antigénique urinaire (une sensibilité faible +/- 70% une réaction croisée limitée avec les Legionella pneumophila non- sérotype 1 et les autres espèces de Legionella) (1). Le **prélèvement d'un échantillon respiratoire profond** par expectoration (induit), aspiration bronchique ou LBA pour diagnostic moléculaire et/ou culture est essentiel. Ceci est également important afin de pouvoir comparer les souches des patients et leurs profils ADN éventuels avec les souches de l'environnement en cas de recherche de la source. Dans une étude multicentrique belge (2) le test antigénique urinaire (cependant sans utilisation de reader) était négatif chez 44.4% des patients qui avaient une légionellose confirmée par PCR. Il est donc décevant que seuls 3 laboratoires, pour l'échantillon d'urine positif (Ag/16696, pour confirmer en cas d'une épidémie) et 4 laboratoires, pour l'échantillon d'urine négatif (Ag/16697, pour exclure en cas de clinique suspecte), demanderaient des analyses complémentaires sur un échantillon respiratoire. Dans ce cadre il est, d'un point de vue clinique, incompréhensible que les analyses de Legionella dans les échantillons respiratoires ne soient pas repris dans la nomenclature INAMI.

Le plus grand piège dans le diagnostic de la Legionella se situe cependant dans la « **phase pre-pre-analytique** »: le diagnostic d'une infection par Legionella n'est pas posé parce que les tests spécifiques n'ont pas été demandés. Une **approche syndromique** par exemple par PCR multiplex peut donner une solution. Dans l'étude multicentrique mentionné ci-dessus (2) nous avons constaté que, sans approche syndromique, le diagnostic d'infection par Legionella n'aurait pas été posé immédiatement dans 39.4% des cas parce que le médecin traitant n'avait pas demandé les tests spécifiques. Dans notre laboratoire nous utilisons une approche plus ciblée dans laquelle, en cas d'une infection respiratoire en combinaison avec une CRP élevée (>200 mg/L) les tests de Legionella sont systématiquement effectués. A l'occasion de l'épidémie dans la zone du canal de Gand tous les patients avec une infection invasive par Legionella avaient au moment de la demande une **CRP (très) élevée** (médiane 336 mg/L, range: 124 – 549 mg/L). La combinaison d'une fièvre élevée, une toux sèche, une CRP (très) élevée, une hyponatrémie, une thrombocytopenie et un LDH élevé est la signature typique d'une infection invasive par Legionella (3). C'est la mission clef du (micro)biologiste clinique de veiller à ce que le diagnostic de Legionella soit toujours effectué chez des patients avec un tel profil.

Pour finir quelques remarques complémentaires en cas de diagnostic de Legionella:

- Un test antigénique urinaire n'a **uniquement de sens qu'en cas de suspicion d'une infection invasive par Legionella**. Ce test est donc inutile pour le diagnostic de fièvre Pontiac.
- **Les infections invasives par Legionella ne sont pas retrouvées chez des enfants immunocompétents**. Ils ne doivent donc pas être testés.
- **L'excrétion prolongée d'antigène** (jusqu'à 1 an) après une infection est possible. Le test antigénique urinaire ne peut donc pas être utilisé pour démontrer l'efficacité d'un traitement.
- A cause de la réponse immunologique tardive (des semaines) **la sérologie de Legionella n'est pas appropriée pour le diagnostic aigu**. La recherche des anticorps anti-Legionella peut être utilisée dans une analyse post-hoc par exemple dans le cadre d'une recherche épidémiologique.

J. Van Acker, AZ St-Lucas, Gent

(1) Mercante J, Winchell J. Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations. Clin Microbiol Rev. 2015 Jan; 28:80 –118.

(2) Muyldermans A, Descheemaeker P, Boel A, Desmet S, Van Gasse N, Reynders M; National Expert Committee on Infectious Serology. What is the risk of missing legionellosis relying on urinary antigen testing solely? A retrospective Belgian multicenter study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Dec 14.

(3) Miyashita N, Horita N, Higa F, Aoki Y, Kikuchi T, Seki M, Tateda K, Maki N, Uchino K, Ogasawara K, Kiyota H, Watanabe A. Validation of a diagnostic score model for the prediction of Legionella pneumophila pneumonia. J Infect Chemother. 2019 Jun;25(6):407-412.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2021

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