

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

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

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

**RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
MICRO/SERO/PARA
ENQUETE 2014/1**

Microbiologie

Actinobaculum schaalii
Listeria monocytogenes
Staphylococcus aureus
Streptococcus agalactiae

Parasitologie

Plasmodium falciparum
Plasmodium ovale

Sérologie

Syphilis
Ag de l'Influenza

ISP-2014/01/Micro/Séro/Para/97

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

www.wiv-isp.be

COMITE DES EXPERTS

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

Experts:

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

Réunion du comité d'experts : 10/04/2014

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/fr/rapports_annee.htm**Autorisation de diffusion de rapport:** par Kris Vernelen (Coordinateur d'enquête) le 25/02/2015


Tables des matières

Tables des matières	3
I. Remarques générales	4
II. Identifications	5
2.1 Culture M/4395 Staphylococcus Aureus	5
2.2 Culture M/11521 Streptococcus agalactiae ou streptocoque (b-hémolytique) du groupe B.....	8
2.3 Culture M/12190 Actinobaculum schaalii	15
2.4 Culture M/12196 Listeria monocytogenes.....	18
III. Résultats des identifications	19
3.1 Culture M/4395 Staphylococcus aureus (hémoculture)	19
3.2 Culture M/11521 Streptococcus agalactiae (hémoculture)	20
3.3 Culture M/12190 Actinobaculum schaalii (urine)	21
3.4 Culture M/12196 Listeria monocytogenes (pustules cutanées)	23
IV. Antibiogramme.....	24
4.1 Culture M/4395 (Staphylococcus aureus)	24
4.2 Culture M/11521 (Streptococcus agalactiae)	32
V. Parasitologie	41
5.1 Les échantillons	41
5.2 Echantillon P/9033.....	42
5.3 Echantillon P/12526.....	44
5.4 Commentaire concernant l'enquête	48
VI. Sérologie.....	50
6.1 Sérologie de la syphilis	50
6.2 Ag d'influenza	64

I. Remarques générales

Pour la 1^e enquête du cycle 2014 (enquête 2014/1), le matériel suivant a été expédié le 13 janvier 2014.

1.1 Quatre échantillons lyophilisés pour identification.

Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité ont été demandés

1.2 Deux frottis sanguins pour la recherche de parasites.

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

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de:

1.	Pour les identifications et antibiogrammes:	158
2.	Pour la parasitologie :	169
3.	Pour la sérologie	
	syphilis :	147
	Ag Influenza:	99

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

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

Pour la bactériologie :

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

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

Pour la parasitologie :

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

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

Pour la sérologie infectieuse :

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

et puis cliquer sur « Liste des paramètres évalués »

II. Identifications

2.1 Culture M/4395 *Staphylococcus Aureus*

Nombre de participants = 154

La souche a été correctement identifiée à l'espèce par quasi l'ensemble des laboratoires. Sur le plan des caractères phénotypiques, elle présentait un profil caractéristique de l'espèce. Les souches de *S. aureus* isolées d'hémocultures doivent être considérées comme pathogène jusqu'à preuve du contraire.

L'antibiogramme a été réalisé par diverses techniques (disque diffusion, automate,...) d'un laboratoire à l'autre pour la pénicilline, l'oxacilline, la céfoxitine, la gentamicine, les quinolones et la vancomycine. Certains laboratoires n'ont pas déterminé la sensibilité à tous ces antibiotiques.

La plupart des Staphylocoques dorés produisent une pénicillinase conférant une résistance croisée à la pénicilline, l'ampicilline, l'amoxicilline, la pipéracilline et la ticarcilline. Les souches ne produisant pas de pénicillinase et sensible à la oxacilline peuvent être rapportées comme sensibles à ces agents. Les souches produisant une pénicillinase et sensible à l'oxacilline sont sensibles à ces antibiotiques combinés à un inhibiteur de pénicillinase (acide clavulanique ou tazobactam).

L'EUCAST recommande de tester la sensibilité à la pénicilline avec un disque de pénicilline (1 µg) mais il déconseille de déterminer la CMI ou de tester la présence d'une pénicillinase avec un test chromogénique. Les souches présentant un diamètre d'inhibition inférieur à 26 mm doivent être répondues résistantes de même que les souches présentant un diamètre supérieur ou égal à 26 mm **ET un bord d'inhibition net**. Les souches présentant un diamètre supérieur à 26 mm et un bord d'inhibition flou peuvent être répondues sensibles. En cas de doute, il est recommandé de répondre la souche résistante.

La détermination correcte de la sensibilité à l'oxacilline est indispensable afin de guider le choix thérapeutique du clinicien et d'implémenter les recommandations pour le contrôle et la prévention de la transmission du *S. aureus* résistant à la méticilline (MRSA) par l'équipe d'hygiène (BICS online).

La résistance à l'oxacilline est liée à l'acquisition d'une « Penicillin Binding Protein », PBP2a, de faible affinité aux bêta-lactames. La synthèse de la PBP2a est codée par le gène *mec* qui est intégré dans un fragment additionnel du chromosome du staphylocoque appelé Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). Deux variants, *mecA* et *mecC*, présentant moins de 70% d'homologie, ont été décrits chez *S. aureus*. L'acquisition de la PBP2a confère une résistance croisée à l'ensemble des bêta-lactames à l'exception des nouvelles céphalosporines anti-MRSA (ceftaroline, ...). Le niveau d'expression phénotypique de la résistance est variable. Cette résistance peut s'exprimer de manière homogène, c'est à dire que l'ensemble de la population exprime la résistance, ou hétérogène, où seulement une partie de la population (1 bactérie sur 10⁴ à 10⁷) exprime cette résistance. La détection des souches hétéro-résistantes à l'oxacilline peut poser des problèmes au laboratoire.

Depuis plusieurs années, l'EUCAST recommande de tester la sensibilité à l'oxacilline à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 µg (sensible si ≥ à 22 mm d'inhibition, résistante si < à 22 mm d'inhibition) sur une gélose Mueller-Hinton (MH) non supplémentée en NaCl, incubée à 35°C (± 2°C) pendant 18 ± 2 heures. L'utilisation d'un disque de céfoxitine est plus sensible que le disque d'oxacilline pour détecter les souches de *S. aureus* hétéro-résistantes.

Les automates testent la céfoxitine pour déterminer la sensibilité à l'oxacilline. Les souches peuvent également être confirmées par détection de la PBP2a avec un test d'agglutination ou d'immunochromatographie. Les souches *mecC* peuvent donner de faux résultats négatifs si elles n'ont pas été préalablement induites. Les PCR pour tester la résistance à l'oxacilline doivent détecter les différents variants *mecA* et *mecC*.

Selon les tests réalisés au laboratoire de référence, la souche du contrôle de qualité présentait le profil sauvage, multi-sensible aux antibiotiques. La plupart des laboratoires ont répondu correctement à l'ensemble des antibiotiques testés. Dix-huit laboratoires ont répondu la souche résistante à la pénicilline ce qui, en cas de doute, est recommandé par l'EUCAST.

Olivier Denis, Magali Dodémont, Claire Nonhoff, Sandrine Roisin, Stien Vandendriesche. Centre National de Référence des Staphylocoques et des MRSA

Références

Deplano A, Vandendriessche S, Nonhoff C, Denis O. (2014). Genetic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying the *mecC* gene in Belgium. J Antimicrob Chemother. 69:1457-60.

Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. (2002). Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. J Clin Microbiol. 40:2766-71.

Maes N, Magdalena J, Rottiers S, De Gheldre Y, Struelens MJ. (2002). Evaluation of a triplex PCR assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative Staphylococci and determine methicillin resistance from blood cultures. J Clin Microbiol. 40:1514-7.

Mencacci A, Montecarlo I, Gonfia F, Moretti A, Cardaccia A, Farinelli S, Pagliochini MR, Giuliani A, Basileo M, Pasticci MB, Bistoni F. (2009). Comparison of the BD Phoenix system with the cefoxitin disk diffusion test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol. 47:2288-91.

Nonhoff C, Roisin S, Hallin M, Denis O. (2012). Evaluation of Clearview Exact PBP2a, a new immunochromatographic assay, for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LL-MRSA). J Clin Microbiol. 50:3359-60.

Roisin S, Nonhoff C, Denis O, Struelens MJ. (2008). Evaluation of new Vitek 2 card and disk diffusion method for determining susceptibility of *Staphylococcus aureus* to oxacillin. J Clin Microbiol. 46:2525-8.

Online referenties

Belgian Infection Control Society

<http://www.belgianinfectioncontrolsociety.be/> (01 July 2014, date last accessed)

EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

<http://www.eucast.org/> (01 July 2014, date last accessed)

2.2 Culture M/11521 *Streptococcus agalactiae* ou streptocoque (*b*-hémolytique) du groupe B

Nombre de participants = 158

Streptococcus agalactiae est l'espèce désignant les streptocoques appartenant au groupe B de Lancefield (GBS). Son identification ne pose habituellement pas de problème comme le confirment les résultats de cette enquête: la souche a été correctement identifiée par la grande majorité des laboratoires.

Cette espèce a déjà fait l'objet de commentaires publiés dans les rapports des enquêtes 2005/2, 2008/1 et 2010/1 auxquels nous référons en particulier pour les informations détaillées sur les caractéristiques d'identification, les conditions de culture standard ou de culture dans le cadre d'un dépistage de colonisation recto-vaginale. Notons cependant que depuis le dernier rapport, la spectrométrie de masse MALDI-TOF a pris une place importante dans de très nombreux laboratoires comme méthode d'identification et qu'elle est validée pour l'identification de *Streptococcus agalactiae*.

Pour rappel :

Les GBS sont des bactéries commensales du tractus intestinal (réservoir principal) et du tractus génital. La colonisation vaginale est habituellement asymptomatique. En 2014, GBS représente toujours la première cause d'infection bactérienne sévère chez le nouveau-né en dépit de l'efficacité des stratégies de prévention des infections périnatales. Il peut aussi être responsable d'infections invasives chez l'adulte pendant ou en dehors de la grossesse (1-5).

Pour prévenir les infections néonatales précoces, diverses stratégies ont été proposées. Actuellement, en Belgique comme en Amérique du nord et dans de nombreux pays européens, les recommandations sont d'administrer une antibioprophylaxie I.V. intrapartum aux parturientes à risque (6,7). Le risque pris en considération est la colonisation recto-vaginale par GBS identifiée par un dépistage universel réalisé chez toutes les femmes enceintes entre 35 et 37 semaines de gestation. La pénicilline, en raison de son efficacité et de son spectre d'activité étroit, reste l'antibiotique de choix pour l'antibioprophylaxie intrapartum. Des alternatives sont proposées en cas d'allergie connue à la pénicilline: la céfazoline pour les patientes allergiques à faible risque anaphylactique, la clindamycine pourvu que la souche soit connue sensible pour les patientes présentant une allergie à la pénicilline IgE médiée. Dans ce dernier cas, si la souche est résistante à la clindamycine ou si aucun résultat de sensibilité n'est disponible, l'alternative recommandée est la vancomycine (6,8).

Pour le traitement des infections invasives du nouveau-né, de l'adulte ou autre patient, l'antibiotique de première ligne reste la pénicilline. Empiriquement le traitement est commencé avec un antibiotique à spectre plus large, mais dès que l'identification de GBS est confirmée la pénicilline est indiquée pour la poursuite du traitement. Le dosage et la durée des traitements dépendent du type d'infection. (2-4)

La colonisation asymptomatique, même pendant la grossesse ne doit pas être traitée, mais pour toute patiente enceinte, une antibioprophylaxie intrapartum doit être prévue (6,7).

Actuellement 10 sérotypes capsulaires sont décrits (Ia, Ib, et II à IX). Parmi ceux-ci, le sérotype III est particulièrement important parce qu'il est responsable de près de 50% des infections néonatales précoces et de la plupart des cas d'infections néonatales tardives. Parmi ces souches de sérotype III, le « Sequence Type » ST-17 est représenté par des souches hypervirulentes (9,10). Le typage des polysaccharides capsulaires et autres méthodes de typage ont un intérêt épidémiologique très important notamment pour la détermination de la composition des vaccins en développement. Pour ces surveillances épidémiologiques, nous rappelons que tous les laboratoires sont invités à envoyer TOUS leurs isolats d'infections invasives au centre national de référence des GBS (pour information 101 laboratoires sur 158 n'auraient pas envoyé cette souche au centre national de référence !).

Sensibilité aux antibiotiques

Sensibilité à la pénicilline et aux β -lactames :

S. agalactiae reste sensible aux β -lactames. Dans un laboratoire de routine, la détermination de la sensibilité à la pénicilline permet d'inférer la sensibilité aux autres β -lactames y compris les céphalosporines et carbapénèmes (EUCAST 2014 et CLSI 2014) (11,12). L'EUCAST 2014 ainsi que le CLSI 2014 recommandent de répéter le test de sensibilité d'une souche qui apparaîtrait non sensible à la pénicilline et de toujours faire confirmer ce résultat par un laboratoire de référence. En effet depuis quelques années de rares souches de sensibilité réduite à la pénicilline, à l'ampicilline et aux céphalosporines (PR-GBS) ont été décrites initialement au Japon puis aux Etats-Unis et au Canada, et plus récemment en Argentine (13,14). Cette diminution de sensibilité acquise est due à la substitution d'acides aminés dans les gènes codant pour les PBP2X et PBP1A. La CMI à la pénicilline des PR-GBS varient de 0,25 à 1 mg/L mais leurs CMI aux céphalosporines sont plus élevées. Jusqu'à présent cette diminution de sensibilité ne paraît pas avoir posé de problème clinique mais il faut craindre l'apparition de souches avec des CMI très élevées aux céphalosporines de 3^{ème} génération et une augmentation de la CMI à la pénicilline comme observées chez *Streptococcus pneumoniae*. Un autre problème plus inquiétant est de ne pas reconnaître ces souches de sensibilité diminuée. En effet les méthodes phénotypiques habituelles testant la pénicilline par diffusion en disque ne permettent pas d'identifier ces souches. L'utilisation de 3 disques d'oxacilline, de ceftizoxime et de ceftibuten paraît plutôt efficace pour les identifier: habituellement ces souches de PR-GBS ne montrent aucune inhibition autour du disque de ceftibuten et ont des CMI élevées à l'oxacilline et ceftizoxime (15). Les laboratoires de référence surveillent cette éventuelle émergence de résistance.

Résistance aux macrolides et lincosamides :

Comme chez de nombreuses espèces de streptocoques, une augmentation importante de la résistance à la clindamycine a aussi été observée parmi les GBS (16,17). Le taux de résistance observée est variable dans le temps et géographiquement en relation notamment avec l'utilisation des macrolides en médecine ambulatoire et peut atteindre 30 à 40% (9).

En Belgique, en 2012, la surveillance de la résistance à l'érythromycine et à la clindamycine parmi les souches invasives de GBS transmises au CNR montrait une légère diminution avec 26% de souches résistantes à l'érythromycine et 24,5% à la clindamycine. Une minorité de souches résistantes à l'érythromycine, 8% présentaient une résistance isolée, par un mécanisme actif d'efflux conféré par le gène *mef*. La plupart des souches démontraient un phénotype MLS c'est-à-dire présentant une résistance croisée entre les macrolides, les lincosamides et les streptogramines.

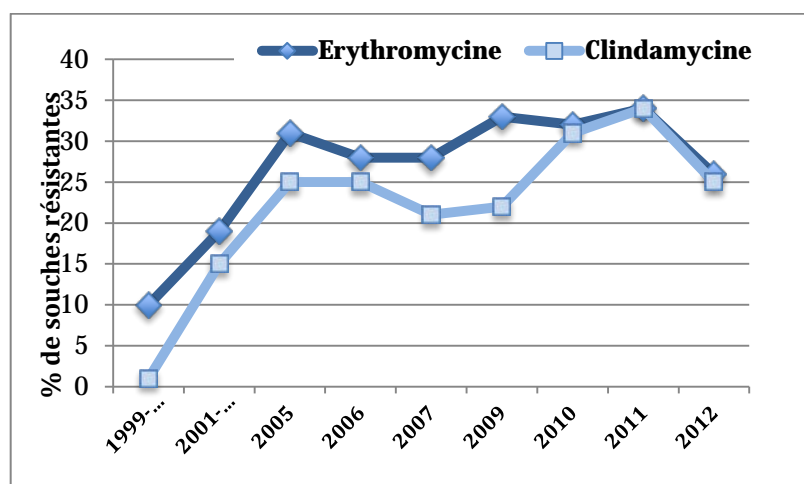
Cette résistance résulte d'une modification de cible au site de liaison conférée par les gènes de la famille *erm*. On distingue le phénotype MLS constitutif (souches résistantes à la fois à l'érythromycine et à la clindamycine, cMLS) et le phénotype MLS inductible (souches résistantes à l'érythromycine et à la clindamycine uniquement détectée in vitro en présence d'érythromycine, iMLS), respectivement dans 64,93% et 27,02% des souches de GBS résistantes à l'érythromycine (16,18-19).

En 2012, un nouveau phénotype déjà rencontré en Asie et en Nouvelle Zélande (20) a été retrouvé au sein des souches belges. Il s'agit du phénotype L caractérisé par une résistance aux lincosamides qui ne s'accompagne pas d'une résistance aux macrolides. En général, cette résistance est supportée par des gènes de la famille des nucléotidyl transférases (*InuB* et *InuC*). Ces gènes n'ont pas été détectés dans les souches de phénotype « L » belges reçues par le CNR. Par contre un gène *lsaC* a été mis en évidence et il confère un autre phénotype « L » le LS_A ou LS_AP s'exprimant par une résistance croisée aux lincosamides, à la streptogramine A et à la pleuromutilline (antibiotique utilisé en médecine vétérinaire). Ce phénotype a été décrit en 2011 en Nouvelle Zélande (20). Ce nouveau phénotype « L » est exprimé par 0,6 % des souches reçues depuis 2008 par le CNR GBS (21).

Pour la détermination de la résistance inductible à la clindamycine, aussi bien l'EUCAST que le CLSI recommandent pour les souches résistantes à l'érythromycine la réalisation systématique d'un D-test en diffusion de disques. Les laboratoires utilisant une méthode en milieu liquide, y compris les systèmes automatisés, devraient aussi inclure un D-test en diffusion (11,12). Les souches présentant un résultat positif au D-test sont considérées avoir une résistance inductible à la clindamycine et sont présumées résistantes à cet antibiotique. Rarement, une résistance isolée à la clindamycine et pas à l'érythromycine peut être observée. Ce phénotype rare existe bien dans notre pays; pour ces souches, la sensibilité observée à l'érythromycine ne doit pas être modifiée. Ce phénotype identifié récemment et restant assez rare n'est pas connu notamment par le système expert du Vitek qui recommande une correction du résultat de l'érythromycine comme pour un phénotype MLS_B constitutif.

L'évolution des taux de résistance des GBS à l'érythromycine et à la clindamycine en Belgique de 1999 à 2012 est présentée dans le tableau ci-après.

Figure : Evolution de la résistance à l'érythromycine et à la clindamycine de souches de GBS isolées d'infections invasives chez le nouveau-né et chez l'adulte, de 1999 à 2012 (Données du centre de référence des streptocoques du groupe B, rapport d'activité 2012) (16)



Résistances et sensibilités diverses :

Fluoroquinolones :

Depuis 2003, des souches résistantes aux fluoroquinolones ont été décrites principalement au Japon, en Corée et en Chine (22-24). En 2013, une étude rapporte 37% de résistance aux fluoroquinolones parmi des souches chinoises. En Europe et en Amérique du Nord les taux de résistance aux fluoroquinolones restent très faibles (0 à 5%; 2% à la lévofloxacine et 1,35 % à la moxifloxacine parmi les souches invasives isolées en Belgique en 2012, données du Centre National de Référence des streptocoques B). Les résistances décrites sont dues à des substitutions d'acides aminés dans les gènes de gyrases et de topoisomérases. En Chine on assiste actuellement à la dissémination d'un clone de GBS multi-résistant associant la résistance aux fluoroquinolones et portant également des gènes de résistance au groupe des macrolides et lincosamides (24).

Vancomycine :

Toutes les souches restent sensibles à la vancomycine.

Tétracyclines :

Plus de 85% des souches de GBS sont résistantes aux tétracyclines. Ces souches résistantes appartenant aux clones infectant les humains auraient été sélectionnées par l'usage intensif des tétracyclines dès 1948 (25). Quelques clones résistant aux tétracyclines, particulièrement adaptés à leur hôte, ont remplacé la population variée de GBS et sont responsables de l'émergence des infections néonatales (25).

Aminoglycosides :

Les GBS sont intrinsèquement résistants aux aminoglycosides et une monothérapie avec un aminoglycoside est inefficace, mais une synergie est possible avec les pénicillines ou glycopeptides si les souches n'ont pas acquis un haut niveau de résistance. Pour certaines infections sévères comme les endocardites à GBS, un aminoglycoside peut être administré pendant une période limitée en combinaison avec un traitement par une b-lactame. Comme pour les entérocoques, un haut niveau de résistance peut être observé. Dans une étude récente (2013), en Argentine, 13% des souches présentaient un tel haut niveau de résistance à la gentamicine (26).

L'inévitable émergence de souches résistantes aux antibiotiques et le risque de dissémination de souches multi-résistantes représentent une menace à la fois pour l'antibioprophylaxie et pour les traitements, et mettent en évidence la nécessité de faire des surveillances épidémiologiques ainsi que l'importance des bonnes pratiques de laboratoire pour la réalisation des antibiogrammes.

Commentaires sur l'antibiogramme des streptocoques du groupe B

L'émergence possible de souches de sensibilité réduite aux b-lactames ainsi que les taux de résistance observés à l'érythromycine et à la clindamycine justifient la nécessité de réaliser un antibiogramme lorsque ces molécules sont susceptibles d'être utilisées pour une antibioprophylaxie ou un traitement. Pour la détermination de la sensibilité aux b-lactames, la molécule recommandée reste la pénicilline et le résultat obtenu peut être étendu à l'ensemble des b-lactames (à l'exception des phénoxyméthylpénicillines et isoxazolylpénicillines), y compris aux céphalosporines et carbapénèmes. L'EUCAST ne donne des critères d'interprétation que pour la pénicilline (11). Les GBS ne produisant pas de b-lactamase, l'addition d'un inhibiteur de b-lactamase n'ajoute aucun bénéfice.

L'érythromycine peut être utilisée pour la détermination de sensibilité à l'azithromycine, clarithromycine et roxithromycine. La détection d'une résistance inductible à la clindamycine peut être réalisée par un test d'antagonisme de l'activité de la clindamycine en présence d'un macrolide. Pour réaliser ce test, placer des disques d'érythromycine et de clindamycine à 14-16 mm de distance (bord à bord) et rechercher un antagonisme (D test). Si un antagonisme est détecté, une résistance de type inductible est rapportée mais le commentaire suivant pourrait être ajouté: « *La clindamycine pourrait être utilisée pour un traitement court ou pour des infections peu sévères de la peau et des tissus mous car le développement d'une résistance constitutive est peu probable pendant ce type de traitement* »

Faut-il systématiquement réaliser un antibiogramme sur les isolats de streptocoques du groupe B mis en évidence lors d'un dépistage de colonisation prénatale ?

En Belgique, afin de réduire le nombre de cas de femmes colonisées par GBS et allergiques à la pénicilline pour lesquels la sensibilité à la clindamycine n'a pas été déterminée, les nouvelles recommandations du Conseil Supérieur de la Santé (publication attendue au premier semestre 2015) proposeront de déterminer systématiquement les sensibilités à la pénicilline, l'érythromycine et à la clindamycine pour toutes les souches de GBS mises en évidence sur des prélèvements anténataux.

P.Melin (CHU de Liège, Centre National de Référence de Streptococcus agalactiae)

Références

1. Anthony BF, Okada DM, Hobel CJ. Epidemiology of group B streptococcus: longitudinal observation during pregnancy. *J Infect Dis* 1978;**137**:524-30
2. Baker C. Group B streptococcal infections. In: Stevens DL, Kaplan EL, eds, *Streptococcal infections*. New York, NY: Oxford University Press, 2000; p.222–237.
3. Schuchat A, 1999. Group B streptococcus. *Lancet* **353**:51-6
4. Streptococcal infections. In *Streptococcal Infections – Clinical aspects, Microbiology, and molecular pathogenesis*, Edited by Steves DL and Kaplan EL, Oxford University Press 2000 ; 221-37
5. Sendi P, Johansson L, Norrby-Teglund A. Invasive Group B Streptococcal Disease in Non-pregnant Adults: A Review with Emphasis on Skin and Soft-tissue Infections. *Infection* 2008, **36**:100–111
6. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal Group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR* 2010; 59 (RR-10): 32.
7. Superior Health Council. Guidelines from the Belgian Health Council, 2003 (SHC 7721): Prevention of perinatal group B streptococcal infections. Brussels, Belgium: Service Public Federal Sante publique, Securite de la Chaine alimentaire et Environnement, 2003 (In English, in French, in Dutch).
8. G. C. Di Renzo, P. Melin, A. Berardi, et Al. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014 August 27 : 1–17 (Epub ahead of print)
9. Melin P, Efstratiou A. [Group B streptococcal epidemiology and vaccine needs in developed countries.](#) *Vaccine*. 2013 Aug 28;31 Suppl 4:D31-42. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.05.012. Review.
10. Bellais S, Six A, Fouet A, Longo M, Dmytruk N, Glaser P, Trieu-Cuot P, Poyart C. Capsular switching in group B streptococcus CC17 hypervirulent clone: a future challenge for polysaccharide vaccine development. *J Infect Dis* 2012;206:1745-52.
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014. <http://www.eucast.org>."
12. CLSI – *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Twenty-Third Informational Supplement*. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013
13. Kimura K, Suzuki S, Wachino J, et al. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2008, **52**:2890-2897
14. Dahesh S, Hensler ME, Van Sorge NM, Gertz RE, Schrag SN, Zet V and Beall BW. Point Mutation in the Group B Streptococcal *pbp2x* Gene Conferring Decreased Susceptibility to β -Lactam Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, **52**:2915–2918
15. Kimura K, Wachino J, Kurokawa H. et al. Practical Disk Diffusion Test for Detecting Group B Streptococcus with Reduced Penicillin Susceptibility. *J Clin Microbiol* 2009, **47**: 4154–4157
16. Sacheli R et Melin P. Centre National de Référence *Streptococcus agalactiae* – *Rapport d'activités 2012*
17. Melin P. Table 3O Resistance of *Streptococcus agalactiae* in Belgium. In: SBIMC-BVIKM ed. *The Sanford guide to antimicrobial therapy*, 23rd edition of the Belgian/Luxembourg Version 2012-2013. Brussels, Belgium: Societe Belge d'Infectiologie et de Microbiologie Clinique – Belgische Vereniging voor Infectiologie en Klinische Microbiologie, 2012: 178-9.

18. Melin, P., Sacheli, R., Sarlet, G., Meex, C., Descy, J., Huynen, P., & Hayette, M.-P. (2013). Surveillance of serotypes and antimicrobial susceptibility profile in group B streptococcus (GBS) in Belgium. *Program and Abstract of the 53rd Intersciences Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, USA: ASM. Washington, USA: ASM.*
19. Descy, J., Ackermans, Y., Boreux, R., Meex, C., Rémont, L., Rodriguez Cuns, G., & Melin, P. (2012). Phenotypical and genotypical surveillance of macrolide and lincosamide resistance in group B streptococcus in Belgium. *Program and Abstract of the 52nd Intersciences Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, USA: ASM*
20. Malbruny B., Werno AM., Murdoch DR., Leclercq R. and Cattoir V. Cross-Resistance to Lincosamides, Streptogramins A, and Pleuromutilins Due to the *Isa(C)* Gene in *Streptococcus agalactiae* UCN70. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011: 1470–1474
21. Descy J., Trus C., Verlaine O., Kovacs S., Meex C., Amoroso A., Joris B. and Melin P. (2014) First detection of *IsaC* gene in clinical isolates of clindamycin-resistant erythromycin-susceptible *Streptococcus agalactiae* from Belgium. *XIX Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, Program and Abstract book. (#100)*
22. Kawamura Y, Fujiwara H, Mishima N, Tanaka Y, Tanimoto A, Ikawa S, et al. First *Streptococcus agalactiae* isolates highly resistant to quinolones, with point mutations in *gyrA* and *parC*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003, 47:3605–9
23. Ki M. Srinivasan U, Oh KY., Kim MY., Shin JH., Hong HL. Dang T., Britt Z. Foxman B. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31:3199-3205 DOI 10.1007/s10096-012-1685-8
24. Hui Wang et al. High Prevalence of Fluoroquinolone-Resistant Group B Streptococci among Clinical Isolates in China and Predominance of Sequence Type 19 with Serotype III. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57:1538-41
25. Da Cunha V, Davies MR, Douarre PE, Rosinski-Chupin I, Margarit I, Spinali S, Perkins T, Lechat P, Dmytruk N, Sauvage E, Ma L, Romi B, Tichit M, Lopez-Sanchez MJ, Descorps-Declere S, Souche E, Buchrieser C, Trieu-Cuot P, Moszer I, Clermont D, Maione D, Bouchier C, McMillan DJ, Parkhill J, Telford JL, Dougan G, Walker MJ; DEVANI Consortium, Holden MT, Poyart C, Glaser P. *Streptococcus agalactiae* clones infecting humans were selected and fixed through the extensive use of tetracycline. *Nat Commun*. 2014 Aug 4;5:4544. doi: 10.1038/ncomms5544
26. Villar HE., Jugo MB. Emergence of high-level resistance to gentamicin and streptomycin in *Streptococcus agalactiae* in Buenos Aires, Argentina (Emergencia de *Streptococcus agalactiae* con resistencia de alto nivel a gentamicina y estreptomycin en Buenos Aires, Argentina) *Rev Esp Quimioter* 2013;26:112-115.

2.3 Culture M/12190 *Actinobaculum schaalii*

Cette souche a été envoyée comme souche didactique. 76 des 161 laboratoires l'ont identifiée correctement jusqu'au niveau de l'espèce.

Taxonomie

Actinobaculum schaalii est apparenté à *Actinomyces* et *Arcanobacterium* species. Le genre a été décrit pour la première fois en 1997 sur base d'examen phylogénétique. Les autres espèces du genre sont *Actinobaculum suis* (uniquement pathogène pour le porc et pas pour l'homme) et *Actinobaculum urinale* (pathogène humain).

Identification

Actinobaculum schaalii est une bactérie à Gram positif, qui peut être coccoïde ou bacillaire, parfois légèrement courbée et parfois légèrement branchée. Elle est catalase négatif, n'est pas alcoolo-acido-résistante et est facultativement anaérobie. Après une incubation de 48 heures sur gélose au sang sous 5 % CO₂ ou en anaérobiose, on retrouve souvent 2 types de colonies grises de tailles différentes. Les résultats des tests biochimiques, effectués par API ZYM, API Coryne API rapid ID 32 STREP et API rapid ID 32A ont été décrits dans la publication originale mais ne sont pas aptes à différencier l'espèce *schaalii* des autres espèces. Avec le RAPID ID 32 A on obtient un code 04XXX77717 (X signifie que chaque réaction est possible pour les tests en question) mais l'identification *Actinobaculum schaalii* n'est pas reprise dans la liste des identifications possibles. 5 participants ont répondu *Gardnerella vaginalis*. Ceci correspond à l'expérience de notre propre laboratoire quand nous avons identifié les souches d'*Actinobaculum schaalii* avec l'API Coryne. Actuellement on conseille d'effectuer l'identification par spectrométrie de masse Maldi-tof ou par séquençage du gène de l'ARNr 16S. Si on ne dispose pas de ces techniques, on conseille pour les isolats pertinents pour lesquels on suspecte la présence d'*Actinobaculum schaalii*, d'envoyer les souches à un autre laboratoire pour identification. Selon notre enquête ça ne se fait pas systématiquement aujourd'hui.

Clinique

Depuis la description de l'espèce plusieurs rapports et articles de revue ont été publiés qui montrent qu'*Actinobaculum schaalii* est un pathogène important pour l'homme. La plupart des premiers cas cliniques publiés concernaient des infections urinaires avec hémocultures positives. Les cas typiques sont: les patients avec des infections urinaires à répétition, qui ne répondent pas au traitement au cotrimoxazole ou à la ciprofloxacine. *Actinobaculum schaalii* peut également être retrouvé comme commensal des muqueuses urogénitales sans plaintes. Une contamination de l'urine sans infection est donc possible. Une infection est habituellement accompagnée par une augmentation du nombre de globules blancs dans l'urine. Plusieurs publications ont décrit d'autres infections par *Actinobaculum schaalii*, telle que cellulite, ostéomyélite, spondylodiscite et endocardite. *Actinobaculum schaalii* est maintenant considéré comme un agent causal important du syndrome de Fournier.

Diagnostic d'une infection urinaire par Actinobaculum schaalii

Tout d'abord il faudra y penser. *Actinobaculum schaalii* doit être repris dans la liste des uropathogènes possibles qu'on recherche dans le laboratoire.

Chez les patients avec des infections urinaires répétitives ou des infections urinaires qui ne répondent pas à un traitement par le cotrimoxazole ou la ciprofloxacine, il faudrait effectuer une coloration de Gram et une culture sur gélose au sang avec une incubation de 48 heures sous 5% de CO₂.

Dans les meilleurs des cas on effectue pour chaque patient avec suspicion d'une infection urinaire une culture de l'urine sur gélose au sang avec une incubation de 48 heures sous 5% de CO₂. Il faut surtout suspecter la présence d'*Actinobaculum schaalii* si la coloration de Gram de l'urine montre de petits bacilles à Gram positif.

L'identification se fait par Maldi-tof ou séquençage du gène de l'ARNr16S.

Sensibilité aux antibiotiques et traitement

Actinobaculum schaalii est résistant au cotrimoxazole et à la ciprofloxacine. On conseille un traitement par beta-lactamines.

Références

Lawson P.A., Falsen E., Akervall E., Vandamme P., Collins M.D. Characterization of some Actinomyces-like isolates from human clinical specimens: reclassification of Actinomyces suis (Soltys and Spratling) as Actinobaculum suis comb. nov. and description of Actinobaculum schaalii sp. nov. , Internationaional Journal of Systematic Bacteriology, July 1997; 47 (3): 899-903

Tuuminen T., Suomala P., Harju I, Actinobaculum schaalii:identification with MALDI-TOF, New Microbe New Infect 2014 (2):38–41

Bank S. Jensen A., Hansen T.M., Soby K.M., Prag J., Actinobaculum schaalii, a common uropathogen in elderly patients, Denmark, Emerg. Infect. Dis. 2010 Jan;16(1):76-80.

Cattoir V., Actinobaculum schaalii: review of an emerging uropathogen. J. Infect. 2012 Mar;64(3):260-7

Bequelin C., Genne D., Varca A. Tritten ML, Siegrist H.H., Jatton K. Lienhard R., Actinobaculum schaalii: clinical observation of 20 cases. Clin. Microbiol. Infect. 2011 Jul; 17(7): 1027-31

Olsen A.B., Andersen P.K., Bank S. Soby K.M., Lund L. Prag J., Actinobaculum schaalii, a commensal of the urogenital area, BJU Int. 2013 Aug;112(3):394-7.

Vanden Bempt I, Van Trappen S, Cleenwerck I, De Vos P., Camps K., Celens A., Van De Vyvere M., Actinobaculum schaalii causing Fournier's gangrene J. Clin Microbiol. 2011 Jun;49(6):2369-71.

Bank S., Cattoir V., Lienhard R., Grisold A.J., Thomsen T. Reinhard M.B, Olsen A.B., Christensen J.J., Soby K.M., Prag J. Recommendations for optimal detection and identification of Actinobaculum schaalii in urine, APMIS 2014, 122: 1043–1044

Cattoir V., Varca A. Greub G. Prod'hom G. Legrand P. Lienhard R., In vitro susceptibility of Actinobaculum schaalii to 12 antimicrobial agents and molecular analysis of fluorquinolone resistance. J. Antimicrob. Chemother. 2010 Dec;65(12):2514-7

Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, eight ed., 2015, Elsevier Saunders

2.4 Culture M/12196 *Listeria monocytogenes*

Nous référons aux rapports des enquêtes précédentes concernant les *Listeria monocytogenes*; les 3 dernières étaient 2011/2 (M/11028), 2007/3 (M/6151) et 2001/3 (M/3029).

Nous voulons rappeler que ce germe doit être déclaré et qu'il faut l'envoyer au centre de référence.

III. Résultats des identifications

161 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse: 158 laboratoires belges et luxembourgeois, 2 laboratoires étrangers et un laboratoire d'une firme. Ces 3 derniers n'ont pas été pris en compte dans l'analyse des résultats.

Les identifications correctes ou acceptables sont soulignées.

A l'occasion de cette enquête existait pour la 1^e fois la possibilité de répondre via le Toolkit. 78.5% des laboratoires ont répondu de cette façon. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le Toolkit offre l'avantage d'éviter certaines erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

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

3.1 Culture M/4395 *Staphylococcus aureus* (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Patient de 45 ans avec une fièvre. Un flacon d'hémoculture sur 4 est positif. Nous vous demandons de répondre l'identification jusqu'au niveau que vous répondez en routine. »

<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	154	97.5%
Absence de pathogènes ¹	1	
Sous-traité	3	

¹ Ce laboratoire a clarifié sa réponse par la remarque suivante: « *S. aureus* identifié mais considéré non pathogène car 1 flacon sur 4. Prélèvement à refaire si la clinique persiste. »

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	2
Dans un but épidémiologique + autre raison non précisée	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	5
La raison pour l'envoi n'est pas précisée	1
N'est pas envoyé	149
Total	158

¹ Deux laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'antibiogramme (un des deux a mentionné explicitement la confirmation de la résistance à la méthicilline par biologie moléculaire).

3.2 Culture M/11521 Streptococcus agalactiae (hémoculture)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Patiente de 22 ans enceinte avec une fièvre. Six flacons d'hémoculture positifs. Nous vous demandons de répondre l'identification jusqu'au niveau que vous répondez en routine. »

<u>Streptococcus agalactiae</u>	153	96.8%
<u>Streptocoque β-hémolytique de groupe B</u>	1	0.6%
<u>Streptococcus pyogenes</u>	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 ¹	8
Dans un but épidémiologique + sérotypage	1
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme + autre raison non précisée	1
Dans un but épidémiologique	36
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	9
La raison pour l'envoi n'est pas précisée	1
N'est pas envoyé	101
Pas de réponse à la question	1
Total	158

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

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

3.3 Culture M/12190 *Actinobaculum schaalii* (urine)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Un homme de 79 ans est admis à l'hôpital pour cause de calculs rénaux ; à l'examen direct on remarque 150 globules blancs/ μ L et 45 globules rouges/ μ L dans son urine. On décide d'effectuer une culture d'urine. Nous vous demandons de répondre l'identification jusqu'au niveau où vous répondez en routine. Il s'agit d'une souche didactique. »

<i>Actinobaculum schaalii</i>	76
<i>Actinobaculum species</i>	5
<i>Actinomyces meyeri</i>	9
<i>Actinomyces turicensis</i>	2
<i>Actinomyces bernardiae</i>	1
<i>Actinomyces species</i>	3
<i>Aerococcus urinae</i>	1
<i>Aerococcus viridans</i>	1
<i>Aerococcus species</i>	2
<i>Alloscardovia omnivolens</i>	1
<i>Arcanobacterium bernardiae</i>	1
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1
<i>Arcanobacterium species</i>	3
<i>Corynebacterium cystitidis</i>	1
<i>Corynebacterium species</i>	1
<i>Facklamia species</i>	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5
<i>Globicatella sanguinis</i>	1
<i>Kocuria kristinae</i>	2
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2
Bacilles à Gram positif	21
Bacilles à Gram positif corynéformes	5
Bacilles à Gram variable corynéformes	1
Coccobacilles à Gram positif	6
Coques à Gram positif	2
« Autres » germes (non précisés)	1
Pas de croissance	1
Pas de réponse	1

Un certain nombre de laboratoire ont mentionné explicitement pour l'*Actinobaculum schaalii* le pouvoir pathogène de ce germe dans les infections urinaires.

Un certain nombre de laboratoire ont mentionné pour les bacilles à Gram positif les résultats des différents tests biochimiques qu'ils ont effectués.

Les laboratoires ont également pourvu certaines des autres réponses de différentes remarques.

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	2
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ²	71
N'est pas envoyé	84
Pas de réponse à la question	1
Total	158

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

² Quatre laboratoires ont mentionné qu'il ne s'agit que de la confirmation de l'identification

3.4 Culture M/12196 *Listeria monocytogenes* (pustules cutanées)

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes: « Un vétérinaire délivre une vache d'un veau mort. Un jour plus tard, il a des plaques qui le démangent sur ses avant-bras, qu'il désinfecte avec de l'hexomédine transcutané. Le jour suivant il souffre d'une légère fièvre continue (37.2 – 37.9 °C), une sensation grippale, un mal de tête lancinant et les bras qui le démangent et sont douloureux. Le lendemain les plaques se transforment en pustules qui sont douloureuses et qui éclatent. Il contacte alors son généraliste qui prélève un échantillon des pustules pour examen microbiologique. Un traitement d'amoxicilline-acide clavulanique est alors commencé. Nous vous demandons de répondre l'identification jusqu'au niveau que vous répondez en routine. »

Nous remercions le Ph. Biol. M. Stalpaert du laboratoire AML de nous avoir fourni l'échantillon et les informations cliniques nécessaires.

<u><i>Listeria monocytogenes</i></u>	148	93.7%
<i>Listeria species</i>	5	
<i>Listeria innocua</i>	2	
<i>Pasteurella species</i>	1	
Sous-traité	2	

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

Réponse	N labos
Dans un but épidémiologique + confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme ¹	17
Dans un but épidémiologique + sérotypage	2
Dans un but épidémiologique + enquête sanitaire	1
Dans un but épidémiologique	65
Confirmation de l'identification et/ou l'antibiogramme	11
La raison pour l'envoi n'est pas précisée	1
N'est pas envoyé	61
Total	158

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

IV. Antibiogramme

Un aperçu général des résultats est présenté au début de la discussion. Dans le traitement ultérieur les résultats sont analysés selon les méthodes utilisées.

L'antibiogramme type a été réalisé sur base des résultats des différents experts et des centres de référence respectifs.

Nombre de participants = 155 pour l'échantillon M/4395 et 153 pour l'échantillon M/11521.

Les trois laboratoires qui sous-traitent les 2 échantillons n'ont évidemment pas effectué d'antibiogramme. Pour le M/11521, 2 laboratoires ont mentionné ne pas effectuer d'antibiogramme en routine ; un des 2 a mentionné que ceci s'effectue pourtant bien en cas d'allergie à la pénicilline, l'autre que *S. agalactiae* est accompagné de la réponse standard « Sensible à la pénicilline ».

Le laboratoire ayant répondu pour l'échantillon M/4395 que le *S. aureus* est considéré comme non-pathogène a bien effectué et rapporté l'antibiogramme.

4.1 Culture M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

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

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

Tableau 4.1.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*):

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline		138	120	-	18	-
Oxacilline	S	133	132	-	-	1 ¹
Céfoxitine	S	121	120	-	-	1 ²
Gentamicine	S	144	144	-	-	-
Amikacine ³	S	2	2	-	-	-
Vancomycine	S	145	143	-	1	1 ⁴
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	66	63	-	-	3 ⁵
Lévofloxacine	S	66	66	-	-	-
Moxifloxacine	S	38	38	-	-	-
Ofloxacine	S	4	4	-	-	-
Quinolone ⁶	S	1	1	-	-	-

¹ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (19 mm, Neosensitabs charge nouvelle) mais a mentionné « pas de zone EUCAST: n'est pas utilisé en routine » (pour la céfoxitine ce laboratoire a répondu « S »).

² Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (29 mm, disques en papier lus avec le Sirscan) et les résultats brut et expert (tous les deux « S ») mais a laissé ouvert le résultat final (pour l'oxacilline ce laboratoire a répondu « S »).

³ Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'amikacine au lieu de la gentamicine.

⁴ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (15 mm, disques en papier) mais a donné la remarque: « comme le diamètre est ≥ 7 , il faut faire la CMI (non effectué dans notre labo) ».

- ⁵ Trois laboratoires ont laissé ouvert le résultat final: un a mentionné le diamètre (29 mm, disques en papier lus avec le Sirscan) et les résultats brut et expert (tous les deux « S »); le deuxième a mentionné le diamètre (23, disques en papier) et le résultat brut (« S ») et le troisième n'a mentionné que le diamètre (28 mm, disques en papier).
- ⁶ Un laboratoire n'a pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Nous continuons à insister pour que vous indiquiez le nom de la quinolone utilisée: ceci profite à l'analyse des résultats.

Les résultats repris dans les tableaux 4.1.2. à 4.1.11. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

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

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

Tableau 4.1.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline ¹	(16)				14	-	2	-
	6	1 U	29	20 – 31	4	-	2	-
	10	6 ²	33.5	30 – 46	10	-	-	-
Oxacilline	5 (5)	1	24	20 – 27	5	-	-	-
Céfoxitine	26 (26)	30	28.5	22 – 35	26	-	-	-
Gentamicine	15 (16)	10	24	20 – 28	16	-	-	-
Vancomycine	(7) ³				6	-	-	1 ⁴
Quinolone								
Ciprofloxacine	9 (9)	5	26	23 – 30	7	-	-	2 ⁵
Lévofloxacine	5 (5)	5	28	23 – 31	5	-	-	-
Moxifloxacine	3 (4)	5	32	29 – 32	4	-	-	-
Ofloxacine	1 (1)	5	28	-	1	-	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

² 6 µg = 10 U

³ Les laboratoires ont utilisé 3 charges différentes (5, 30 et 70 µg).

⁴ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (15 mm) mais a donné la remarque: « comme le diamètre est >= 7, il faut faire la CMI (non effectué dans notre labo) ».

⁵ Deux laboratoires ont laissé ouvert le résultat final: un a mentionné le diamètre (23) et le résultat brut (« S ») et le deuxième n'a mentionné que le diamètre (28 mm).

Tableau 4.1.3. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

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

Tableau 4.1.4. Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

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

Tableau 4.1.5. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline ¹	(6)				5	-	1	-
	4	1 U	32	28 – 34	3	-	1	-
	10	6 ²	35	32 – 38	2	-	-	-
Oxacilline	2 (2)	1	24	24 – 24	2	-	-	-
Céfoxitine	7 (7)	30	29	23 – 36	6	-	-	1 ³
Gentamicine	7 (7)	10	26	22 – 34	7	-	-	-
Vancomycine	(3) ⁴				3	-	-	-
Quinolone								
Ciprofloxacine	3 (3)	5	28	26 – 29	2	-	-	1 ⁵
Lévofloxacine	1 (1)	5	30	-	1	-	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	34.5	30 – 39	2	-	-	-
Ofloxacine	1 (1)	5	27	-	1	-	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

² 6 µg = 10 U

³ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (29 mm) et les résultats brut et expert (tous les deux « S ») mais a laissé ouvert le résultat final (pour l'oxacilline ce laboratoire a répondu « S »).

⁴ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes (5 et 30 µg).

⁵ Un laboratoire a laissé ouvert le résultat final: il a mentionné le diamètre ((29 mm) et les résultats brut et expert (tous les deux « S »)

Dans les tableaux 4.1.6. et 4.1.7. nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les résultats obtenus avec les charges nouvelles (« new »), lus respectivement manuellement et avec l'appareil Sirscan. Uniquement pour les disques lus manuellement, il y avait assez de participants pour déterminer de façon statistiquement significative les médianes, minima et maxima.

Seuls 3 laboratoires ont utilisés les disques Neosensitabs avec charges classiques Neosensitabs (« old ») (tous les trois lus manuellement): un laboratoire les a utilisés pour la pénicilline et deux pour la céfoxitine; tous les trois ont obtenu un résultat « S ».

Tableau 4.1.6. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (nouvelle charge) pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Pénicilline ¹	(9)				8	-	1	-
	4	1 U	29	26 – 35	3	-	1	-
	4	6 ²	33.5	26 – 45	4	-	-	-
Oxacilline	5 (7)	1	26	17 – 28	6	-	-	1 ³
Céfoxitine	11 (12)	30	30	22 – 40	12	-	-	-
Gentamicine	7 (8)	10	23	7 – 25	8	-	-	-
Vancomycine	(7) ⁴				6	-	-	1 ⁵
Quinolone								
Ciprofloxacine	5 (6)	5	27	24 – 32	6	-	-	-
Lévofloxacine	3 (3)	5	28	28 – 34	3	-	-	-
Moxifloxacine	1 (1)	5	24	-	1	-	-	-

¹ Les laboratoires ont utilisé 3 charges différentes (en plus des 2 charges mentionnées dans le tableau, un laboratoire a mentionné la charge « 5 »).

² 6 µg = 10 u

³ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (19 mm, nouvelle) mais a mentionné « pas de zone EUCAST: n'est pas utilisé en routine » (pour la céfoxitine ce laboratoire a répondu « S »).

⁴ Les laboratoires ont utilisé 3 charges différentes (5, 30 et 70 µg).

⁵ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (18 mm) et les résultats brut et expert (tous les deux « S ») mais a donné la remarque: « Pas d'interprétation possible de la vancomycine par diffusion si sensible (seulement en cas de croissance jusqu'au bord du disque on peut conclure R). Il faut donc toujours déterminer la valeur CMI ». Ce laboratoire a déterminé la CMI avec comme résultat « S ».

Tableau 4.1.7. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (nouvelle charge) pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

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

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

Tableau 4.1.8. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultats	Valeur CMI (mg/L)
Pénicilline	4	4 x s	1 X 0.023 mg/L; 3 x 0.032 mg/L
Oxacilline	1	1 X s	0.19 mg/L;
Gentamicine	2	2 x S	0.016 mg/L; 0.25 mg/L
Vancomycine	14	14 x S	10 x 1.5 mg/l; 4 x 2 mg/L
Ciprofloxacine	1	1 x S	0.5 mg/L

Deux laboratoires ont utilisé le MICE-test pour déterminer la sensibilité à la vancomycine; tous les deux ont obtenu le résultat « S » (avec les valeurs CMI respectives de 1.5 et 2 mg/L).

Un seul laboratoire a utilisé le MIC test Strip pour déterminer la sensibilité à la vancomycine avec comme résultat « S » (valeur CMI 1 mg/L).

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.1.9.

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon 4395 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Vitek 2						Vitek 2 compact					
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)		
	S	I	R			S	I	R				
Pénicilline	50	-	9	0.06	29 (59)	29	-	4	0.06	20 (33)		
Oxacilline	62	-	-	≤0.25	42 (62)	33	-	-	≤0.25	16 (33)		
Céfoxitine	35	-	-	‡	(35)	16	-	-	‡	(16)		
Gentamicine	60	-	-	≤0.5	60 (60)	34	-	-	≤0.5	34 (34)		
Vancomycine	59	-	-	1	36 (59)	33	-	1	1	22 (34)		
Quinolone												
Ciprofloxacine	19	-	-	≤0.5	19 (19)	13	-	-	≤0.5	13 (13)		
Lévofloxacine	36	-	-	≤0.12	34 (36)	17	-	-	≤0.12	13 (17)		
Moxifloxacine	21	-	-	≤0.25	21 (21)	3	-	-	≤0.25	3 (3)		
Quinolone	-	-	-	-	-	1	-	-	≤0.12	1 (1)		

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

Dans la plupart des cas la « valeur CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur de CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pénicilline 27 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.03 mg/L et 3 laboratoires une CMI de 0.12 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 10 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.03 mg/L et 3 laboratoires une CMI de 0.12 mg/L
- pour l'oxacilline 16 laboratoires ont mentionné une CMI de 0.5 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 1 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI de 0.05 mg/L, 12 laboratoires une CMI de 0.5 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 1 mg/L
- pour la vancomycine 19 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.5 mg/L et 4 laboratoires une CMI de 2 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 11 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.5 mg/L et 1 laboratoire a mentionné une CMI ≥ 32 mg/L (il s'agit du laboratoire qui a répondu « R »)
- pour la lévofloxacine 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.25 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.1 mg/L, 2 laboratoires une CMI de 0.25 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤ 0.5 mg/L

Deux laboratoires ont utilisé la méthode ATB pour déterminer la sensibilité à la pénicilline, l'oxacilline, la céfoxitine, la gentamicine, la vancomycine et la lévofloxacine; un des deux a également déterminé la sensibilité à l'ofloxacine. Tous les résultats étaient « S ».

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.1.10.

Tableau 4.1.10. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

Antibiotique	Résultat			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labs ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Pénicilline	11	-	2	≤ 0.625	6 (13)
Oxacilline	17	-	-	≤ 0.25	15 (17)
Céfoxitine	17	-	-	≤ 2	17 (17)
Gentamicine	17	-	-	≤ 1	17 (17)
Vancomycine	17	-	-	1	8 (17)
Quinolone					
Ciprofloxacine	10	-	-	0.25	9 (10)
Moxifloxacine	9	-	-	≤ 0.125	9 (9)

Dans la plupart des cas la « valeur CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur de la CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour la pénicilline 1 laboratoire a mentionné une CMI de 0.032 mg/L, 1 laboratoire une CMI < 0.06 mg/L, 3 laboratoires une CMI de 0.125 mg/L et 2 laboratoires une CMI > 0.25 (il s'agit des 2 laboratoires qui ont répondu « R »)
- pour l'oxacilline 3 laboratoires ont mentionné une CMI de 1 mg/L
- pour la vancomycine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.125 mg/L, 1 laboratoire une CMI < 1 mg/L et 7 laboratoires une CMI de 2 mg/L
- pour la ciprofloxacine 1 laboratoire a mentionné une CMI de 0.5 mg/L

Les résultats obtenus avec l'appareil Microscan sont repris dans le tableau 4.1.11.

Tableau 4.1.11. Résultats obtenus avec l'appareil Microscan pour l'échantillon M/4395 (*Staphylococcus aureus*)

<i>Antibiotique</i>	<i>Nombre d'utilisateurs</i>	<i>Résultat</i>		
		S	I	R
Pénicilline	3	3	-	-
Oxacilline	3	3	-	-
Céfoxitine	3	3	-	-
Gentamicine	2	2	-	-
Vancomycine	3	3	-	-
Quinolone				
Lévofloxacine	2	2	-	-
Moxifloxacine	1	1	-	-

Il reste à mentionner que

- 3 laboratoires ont considéré que l'oxacilline est sensible sur base du résultat de la céfoxitine
- 1 laboratoire (utilisateur du Vitek 2) a mentionné que le résultat « S » pour la ciprofloxacine est « déduit »

La plupart des laboratoires n'ont pas modifié le résultat brut. Cependant quelques laboratoires ont changé le résultat « S » en « R » pour la pénicilline :

- § Neosensitabs (charge nouvelle) : 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
- § Vitek 2: 8 labos
- § Vitek 2 compact: 2 labos

4.2 Culture M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

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

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

Un certain nombre de laboratoires ont donné une remarque:

- Un laboratoire a mentionné ne pas effectuer d'antibiogramme en routine: « Pour les streptocoques β -hémolytiques nous mentionnons qu'ils sont toujours sensibles à la pénicilline. Seul en cas où la demande mentionne qu'il s'agit d'un patient allergique à la pénicilline, nous effectuons un antibiogramme. »
- Un laboratoire a mentionné qu'en routine l'ampicilline n'est pas testée
- Pour les macrolides deux laboratoires ont mentionné qu'en routine l'érythromycine n'est pas rapportée, deux laboratoires ont mentionné que cet antibiotique n'est pas testé, un laboratoire qu'il a été supprimé par le Vitek et deux laboratoires que la clarithromycine a été testé au lieu de l'érythromycine. Un laboratoire a mentionné "L'érythromycine est probablement quand-même appropriée pour le traitement. Le Vitek 2 ne connaît pas ce phénotype et fait une correction sur base d'une résistance constitutive MLS_B avec la mention que la valeur CMI de l'érythromycine est 2 dilutions trop basse pour ce phénotype."
- Deux laboratoires ont mentionné la suspicion de la présence d'une résistance (constitutive) MLS_B ; un autre laboratoire a mentionné l'absence d'une résistance MLS_B ; deux laboratoires ont suggéré la présence d'un gène LSA; deux laboratoires ont mentionné avoir effectué le test D-zone (un des deux a mentionné que c'est non contributif car l'érythromycine est sensible ; l'autre laboratoire a mentionné que ce test est positif); un laboratoire a accentué la discordance entre les résultats de l'érythromycine et la clindamycine.

Tableau 4.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Ampicilline	S	125	124	-	1	-
Pénicilline ¹	S	23	23	-	-	-
Erythromycine	S	147	91	5	51	-
Clarithromycine ²	S	2	2	-	-	-
Clindamycine	R	152	1	-	151	-
Vancomycine	S	133	131	-	2	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	11	7	1	3	-
Lévofloxacine	S	79	77	-	2	-
Moxifloxacine	S	36	35	1	1	1 ³
Norfloxacine	S	3	2	-	1	-
Ofloxacine	S	4	3	1	-	-
Quinolone4	S	1	1	-	-	-

- ¹ Vingt-trois laboratoires ont déterminé la sensibilité à la pénicilline au lieu de l'ampicilline.
- ² Deux laboratoires ont déterminé la sensibilité à la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.
- ³ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (25 mm, disques en papier lus avec le Sirscan) et les résultats brut et expert (tous les deux « S ») mais a laissé ouvert le résultat final.
- ⁴ Un laboratoire n'a pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

Nous continuons à insister pour que vous indiquiez le nom de la quinolone utilisée: ceci profite à l'analyse des résultats.

Les résultats repris dans les tableaux 4.2.2. à 4.2.11. sont les résultats finaux (après modification éventuelle sur base des règles d'expertise).

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

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

Tableau 4.2.2. Diamètres obtenus avec les disques en papier pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline ¹	(17)				17	-	-
	4	2	24	21 – 28	4	-	-
	11	10	29	25 – 32	10	-	-
Pénicilline	6 (7)	1	22	20 – 26	7	-	-
Erythromycine	43 (43)	15	25	19 – 32	37	1	5
Clarithromycine	2 (2)	15	25	24 – 26	2	-	-
Clindamycine ²	36 (39)	2	6.5	6 – 17	1	-	38
Vancomycine ³	(20)				20	-	-
	9	5	16	14 – 20	9	-	-
	10	30	20	13 – 23	10	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	3 (3)	5	22	21 – 22	3	-	-
Lévofloxacine	9 (9)	5	21	17 – 26	9	-	-
Moxifloxacine	7 (7)	5	25	18 – 30	7	-	-
Norfloxacine	2 (2)	10	15.5	13 – 18	2	-	-
Ofloxacine	2 (2)	5	17.5	15 – 20	1	1	-

- ¹ Les laboratoires ont utilisé 3 charges différentes (en plus des 2 charges mentionnées dans le tableau, un laboratoire a mentionné la charge « 25 »).
- ² En plus deux laboratoires ont mentionné un diamètre égal à « 0 ».
- ³ Les laboratoires ont utilisé 3 charges différentes (en plus des 2 charges mentionnées dans le tableau, un laboratoire a mentionné la charge « 70 »).

Tableau 4.2.3. Résultats obtenus avec l'appareil Osiris pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	2	2	-	-
Erythromycine	3	3	-	-
Clindamycine	3	-	-	3
Vancomycine	1	1	-	-
Quinolone				
Moxifloxacine	1	1	-	-
Ofloxacine	1	1	-	-

Tableau 4.2.4. Résultats obtenus avec l'appareil Adagio pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	1	1	-	-
Pénicilline	2	2	-	-
Erythromycine	4	4	-	-
Clindamycine	4	-	-	4
Vancomycine	4	4	-	-
Quinolone				
Lévofloxacine	2	2	-	-

Tableau 4.2.5. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques en papier pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)			
					S	I	R	*
Ampicilline ¹	(4)				3	-	1	-
	2	2	24.5	23 – 26	1	-	1	-
	2	10	34.5	32 – 37	2	-	-	-
Pénicilline	2 (2)	1	22.5	22 – 23	2	-	-	-
Erythromycine	8 (8)	15	23.5	19 – 28	4	-	4	-
Clindamycine	8 (8)	2	6	6 – 9	-	-	8	-
Vancomycine ²	(6)				6	-	-	-
	4	5	18.5	17 – 19	4	-	-	-
	2	30	21.5	20 – 23	2	-	-	-
Quinolone								
Lévofoxacine	3 (3)	5	21	21 – 22	3	-	-	-
Moxifloxacine	2 (2)	5	24	23 – 25	1	-	-	1 ³

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

² Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

³ Un laboratoire a bien mentionné le diamètre obtenu (25 mm.) et les résultats brut et expert (tous les deux « S ») mais a laissé ouvert le résultat final.

Dans les tableaux 4.2.6. et 4.2.7. nous mentionnons pour les disques Neosensitabs les résultats obtenus avec les charges nouvelles (« new »), lus respectivement manuellement et avec l'appareil Sirscan. Uniquement pour les disques lus manuellement, il y avait assez de participants pour déterminer de façon statistiquement significative les médianes, minima et maxima.

Seuls 3 laboratoires ont utilisés les disques Neosensitabs avec charges classiques Neosensitabs (« old ») (tous les trois lus manuellement): un laboratoire les a utilisés pour l'érythromycine (résultat « S ») et deux pour la lévofoxacine (tous les deux avec résultat « R »).

Tableau 4.2.6. Diamètres obtenus avec les disques Neosensitabs (nouvelle charge) pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs qui ont mentionné la charge (Nombre total)	Charge (µg/disque)	Diamètre médian	Valeurs extrêmes	Résultat (Nombre total)		
					S	I	R
Ampicilline ¹	(10)				10	-	-
	4	2	27.5	24 – 30	4	-	-
	6	10	33.5	24 – 44	6	-	-
Pénicilline	5 (6)	1	23	21 – 26	6	-	-
Erythromycine	18 (18)	15	27	21 – 34	17	-	1
Clindamycine ²	20 (21)	2	9.5	8 – 11	-	-	21
Vancomycine ³	(8)				7	-	1
	5	5	15	13 – 18	4	-	1
	2	30	19.5	19 – 20	2	-	-
Quinolone							
Ciprofloxacine	3 (3)	5	17	14 – 18	2	-	1
Lévofloxacine	3 (3)	5	20	20 – 21	3	-	-
Moxifloxacine	5 (5)	5	21	20 – 28	4	1	-
Norfloxacine	1 (1)	5	10	-	-	-	1

¹ Les laboratoires ont utilisé deux charges différentes.

² En plus un laboratoire a mentionné un diamètre égal à « 0 ».

³ Les laboratoires ont utilisé 3 charges différentes (en plus des 2 charges mentionnées dans le tableau, un laboratoire a mentionné la charge « 70 »).

Tableau 4.2.7. Résultats obtenus avec l'appareil Sirscan avec les disques Neosensitabs (nouvelle charge) pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Nombre d'utilisateurs	Résultat		
		S	I	R
Ampicilline	1	1	-	-
Erythromycine	7	6	-	1
Clindamycine	3	-	-	3
Vancomycine	4	3	-	1
Quinolone				
Ciprofloxacine	2	1	1	-
Lévofloxacine	2	2	-	-

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

Tableau 4.2.8. Résultats obtenus avec l'E test pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultats	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	2 x S	0.094 mg/L; 0.12mg/L
Pénicilline	4	4 x S	0.032 mg/L; 0.047 mg/L; 0.064 mg/L; 0.16mg/L
Erythromycine	3	3 x S	0.047 mg/L; 0.125 mg/L; 0.19 mg/L
Clindamycine	4	4 x R	2 x 6 mg/L; 8 mg/L; 16 mg/L
Vancomycine	6	6 x S	3 x 0.38 mg/L; 2 x 0.5 mg/L; 1 x CMI non mentionnée
Quinolone			
Lévofloxacine	1	1 x S	1 mg/L
Moxifloxacine	2	2 x S	2 x 0.125 mg/L

Les résultats obtenus avec le MICE test sont repris dans le tableau 4.2.9.

Tableau 4.2.9. Résultats obtenus avec le MICE test pour l'échantillon M/115219 (*Streptococcus agalactiae*).

Antibiotique	Nombre de laboratoires	Résultats	Valeur CMI (mg/L)
Ampicilline	2	2 x S	2 x 0.06 mg/L
Pénicilline	1	1 x S	0.12 mg/L
Vancomycine	1	1 x S	0.25 mg/L

Deux laboratoires ont utilisé le MIC test Strip pour déterminer la sensibilité à la pénicilline ; tous les 2 ont obtenus une valeur CMI de 0.047 mg/L avec comme interprétation « S »

Les résultats obtenus avec Vitek sont repris dans le tableau 4.2.10.

Tableau 4.2.10. Résultats obtenus avec Vitek pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Vitek 2					Vitek 2 compact				
	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)	Résultat final			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/L)	Nombre de labos ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R			S	I	R		
Ampicilline	50	-	-	≤0.25	48 (50)	25	-	-	≤0.25	22 (25)
Pénicilline	3	-	-	≤0.12	2 (3)	-	-	-	-	-
Erythromycine	13	2	26	≤0.25	21 (41)	4	2	15	≤0.25	12 (21)
Clindamycine	-	-	48	≥8	30 (48)	-	-	27	≥8	18 (27)
Vancomycine	51	-	-	≤0.5	51 (51)	28	-	-	≤0.5	28 (28)
Quinolone										
Ciprofloxacine	-	-	1	≤0.5	1 (1)	-	-	-	-	-
Lévofloxacine	37	-	-	≤1	32 (37)	21	-	-	≤1	16 (21)
Moxifloxacine	10	-	1	≤0.25	11 (11)	6	-	-	≤0.25	6 (6)
Quinolone	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1 (1)

Dans la plupart des cas la « valeur CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur de CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'ampicilline 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.06 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤ 0.12 mg/L pour le Vitek 2; pour le Vitek 2 compact 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.12 mg/L et 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.2 mg/L
- pour la pénicilline 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤ 0.06 mg/L et 1 laboratoire une CMI ≤ 0.12 mg/L pour le Vitek 2
- pour l'érythromycine 20 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.12 mg/L pour le Vitek 2 et 9 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact
- pour la clindamycine 18 laboratoires ont mentionné une CMI ≥ 1 mg/L pour le Vitek 2 et 9 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact
- pour la lévofloxacine 5 laboratoires ont mentionné une CMI ≤ 0.5 mg/L pour le Vitek 2 et 5 laboratoires la même valeur pour le Vitek 2 compact

Etant donné les résultats discordants obtenus par le Vitek pour l'érythromycine, la firme bioMérieux a examiné la souche et nous a communiqué les observations suivants:

« Nous avons répété les résultats des clients avec résultat ERY CMI ≤ 0.125 mg/L sur la carte AST-ST01 et nous confirmons que cette CMI est conforme (compris dans 1 double dilution de la CMI référence)

→ la CMI de l'érythromycine a été confirmée comme "sensible".

Le système expert AES est utilisé pour interpréter les valeurs de CMI du VITEK 2 MIC par antibiotique et de rendre possible la détection des mécanismes de résistance naturelle ou acquise.

Sur Vitek 2 chaque phénotype avec ERY S (CMI ≤ 0.125) et CLINDA R (CMI ≥ 1) a été décrit.

→ Avec les résultats : CMI clindamycine Résistante (CMI ≥ 1 mg/L) et test de Clindamycine inductible négatif,

L'AES fait une correction thérapeutique et biologique sur l'érythromycine vers le phénotype le plus probable (MLSB constitutive) correspondant à la 'politique du plus petit risque.

Dans la littérature le profil Ery S et Clin R est rare et plutôt en faveur du phénotype LSa

Par contre, ni le mécanisme, ni le gène ne sont connus pour l'espèce *Streptococcus agalactiae*.

La CMI obtenue sur Vitek 2 confirme le résultat attendu ery S , mais le Vitek 2 a donné 2 résultats : ERY S (CMI) et ERY R (expert). »

Deux laboratoires ont utilisé la méthode ATB pour déterminer la sensibilité à l'ampicilline, l'érythromycine, la vancomycine et la lévofloxacine. Tous les résultats étaient « S ».

Les résultats obtenus avec l'appareil Phoenix sont repris dans le tableau 4.2.11.

Tableau 4.2.11. Résultats obtenus avec l'appareil Phoenix pour l'échantillon M/11521 (*Streptococcus agalactiae*)

Antibiotique	Résultat			Valeur CMI mentionnée le plus fréquemment (mg/l)	Nombre de labs ayant mentionnés cette valeur CMI (Nombre total d'utilisateurs)
	S	I	R		
Ampicilline	5	-	-	≤0.25	4 (5)
Pénicilline	1	-	-	≤0.0625	1 (1)
Erythromycine	10	-	-	≤0.0625	9 (10)
Clindamycine	-	-	12	≥0.5	10 (12)
Vancomycine	10	-	-	≤0.5	10 (10)
Quinolone					
Lévofloxacine	2	-	-	≤0.5 et 1	1 et 1 (2)
Moxifloxacine	7	-	-	≤0.25	7 (7)

Dans la plupart des cas la « valeur CMI mentionnée le plus fréquemment » est la seule reprise par les participants. Il est à noter qu'un certain nombre de laboratoires ne mentionnent toutefois pas cette valeur de la CMI. Dans quelques cas, une valeur différente a été retrouvée :

- pour l'ampicilline 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤2 mg/L
- pour l'érythromycine 1 laboratoire a mentionné une CMI ≤0.125 mg/L
- pour la clindamycine 2 laboratoires ont mentionné une CMI ≥1 mg/L

Deux laboratoires ont utilisé le Microscan: un des deux pour l'ampicilline, l'érythromycine, la vancomycine, la ciprofloxacine (tous « S ») et la clindamycine (« R »); l'autre pour l'ampicilline, l'érythromycine (tous les 2 « S ») et la clindamycine (« R »).

Il reste à mentionner que

- 9 laboratoires ont considéré que l'ampicilline est sensible sur base du résultat de la pénicilline et qu'un laboratoire n'a pas mentionné quelle méthode il a utilisée pour considérer l'ampicilline comme sensible
- un laboratoire n'a pas mentionné quelle méthode il a utilisée pour considérer la ciprofloxacine comme résistante
- un laboratoire (utilisateur du Vitek 2) a mentionné que le résultat « S » pour l'ofloxacine est « déduit »

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

- L'érythromycine:
 - o S→I
 - § Vitek 2: 2 labos
 - § Vitek 2 compact: 2 labos
 - o S→R
 - § Disques en papier: 4 labos
 - § Disques en papier, lus avec Sirscan: 3 labos
 - § Neosensitabs (charges nouvelles) : 1 labo (également basé sur les résultats d'autres techniques)
 - § Neosensitabs (charges nouvelles), lus avec Sirscan: 1 labo
 - § Vitek 2: 25 labos (3 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - § Vitek 2 compact: 14 labos (2 laboratoires également basés sur les résultats d'autres techniques)
 - o I→R
 - § Disques en papier: 1 labo
 - § Disques en papier, lus avec Sirscan: 1 labo
 - § Vitek 2: 1 labo
- La clindamycine:
 - o S→R
 - § Disques en papier: 1 labo
- La ciprofloxacine:
 - o S→R
 - § Vitek 2: 1 labo
- La moxifloxacine
 - o S→R
 - § Vitek 2: 1 labo

5.1 Les échantillons

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

169 laboratoires ont participé à l'enquête.

Le pourcentage d'utilisateurs du toolkit était de 86.4%. Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter certaines erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

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

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

P/9033

Le patient est malade depuis 3 jours, début aigu avec fièvre élevée ; il se sentait mieux après. Le lendemain, il montre une poussée de fièvre, un malaise, mal de tête, mal à l'estomac et une myalgie. Il a vécu un mois en Côte d'Ivoire (dans un petit village), il est de retour en Belgique depuis une semaine. Il n'a pas pris de prophylaxie anti-malarienne, ni de mesures contre les moustiques.

P/12526

Un Ivoirien qui vit depuis longtemps en Belgique va visiter sa famille en Côte d'Ivoire et consulte son médecin 11 jours après son retour pour une fièvre qui à ce moment dure depuis 6 jours.

L'échantillon P/9033 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.

L'échantillon P/12526 contenait des trophozoïtes, des gamétocytes et des schizontes de *Plasmodium ovale*.

Etant donné qu'un certain nombre de laboratoires ont rencontré des problèmes lors de la coloration, l'échantillon P/9033 ne sera pas pris en compte pour l'évaluation. Une coloration de Giemsa (tampon pH 7.2) lors d'une évaluation préalable à l'ISP a permis de visualiser clairement les globules rouges et les parasites.

Les 2 résultats ont été confirmés par PCR.

Nous voudrions répéter que, en cas de doute ou d'endommagement d'un échantillon, il vous est toujours possible de demander au cours de l'enquête un 2^e échantillon.

5.2 Echantillon P/9033

Dix laboratoires ont laissé la réponse pour cette échantillon ouverte vu les difficultés qu'ils ont éprouvées pour visualiser les globules rouges et les parasites.

Les 159 autres laboratoires ont fourni 160 réponses. Un laboratoire a répondu « absence de parasites », 157 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 1 laboratoire a répondu la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.2.1. Résultats pour l'échantillon P/9033

Résultat	Nombre
<i>Plasmodium falciparum</i>	131
<i>Plasmodium</i> species	1
<i>Babesia</i> species	27
Absence de parasites	1
Total	160

Le laboratoire qui a répondu la présence de 2 parasites, a mentionné « *P. falciparum* + *Babesia* species ». Il a également mentionné qu'en routine il utilise aussi les résultats des tests rapides pour arriver à une conclusion.

Quatre laboratoires qui ont répondu *Babesia* sp., ont mentionné qu'il faut effectuer le diagnostic différentiel avec *P. falciparum*. Deux laboratoires ont mentionné: « En routine: en cas de test rapide malaria négatif: préférence pour *Babesia* species; en cas de test rapide malaria positif: trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*. »

Cinq laboratoires qui ont répondu *P. falciparum*, ont mentionné qu'il faut effectuer le diagnostic différentiel avec *Babesia* sp. Deux laboratoires ont mentionné qu'en routine ils prennent également le résultat du test de l'Ag en compte, un laboratoire a mentionné effectuer en routine le test de l'Ag et envoyer l'échantillon pour effectuer la PCR, et un laboratoire a mentionné qu'en routine le diagnostic est complété par des tests moléculaires.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium falciparum* sont repris dans le tableau 5.2.2. 127 laboratoires ont répondu un stade d'évolution et 4 laboratoires ont répondu 2 stades d'évolution (trophozoïte + gamétocyte).

Tableau 5.2.2. Stades d'évolution de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/9033

Stade d'évolution	Nombre
Trophozoïte	130
Gamétocyte	4
Forme adulte	1
Total	135

Tous les laboratoires n'ont pas répondu le nombre de parasites présents dans l'échantillon.

Pour les trophozoïtes, 3 laboratoires ont répondu 20‰, quatre 25‰, cinq 50‰, six 100‰ et 109 laboratoires >100‰.

95 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification : 69 laboratoires ayant répondu *P. falciparum*, 23 laboratoires ayant répondu *Babesia* species, le laboratoire ayant répondu *P. falciparum* + *Babesia* species et 1 des laboratoires ayant éprouvés des difficultés pour l'interprétation du résultat.

5.3 Echantillon P/12526

Les 169 laboratoires ont fourni 173 réponses. 165 laboratoires ont répondu la présence d'un parasite et 4 laboratoires la présence de 2 parasites.

Les réponses sont reprises dans le tableau suivant :

Tableau 5.3.1. Résultats pour l'échantillon P/12526

Résultat	Nombre
<i>Plasmodium ovale</i>	85
<i>Plasmodium non-falciparum</i>	53
<i>Plasmodium species</i>	1
<i>Plasmodium malariae</i>	19
<i>Plasmodium vivax</i>	9
<i>Plasmodium falciparum</i>	6
Total	173

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

Le laboratoire qui a répondu *Plasmodium species* a mentionné que « l'identification de l'espèce de *Plasmodium* doit être effectuée par un laboratoire spécialisé en la matière (p.ex. l'ITG); pour un échantillon clinique nous effectuons toujours un test rapide d'antigène, qui permet immédiatement de faire la différence entre *P. falciparum* / non-falciparum ».

15 laboratoires qui ont répondu *Plasmodium non-falciparum*, ont remarqué qu'il s'agit probablement de *P. ovale* (trois autres ont mentionné *P. vivax* et un *P. malariae*). Un laboratoire a mentionné effectuer en routine le test de l'Ag et envoyer l'échantillon pour effectuer la PCR, et un laboratoire a mentionné qu'en le diagnostic est complété par des tests moléculaires.

Deux laboratoires qui ont répondu *P. ovale* ont mentionné qu'en routine ils prennent également le résultat du test de l'Ag en compte.

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium ovale* sont repris dans le tableau 5.3.2. 19 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution, 45 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution et 21 laboratoires 3 stades d'évolution.

Tableau 5.3.2. Stades d'évolution de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/12526

Stade d'évolution	Nombre
Trophozoïte	77
Gamétocyte	42
Schizonte	41
Schizonte âgé ou mûr	7
Schizonte jeune	5
Total	172

Les combinaisons de stades d'évolution de *Plasmodium ovale*, répondues par les laboratoires, sont reprises dans le tableau 5.3.3.

Tableau 5.3.3. Stades d'évolution de *Plasmodium falciparum* pour l'échantillon P/12526

Nombre de stade d'évolution	Stade d'évolution	Nombre
1 stade d'évolution	Trophozoïte	12
	Gamétocyte	4
	Schizonte	3
2 stades d'évolution	Trophozoïte + schizonte	20
	Trophozoïte + gamétocyte	18
	Trophozoïte + schizonte âgé	4
	Trophozoïte + schizonte jeune	2
	Gamétocyte + schizonte jeune	1
3 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte	17
	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte jeune	1
	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte âgé	1
	Trophozoïte + schizonte + schizonte âgé	1
	Trophozoïte + schizonte jeune + schizonte âgé	1
Total		85

Tous les laboratoires n'ont pas répondu le nombre de parasites présents dans l'échantillon.

Un laboratoire n'a pas donné de quantification par stade d'évolution, mais a mentionné qu'il y avait en général une parasitémie de 15%.

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

Tableau 5.3.4. Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium ovale* pour l'échantillon P/12526

%o	N labos				
	Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte	Schizonte âgé	Schizonte jeune
<1	10	7	6	1	1
1	8	4	8	1	
1 à 2	16	7	2		1
2	4	2	1	1	
2 à 3	5	2	3		1
3	3	2	3		
3 à 4	8	5	4	4	
4		1			
5	10		3		
6					
7	1				
8	1	1	1		

Les stades d'évolution répondus par les laboratoires pour *Plasmodium non-falciparum* sont repris dans le tableau 5.3.5. 12 laboratoires ont mentionné un stade d'évolution, 30 laboratoires ont mentionné 2 stades d'évolution et 11 laboratoires 3 stades d'évolution.

Tableau 5.3.5. Stades d'évolution de *Plasmodium non-falciparum* pour l'échantillon P/12526

Stade d'évolution	Nombre
Trophozoïte	48
Schizonte	29
Gamétocyte	24
Schizonte âgé ou mûr	2
Schizonte jeune	1
Total	105

Les combinaisons de stades d'évolution de *Plasmodium* non-falciparum, répondues par les laboratoires, sont reprises dans le tableau 5.3.6.

Tableau 5.3.6. Combinaisons des stades d'évolution pour *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/12526

Nombre de stade d'évolution	stade d'évolution	Nombre
1 stade d'évolution	Trophozoïte	8
	Schizonte	2
	Gamétocyte	1
	Non précisé	1
2 stades d'évolution	Trophozoïte + schizonte	16
	Trophozoïte + gamétocyte	11
	Gamétocyte + schizonte	1
	Trophozoïte + schizonte âgé	2
3 stades d'évolution	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte	10
	Trophozoïte + gamétocyte + schizonte jeune	1
Total		53

Tous les laboratoires n'ont pas répondu le nombre de parasites présents dans l'échantillon.

Le tableau 5.3.7. montre le nombre de parasites par stade d'évolution.

Tableau 5.3.7. Nombre de parasites par stade d'évolution pour *Plasmodium* non-falciparum pour l'échantillon P/12526

	‰	N labos				
		Trophozoïte	Gamétocyte	Schizonte	Schizonte âgé	Schizonte jeune
<1	11	2	1		1	1
1	2	3	1			
1 à 2	6	1	2			
2	2		2			
2 à 3	3	3	1			
3						
3 à 4	5	6	6			
4			1			
5	4	1	2			
6	1	1				
7						
8	2		1			
5 à 10	4	1	5			
10	3	2	1		1	
12	1					
15	3		1			
20			1			
25			1			

111 laboratoires enverraient l'échantillon en routine à un centre de référence pour (confirmation de) l'identification: 45 laboratoires ayant répondu *P. ovale*, 44 laboratoires ayant répondu *P. non-falciparum*, 12 laboratoires ayant répondu *P. malariae*, 4 laboratoires ayant répondu *P. vivax*, 2 laboratoires ayant répondu *P. falciparum*, le laboratoire ayant répondu *Plasmodium* species et 3 laboratoires ayant répondu des combinaisons de 2 parasites (« *P. non-falciparum* + *P. ovale* », « *P. non-falciparum* + *P. malariae* » et « *P. ovale* + *P. vivax* »).

5.4 Commentaire concernant l'enquête

Pour l'échantillon P/9033 qui contenait des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*, vous trouverez pour information l'évaluation des résultats dans le tableau 1. Les résultats n'ont cependant pas été pris en compte à cause de la mauvaise qualité du frottis.

Tableau 5.4.1. Evaluation des résultats pour l'échantillon P/9033

Groupe	Réponse	Commentaire	Score (n, %)
Groupe I	<i>P. falciparum</i>	Correct	130 (81.8%)
Groupe II	<i>P. falciparum</i> + <i>Babesia</i> sp.	Erreur mineure Acceptable	1 (0.6%)
Groupe III	<i>Babesia</i> sp.	Erreur majeure*	26 (16.4%)
	<i>Plasmodium</i> species		1 (0.6%)
	Absence de parasites		1 (0.6%)

Deux laboratoires ont mentionné que si le test rapide de malaria est négatif, ils ont une tendance à répondre *Babesia* species. Si la qualité ou la coloration du frottis ne permettent pas une bonne identification, nous vous conseillons d'envoyer l'échantillon au centre de référence où on peut effectuer un diagnostic complémentaire par PCR.

L'évaluation des résultats de l'échantillon P/12526 qui contenait des trophozoïtes, des schizontes et des gamétocytes de *Plasmodium ovale*, est reprise dans le tableau 2.

Tableau 5.4.2. Evaluation des résultats pour l'échantillon P/12526

Groupe	Réponse	Commentaire	Score (n, %)
Groupe I	<i>P. ovale</i>	Correct	83 (49.1%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , probablement <i>P. ovale</i>		15 (8.8%)
Groupe II	<i>Plasmodium non-falciparum</i>	Erreur mineure Acceptable	32 (18.9%)
	<i>P. vivax</i>		7 (4.1%)
	<i>P. malariae</i>		18 (10.7%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , probablement <i>P. vivax</i>		3 (1.8%)
	<i>Plasmodium non-falciparum</i> , probablement <i>P. malariae</i>		1 (0.6%)
	<i>P. ovale</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i>		1 (0.6%)
	<i>P. ovale</i> + <i>P. vivax</i>		1 (0.6%)
	<i>P. malariae</i> + <i>Plasmodium non-falciparum</i>		1 (0.6%)

Groupe III	<i>P. falciparum</i>	Erreur majeure*	5 (3%)
	<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>		1 (0.6%)
	<i>Plasmodium</i> species		1 (0.6%)

* Les « erreurs majeures » sont i) de ne pas trouver un *P. falciparum* ou de le répondre erronément et ii) de répondre *Plasmodium* species sans s'être exprimé sur la présence ou l'absence d'un *P. falciparum*. La raison pour laquelle cette dernière réponse est considérée comme une erreur grave est que le traitement d'une infection par *P. falciparum* est différent de celui d'une infection à *P. non-falciparum*.

6.1 Sérologie de la syphilis

6.1.1 Les échantillons

Deux échantillons lyophilisés S/9592 et IS/9607 étaient proposées pour la détermination des anticorps anti-syphilis.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes :

Il s'agit de 2 échantillons prélevés lors d'une réunion de jeunesse où les participants avaient la possibilité de se faire tester pour la présence d'IST.

Les interprétations attendues étaient:

S/9592: Interprétation: Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2)

IS/9607: Interprétation: Absence d'anticorps (code 1).

6.1.2. Les participants

148 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse : 147 laboratoires belges et luxembourgeois et 1 laboratoire de firme. Ce dernier n'est pas repris dans le traitement de l'enquête ; il a utilisé les techniques suivantes: RecomWell Treponema IgG, RecomWell Treponema IgM, RecomlineTreponema IgG et RecomlineTreponema IgM (toutes les trousse: Mikrogen (distributeur Euribel)). Tous les résultats de l'échantillon S/9592 étaient positifs et tous les résultats de l'échantillon IS/9607 négatifs.

85.0% des laboratoires ont répondu via la base de données Toolkit.

Sur l'échantillon S/9592 les 147 laboratoires ont effectué 341 tests, à savoir 209 tests tréponémiques (TT) et 132 tests non-tréponémiques (TNT).

11 laboratoires ont effectué 1 test, 90 laboratoires ont effectué 2 tests, 35 laboratoires ont effectué 3 tests, 10 laboratoires ont effectué 4 tests et 1 laboratoire a effectué 5 tests.

Sur l'échantillon IS/9607 ils ont effectué 312 tests, à savoir 188 tests tréponémiques et 124 tests non-tréponémiques.

19 laboratoires ont effectué 1 test, 95 laboratoires ont effectué 2 tests, 29 laboratoires ont effectué 3 tests et 4 laboratoires ont effectué 4 tests.

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

Tableau 6.1.1. Aperçu global des types et des combinaisons de tests utilisés (nombre de laboratoires).

<i>Nombre de tests</i>	<i>Type de trousse</i>	S/9592	IS/9607
1 test exécuté	1 x tréponémique	9	17
	1 x non-tréponémique	2	2
2 tests exécutés	1 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	86	90
	2 x tréponémique	4	5
3 tests exécutés	2 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	34	28
4 tests exécutés	3 x tréponémique	1	1
	3 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	9	4
5 tests exécutés	4 x tréponémique	1	-
	4 x tréponémique + 1 x non-tréponémique	1	-
Total		147	147

Tableau 6.1.2. Résumé des types et des combinaisons de tests utilisés (nombre de laboratoires).

<i>Type de test</i>	S/9592	IS/9607
Un test: tréponémique	9	17
Un test: non-tréponémique	2	2
Combinaison de méthodes tréponémiques + non-tréponémiques	130	122
Combinaison de méthodes tréponémiques seulement	6	6
Total	147	147

6.1.3 Réactifs utilisés

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

Tableau 6.1.3. Réactifs utilisés dans la détermination de la sérologie de la syphilis (EEQ 2014/1).

<i>Fabricant</i>	<i>Trousse</i>	<i>S/9592</i>	<i>IS/9607</i>
Abbott	Architect Syphilis TP	37	37
Alldiag	TPHA Check	1	-
	VDRL Check/RPR	1	-
Axis Shield (distributeur Lucron)	Microsyph TPHA	4	4
	Syphscreen RPR	-	1
BAG (distributeur AlphaOmega)	TPHA-syphilis-Test	1	1
Becton Dickinson	Macro-Vue RPR Card Test	14	13
	VDRL Cardioliipin Ag	2	2
Biokit	RPR-Reditest	29	25
	Syphagen TPHA	2	2
bioMérieux	RPR-nosticon II	30	30
	Trepo-Spot IF	8	3
	TPHA 100	1	-
BioRad	TPHA 200	1	1
	RPR100	1	-
	Syphilis EIA TAb II	1	1
Biosystems (distributeur Medigal)	RPR Carbon	4	4
	TPHA	1	1
Diamed	ID-Pagia Syphilis Antibody Test	3	3
DiaSorin	Liaison Treponema Screen	37	37
	Murex Syfacard-R (RPR)	7	6
	Murex ICE Syphilis	1	1
Diesse (distributeur International Medical)	Chorus Syphilis screen recombinant	8	8
	Chorus Treponema IgG	2	1
	Chorus Treponema IgM	2	1
Euroimmun (distributeur Biognost)	Treponema pallidum ELISA IgG	2	2
	Treponema pallidum ELISA IgM	1	1
	WB Treponema pallidum IgG	1	1
	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgG	1	-
	Euroline WB Treponema pallidum (+cardiolipin) IgM	1	-
Fujirebio (distributeur Lameris)	Serodia TPPA	60	54
Innogenetics	Inno-Lia Syphilis Score	2	-
Lab21 Healthcare	TPHA	2	2

Omega Diagnostics (distributeur International Medical)	Immutrep RPR	7	7
	Immutrep Carbon antigen	1	1
	Immutrep TPHA	1	1
Ortho Clinical Diagnostics	Vitros Immunodiagnosics Products Syphilis TPA	3	3
Oxoid	VDRL test kit	2	2
	TPHA test	1	1
Plasmatec (distributeur Forlab)	RPR Test kit	6	5
Siemens	Immulate 2000 Syphilis screen	12	12
	Cellognost Syphilis H Combipack	6	6
	ADVIA Centaur Syph	2	2
Spinreact	RPR Carbon	28	28
Standard Diagnostics (distributeur Alere health)	Syphilis 3.0 Rapid test	2	2
Viramed	Virablot Treponema IgG	1	-
	Virablot Treponema IgM	1	-
Total		312	312

6.1.4 Résultats

L'échantillon S/9592

Tests non-tréponémiques

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

Pour les trousse avec au moins 6 utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.1.4.

Tableau 6.1.4. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests non- tréponémiques pour l'échantillon S/9592 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Macro-Vue RPR Card Test (titre)	13	1/64	1/32	1/128	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR Reditest (titre) ¹	28	1/64	1/16	1/256	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR-nosticon II (titre)	29	1/32	1/8	1/64	Résultat positif dans la « cupule test »
Murex Syfacard-R (titre)	7	1/32	1/32	1/512	Résultat positif dans la « cupule test »
Immutrep RPR (titre) ²	7	1/64	1/16	1/128	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR Test kit (titre)	6	1/32	1/16	1/64	Résultat positif dans la « cupule test »
RPR carbon Spinreact (titre)	25	1/32	1/8	1/20480	Résultat positif dans la « cupule test »

¹ En plus un laboratoire a obtenu un titre > 1/64

Tests tréponémiques

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

146 laboratoires ont obtenu un résultat positif. Les laboratoires qui ont utilisé plus d'une trousse ont obtenu des résultats positifs pour toutes ces trousse. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif (trousse : Chorus Syphilis screen recombinant; les 7 autres utilisateurs de cette trousse ont obtenu un résultat positif).

Pour les trousse avec au moins 6 utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.1.5.

Tableau 6.1.5. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests tréponémiques pour l'échantillon S/9592 pour les trousse les plus utilisées.

Trousse (unité)	N labos	Médiane	Minimum	Maximum	Cut-off pour positivité
Architect Syphilis TP (index)	37	42.10	34.89	57.02	1.00
Trepo-Spot IF (titre)	6	1/1600	1/400	1/12560	Sera diluted 1/5 should be confirmed by a quantitative test. Sera diluted 1/50 correspond to the pathological cut-off generally accepted
Liaison Treponema Screen (index) ¹	22	59.4	27.9	69.6	1.1 (0.9 – 1.1 = borderline)
Chorus Syphilis screen recombinant (index) ²	6	7.1	2.6	8.5	1.2
Serodia-TPPA (titre) ³	48	1/20480	1/32	1/327680	Résultat positif dans la « cupule test »
Immulite 2000 Syphilis screen (index) ⁴	11	10.0	8.6	18.2	1.1 (0.9 – 1.1 = indeterminate)

¹ En outre 15 labos ont répondu: >70

² En outre un labo a répondu 0.6 (le labo qui a répondu « négatif ») et un labo 65.

³ En outre un labo a répondu >1/1280 et 9 labos >1/20480

⁴ En outre un labo a répondu un index de 12608013

b) Les résultats des tests qui déterminent les IgG

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

c) Les résultats des tests qui déterminent les IgM.

Quatre laboratoires ont obtenu un résultat positif et deux laboratoires un résultat borderline.

Remarque: Quelques laboratoires ont déterminé les IgG et les IgM séparément avec le Trepospot IF. Selon l'information de la firme bioMérieux le Trepospot IF est en effet prévu pour utilisation avec le Fluoline "H" (human), donc pour la détection des anticorps totaux. La détermination des IgM et des IgG séparément (avec les Fluoline M et G) n'est pas validée par bioMérieux et n'est pas reprise non plus dans l'insert.

Interprétations cliniques

La plupart des laboratoires ont choisi l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2) ». Un certain nombre de laboratoires ont choisi une autre interprétation.

Les interprétations cliniques sont reprises dans le tableau 6.1.6:

Tableau 6.1.6. Interprétations cliniques pour l'échantillon S/9592

Interprétation	Nombre
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2)	136
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active (code 3) ¹	2
Infection très récente ou résultat faux positif ²	1
Présence d'anticorps spécifiques pour la syphilis. Ces anticorps restent présents après traitement. Le VDRL suivra. ³	1
Présence d'anticorps : exposition au Tréponème. Infection active ou passée, traitée? A confirmer sur un second prélèvement dans 2 semaines pour évaluation de l'évolution sérologique. ³	1
Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active ou non-active ³	1
Présence d'anticorps => écartement des produits sanguins et du donneur ⁴	1
Pas de statut possible sur base de ces résultats, Dépistage de donneurs. Test complémentaires nécessaires, confirmation exécutée dans un laboratoire de référence. ⁴	1
Interprétation impossible du fait de la seule réalisation du TPHA. ³	1
L'échantillon est envoyé pour l'analyse RPR/VDRL analyse de façon qu'on puisse effectuer la distinction entre infection active ou non-active. ³	1
Tests complémentaires nécessaires. ³	1
Total	147

¹ Résultats labo 1: test tréponémique et test non-tréponémique positifs. Résultats labo 2: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué.

² Résultats: test tréponémique négatif, test non-tréponémique positif.

³ Tous ces laboratoires ont obtenu les résultats suivants: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué.

⁴ Réponses fournies par des centres de transfusion qui ont obtenu les résultats suivants: test tréponémique positif, pas de test non-tréponémique effectué.

Les 2 laboratoires qui ont obtenu un résultat borderline pour les IgM, ont obtenu un résultat positif pour les TPHA, les IgG et un test non-tréponémique et ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection active (code 2) ».

Six laboratoires (dont 3 ont déterminé les TT et les TNT, 2 uniquement les TT et 1 uniquement les TNT) ont mentionné envoyer en routine l'échantillon pour confirmation et/ou tests complémentaires. Deux laboratoires (qui ont tous les 2 déterminé les TT et les TNT) ont mentionné qu'ils contacteraient le clinicien pour demander des informations cliniques; un des deux a également mentionné d'envoyer l'échantillon pour effectuer de des tests de confirmation ou l'immunoblot et qu'il demanderait un 2^e échantillon après 3 mois pour le suivi du VDRL.

Exécution en routine

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

Ø 1 TT (mais bien 2 TT + 1 TNT):	2 labos
Ø 1 TT (mais bien 1 TT + 1 TNT):	3 labos
Ø 1 TNT (mais bien 1 TT):	1 labo
Ø 1 TT (seul test effectué):	1 labo

L'échantillon IS/9607

Tests non-tréponémiques

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif.

Pour les trousse avec au moins 6 utilisateurs nous avons calculé la médiane et indiqué le minimum et le maximum (quand les laboratoires avaient mentionné le résultat quantitatif avec une unité identique). Ils sont repris dans le tableau 6.1.4.

Tests tréponémiques

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif, indépendamment de la « nature » (Ac. totaux, IgG, IgM) de la trousse. Les laboratoires qui ont utilisé plus d'une trousse ont obtenu des résultats négatifs pour toutes ces trousse.

Interprétations cliniques

Tous les laboratoires ont choisi l'interprétation « Absence d'anticorps (code 1) ».

Un laboratoire (qui n'a effectué qu'un TT) a donné une remarque: « Pas d'exposition passée. Ce résultat ne permet pas d'exclure une syphilis aiguë au stade précoce. A contrôler dans 2 semaines si facteurs de risque. »

Exécution en routine

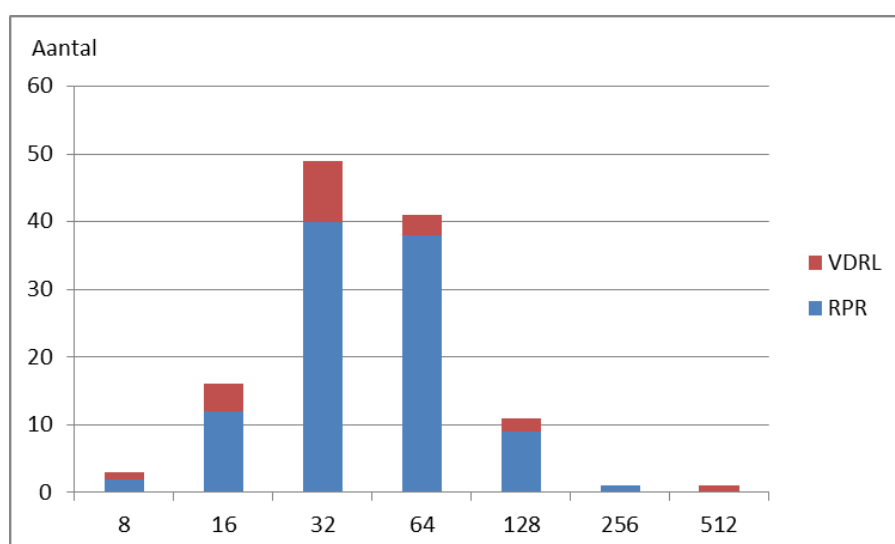
Un certain nombre de laboratoires ont mentionné de ne pas effectuer certains tests en routine:

Ø 2 TT + 1 TNT (mais bien 1 TT):	1 labo
Ø 2 TT (mais bien 1 TT + 1 TNT):	2 labos
Ø 2 TT (mais bien 1 TT):	1 labo
Ø 1 TT + 1 TNT (mais bien 1 TT):	13 labos
Ø 1 TT + 1 TNT (seuls tests effectués):	2 labos
Ø 1 TT (mais bien 1 TT + 1 TNT):	7 labos
Ø 1 TT (mais bien 1 TNT):	2 labos
Ø 1 TT (mais bien 1 TT):	1 labo
Ø 1 TT (seul test effectué):	1 labo
Ø 1 TNT (mais bien 2 TT):	1 labo
Ø 1 TNT (mais bien 1 TT):	11 labos

6.1.5 Discussion des résultats de l'enquête

Presque toutes les techniques qui recherchent les anticorps tréponémiques ont obtenu pour l'échantillon S/9592 un résultat positif, qui était nettement au-dessus du cutoff de la méthode. Tous les résultats des tests non-tréponémiques pour lesquels un titre a été rapporté se trouvaient également au-dessus du cutoff de 1/4. La figure 1 montre la distribution des résultats des tests non-tréponémiques. Les résultats positifs sans mention du titre n'ont pas été pris en compte. Les résultats 1/10, 1/40 et >1/64 ne sont pas repris dans la figure; le résultat 1/20480, dont nous avons la suspicion qu'il s'agit du résultat du test tréponémique, non plus. Le titre du test non-tréponémique n'est pas une donnée absolue. Il est important que les tests non-tréponémiques n'aient pas trop de variation au sein d'un même laboratoire étant donné que le test est utilisé pour évaluer l'effet du traitement (1).

Figure 1. Distribution du titre des RPR/VDRL



La plupart des interprétations doivent être comprises en fonction des tests effectués et, à quelques laboratoires près, tous les laboratoires qui n'effectuent pas de test tréponémique eux-mêmes ont clairement indiqué que ce test est nécessaire pour déterminer le stade de la maladie (1).

Un labo a répondu « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection non-active » même si aussi bien le test tréponémique que le test non-tréponémique étaient fort positifs.

Un labo qui n'a effectué qu'un test tréponémique, a mentionné demander un échantillon de suivi pour l'évaluation de l'évolution sérologique. Même s'il n'est pas exclu que ceci puisse être utile, il est conseillé d'effectuer d'abord un test non-tréponémique sur l'échantillon.

Un labo qui a obtenu un résultat très fort positif pour les RPR et un résultat (faux-) négatif pour le test tréponémique qui recherche les anticorps totaux, a donné comme remarque qu'il peut s'agir d'une infection très récente ou d'un résultat faux positif pour les RPR. Même si la combinaison d'un RPR élevé ($\geq 1/16$) et un test tréponémique négatif est possible (2), elle est cependant très rare et doit nous alerter. Les réactions faussement positives sont en général moins intenses (dans notre expérience le titre est rarement plus

élevé que 1/8) et les méthodes qui détectent les anticorps totaux (et donc les anticorps IgM) deviennent d'habitude plus vite positifs que les tests non-tréponémiques (3,4).

Marjan Van Esbroeck, ITG ANTWERPEN

Références

1. French P, Gomberg M, Janier M, Schmidt B, van Voorst Vader P, Young H. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. *Int J STD AIDS*. 2009 May;20(5):300-9..
2. Maves RC, Dean K, Gadea N, Halsey ES, Graf PC, Lescano AG. False-positive rapid plasma reagin testing in patients with acute *Plasmodium vivax* malaria: A case control study. *Travel Med Infect Dis*. 2013 Oct 30. [Epub ahead of print]
3. Seña AC, White BL, Sparling PF. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis* 2010;51:700-8.
4. Knaute DF, Graf N, Lautenschlager S, Weber R, Bosshard PP. Serological response to treatment of syphilis according to disease stage and HIV status. *Clin Infect Dis*. 2012 Dec;55(12):1615-22

6.1.6 Réponses au questionnaire et directives

Nous avons reçu des questionnaires complétés par 84 laboratoires, dont 3 ont répondu qu'ils n'effectuent pas la sérologie syphilis. 76 des 81 laboratoires effectuent aussi bien des tests non-treponémiques (RPR, VDRL) que treponémiques (*T. pallidum* Particle Agglutination (TPPA), *T. pallidum* Hemagglutination (TPHA), immuno essais). Cinq laboratoires n'effectuent que des tests treponémiques. Seuls 45 laboratoires utilisent un algorithme. Quelques laboratoires ont mentionné que les tests sont effectués tels que demandés par le clinicien.

En ce qui concerne les algorithmes utilisés par les laboratoires belges, il n'existe pas d'unicité: en général, l'algorithme inversé dans lequel on effectue d'abord un test treponémique, semble gagner en importance. Une explication possible est l'utilisation croissante d'automates (51/81 laboratoires). Cette constatation est également valable pour d'autres pays européens. L'automatisation permet de tester un plus grand nombre d'échantillons en même temps et est donc très utile pour le dépistage de groupes de patients asymptomatiques ou de donneurs de sang. Le désavantage est cependant qu'aussi bien les personnes avec une syphilis traitée, qu'avec une syphilis active sont testé positives. Les infections précoces sont retrouvées plus vite avec les méthodes plus récentes tels que les « Treponemal Enzyme Immunoassay » (EIA), « Chemiluminescence Immunoassay » (CIA) et « Immunometric Immunoassay » (IIA) en comparaison avec l'algorithme classique, dans lequel on effectue d'abord un RPR et les échantillons réactifs sont testés postérieurement avec un TPPA/TPHA. D'un autre côté on risque d'avoir un nombre plus élevé de résultats faussement réactifs dans les populations à basse prévalence de syphilis.

L'algorithme inversé est déjà utilisé depuis longtemps aux Etats-Unis, même si les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ont conseillé encore en 2011 d'utiliser le schéma classique, justement pour éviter des résultats faux positifs. Si on utilise quand même l'algorithme inversé, le CDC conseille de tester les échantillons avec un résultat réactif par EIA, CIA, IIA avec un test non-treponémique « quantitatif » et de tester les résultats discordants avec un TPPA/TPHA. Les patients avec des résultats discordants et un TPPA/TPHA réactif, ont une infection par syphilis récente ou ancienne, chez les patients avec un TPPA/TPHA non-réactif une infection par syphilis est le moins probable. Il faut cependant faire une remarque à ce propos. Le TPPA/TPHA est moins sensible pour détecter les infections récentes que les EIA, CIA, IIA. On risque donc par l'utilisation des algorithmes inversés de rater sérologiquement les infections très précoces étant donné qu'elles ne sont pas confirmées par TPPA/TPHA. Dans ces cas il est plus conseillé d'effectuer un test d'IgM pour confirmer les infections récentes, ou, en absence de celui-ci de tester un nouveau prélèvement 3 à 4 semaines plus tard. Il faut évidemment interpréter les résultats sérologiques de la syphilis dans le cadre des signes cliniques.

Pour le suivi d'une infection après traitement, le RPR/VDRL reste le seul test valide. Une diminution quadruple du titre dans un délai de 3 mois après traitement (où on reteste également l'échantillon original) est l'indicateur d'un traitement réussi.

On est actuellement occupé à revoir les directives européennes concernant le diagnostic et le traitement de la syphilis. Il est possible que des directives différentes soient formulées selon le test de dépistage utilisé (non-treponémique versus treponémique versus EIA, CIA, IIA).

Pour finir, il est utile de savoir que l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), définit la syphilis selon les critères de laboratoires suivants:

- * Mise en évidence de tréponèmes par microscopie en champs noir
 - * Mise en évidence de *T pallidum* par un test anticorps en fluorescence directe
 - * Détection de tréponèmes par PCR
 - * Détection d'anticorps anti-*T pallidum* par TPHA, TPPA, EIA
- et
- Détection supplémentaire d'anticorps IgM contre *T pallidum*, confirmée par un deuxième test d'IgM de préférence d'une autre firme (antigènes d'origine différente).

(<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002D0253:20120927:EN:PDF.>)

L'ECDC conseille d'utiliser cette définition pour les déclarations de syphilis en Europe mais d'autres définitions nationales, à condition de le mentionner, restent valides jusque à nouvel ordre. La définition européenne n'est pas une directive en ce qui concerne le diagnostic général ou le suivi d'une infection après traitement mais vise d'obtenir une uniformité dans les déclarations au niveau européen.

Tania Crucitti, ITG, Antwerpen

6.2 Ag d'influenza

6.2.1 Les échantillons

Trois échantillons étaient proposés pour la recherche de l'antigène de l'influenza, Ag/12691, Ag/12692 et Ag/12693. Les 3 échantillons étaient positifs (Ag/12691: influenza A (H3N2), Ag/12692: influenza A (H1N1), Ag/12693: influenza B).

6.2.2. Les participants

101 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse : 100 laboratoires cliniques et un laboratoire de firme. Ce dernier a utilisé les trousse Inlu-A&B Respi-strip et Inlu-A Respi-strip (de la firme Coris Bioconcept) avec des résultats corrects dans tous les cas mais n'a pas été repris dans la suite du traitement.

Un laboratoire clinique n'a utilisé qu'un test PCR et 2 laboratoires un test d'Ag et une PCR. Les résultats des PCR étaient corrects, mais étant donné que l'enquête ne ciblait que les tests d'Ag, les résultats des PCR ne sont également pas repris dans la suite du traitement.

98 des 99 laboratoires ayant utilisés des tests d'Ag ont utilisé un test et un laboratoire deux tests. Au total les 99 laboratoires ont donc fourni 100 résultats pour chaque échantillon.

82.8% des laboratoires ont renvoyé leurs résultats via la base de données électronique (Toolkit).

6.2.3. Réactifs utilisés

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

Tableau 6.1.4. La médiane, le minimum et le maximum obtenus pour les tests non- tréponémiques pour l'échantillon S/9592 pour les trousse les plus utilisées.

Fabricant	Réactifs	Ag/12691	Ag/12692	Ag/12693
Alere health	BinaxNOW Influenza A & B	36	36	36
	Clearview Exact Influenza A and B	2	2	2
All Diagnostics	Influenzatop	1	1	1
Becton Dickinson	Directigen Flu A+B Test kit	10	10	10
bioMérieux	bioNexia Influenza A+B	8	8	8
	Argene Anti-influenza A FITC	2	2	-
	Argene Anti-influenza B FITC	-	-	2
Coris Bioconcept	Influ-A&B Respi-strip	17	17	17
	Influ-A Respi-strip	1	1	1
Fujirebio (distributeur Lameris)	Espline Influenza A&B-N	5	5	5
Gecko (distributeur Forlab)	Influenza A/B 2 Panel Test	1	1	1
Meridian	Tru FLU A/B	8	8	8
Millipore (distributeur Biognost)	Simulfluor Respiratory Screen	2	2	2
	Simulfluor Flu A/Flu B	2	2	2
	Respiratory Viral screen DFA	1	1	1
Oxoïd	XPECT Flu A en B Test	1	1	1
Quidel	Quickvue Influenza A+B test	3	3	3
Total		100	100	100

6.2.4 Résultats

L'échantillon Ag/12691

96 laboratoires ont obtenu un résultat positif; 2 ont mentionné que le résultat était ininterprétable avec leur technique (respectivement Simulfluor Respiratory screen et Simulfluor Flu A/Flu B) et un laboratoire a obtenu un résultat négatif avec les 2 techniques utilisées (Simulfluor Respiratory screen et Simulfluor Flu A/Flu B).

87 des laboratoires ayant obtenu un résultat positif ont mentionné que l'échantillon était positif pour l'influenza A (30 d'entre eux ont mentionné explicitement que l'influenza B était négatif). Un laboratoire a mentionné que l'échantillon était positif pour l'influenza A et faible positif pour l'influenza B (trousse: bioNexia Influenza A+B).

L'échantillon Ag/12692

94 laboratoires ont obtenu un résultat positif; 2 ont mentionné que le résultat était ininterprétable avec leur technique (respectivement Simulfluor Respiratory screen et Simulfluor Flu A/Flu B) et trois labos ont obtenu un résultat borderline. Le laboratoire qui a utilisé 2 techniques a obtenu des résultats positifs avec ces 2 techniques.

Les trousse ayant donné un résultat borderline étaient: Argene Anti-influenza A FITC, Respiratory Viral screen DFA et Infl-A Respi-strip.

86 des laboratoires ayant obtenu un résultat positif ont mentionné que l'échantillon était positif pour l'influenza A (30 d'entre eux ont mentionné explicitement que l'influenza B était négatif).

Deux des laboratoires ayant obtenu un résultat borderline ont mentionné que l'échantillon était positif pour l'influenza A

L'échantillon Ag/12693

95 laboratoires ont obtenu un résultat positif; 2 ont mentionné que le résultat était ininterprétable avec leur technique (respectivement Simulfluor Respiratory screen et Simulfluor Flu A/Flu B); un laboratoire a obtenu un résultat borderline avec les 2 techniques utilisées (Simulfluor Respiratory screen et Simulfluor Flu A/Flu B). Le laboratoire qui a utilisé l'Influ-A Respi-strip, a comme attendu obtenu un résultat négatif.

Le tableau ci-dessous présente le typage fourni par les laboratoires ayant donné un résultat positif.

Tableau 6.2.2. Typage de l'antigène influenza (échantillon Ag/12693)

Type	N labos
B, pas de mention concernant A	51
B +, A-	21
B +, A borderline	8
B +, A faible +	2
B +, A +	4
B +, A faux +	2
Pas de précision	7
Total	95

Les 16 laboratoires qui ont mentionné la positivité (borderline/faible/faux) de l'influenza A, ont tous utilisé la trousse BinaxNOW Influenza A & B (des 20 autres utilisateurs de cette trousse 13 ont mentionné l'influenza B (sans mention de l'influenza A), 4 ne l'ont pas précisé et 3 ont mentionné que l'influenza B était positif et l'influenza A négatif).

Ci-dessous vous trouverez les résultats de l'examen que la firme Alere a réalisé sur les 3 échantillons:

"Thank you for bringing to our attention your observation of false positive results on EQA samples with the Binax NOW Flu A&B part number 416000

The EQA was composed of 3 samples:

Ag/12691: influenza A (H3N2)

Ag/12692: influenza A (H1N1)

Ag/12693: influenza B)

A false positive result was observed on the third sample, the sample that contained only influenza B.

The manufacturer has now completed their evaluation of the product in question with the information you provided and the findings are detailed below.

The returned samples were tested with 2 different lots of the BinaxNOW card test:

Sample 12691: all had valid, Flu A positive, Flu B negative results.

Sample 12692: all had valid, Flu A positive, Flu B negative results.

Sample 12693: all had valid, Flu A and B positive results.

The Flu B line intensities were very strong and the Flu A results were less intense (light). This replicated the customer's observations.

Additional internal FIO PCR testing was performed and no definitive cause was able to be determined. A root cause was not able to be determined; however it appears to be due to the sample. It appears that the titer of the sample is very high. The high titer may be affecting the conjugates and may be causing a "spilling over" or cross-linking into larger particles that are getting physically caught up on the Flu A sample line causing the appearance of the Flu A line.

No further sample or information has been supplied by the customer at this time, however if any anything additional is able to be obtained, additional testing may be performed.

We trust that our investigation has helped to maintain your confidence in our products and we apologise for any inconvenience that this incident may have caused you. "

6.2.5 Discussion des résultats de l'enquête

C'est la première fois que l'ISP a envoyé des échantillons d'EEQ pour l'Ag influenza A/B. Il s'agissait de 3 échantillons positifs, à savoir des échantillons de référence de l'OMS, cultivé sur la lignée cellulaire MDCK. La matrice ne consistait donc pas de vrais aspirations nasopharyngées ou des liquides LBA, mais était le surnageant d'une culture cellulaire positive (après 1 ou plusieurs passages) qui a été diluée 1 sur 100 dans l'H₂O avec pour but d'obtenir une valeur Ct de moins de 26. On estime que les échantillons cliniques qui donnent des valeurs Ct basses en PCR, devraient être détectés de manière efficace par la majorité des tests de détection d'Ag. La valeur Ct cut-off en-dessous de laquelle la plupart des RIDT (Rapid Influenza Detection Tests) obtiennent une sensibilité acceptable, varie légèrement entre les tests, mais également entre les souches (et donc entre les saisons).

Ag/12691: A(H3N2) : A/Victoria/361/2011 (1 passage) , Ct 20.34

Ag/12692 :A(H1N1)pdm2009 : A/California/7/2009 (4 passages), Ct 19.83

Ag/12693: B (YAMAGATA) : B/Stockholm/12/2011 (1 passage), Ct 25.85

La majorité des résultats correspondait à ce que nous attendions, mais le nombre élevé de résultats faux positifs pour Influenza A pour l'échantillon Ag/12693 était remarquable et inquiétant. Ils ont tous été obtenus avec le test commercial le plus répandu et largement utilisé en Belgique.

La trousse responsable des résultats « non-interprétables » pour les 3 échantillons (Simulfluo Respiratory Screen & Simulfluo FluA/FluB) est un essai DFA (Direct Fluorescence Antigen). Ces tests ont en effet besoin d'un beau tapis cellulaire pour interpréter la fluorescence – et donc de l'antigène viral présent- de façon fiable. Etant donné qu'il s'agissait d'un surnageant très diluée d'une culture virale dans les 3 cas, les échantillons n'étaient pas aptes pour être analysés avec les trousse de DFA (étant donné la présence insuffisante de matériel cellulaire). C'est probablement également la raison pour laquelle on a décidé de répondre « négatif » pour l'échantillon Ag/12691 avec ces 2 mêmes trousse de DFA: s'il n'y a pas ou pas assez de cellules présents, il n'y a logiquement également pas d'inclusions virales à démontrer dans les cellules. Il est d'une grande importance de donner une réponse claire au clinicien, et une réponse négative a probablement d'autres conséquences que si on répond « non-interprétable ».

Les RIDT dans un format point-of-care (POC) permettent d'obtenir un diagnostic d'influenza dans les 15-30 minutes et ils sont relativement spécifiques (94-100%) pour le genre influenza, même s'ils ne sont pas capables de différencier les différents sous-types d'influenza A (ça a un intérêt thérapeutique chez certains patients spécifiques critiqueusement malades qui ont besoin d'un traitement antiviral dans la phase aiguë de l'infection). Contrairement aux DFA qui ont des sensibilités analytiques beaucoup plus élevées et en même temps une estimation de la qualité de l'échantillon clinique, les tests POC ne nécessitent pas d'infrastructure extensive ni d'expertise. Il n'est pas sans risques pour le personnel de laboratoire d'effectuer les tests de DFA pour la détection des virus hautement contagieux (aérosols), contrairement aux RIDT en format POC qui peuvent facilement être effectués entièrement dans le flux laminaire.

Plusieurs facteurs influencent l'exactitude des RIDT, comme:

* **Les signes et symptômes cohérents avec l'influenza**

la présence de signes cliniques et symptômes cohérents avec l'influenza augmente la probabilité prétest d'une infection par virus d'influenza virus, qui à son tour augmente la fiabilité d'un résultat positif de RIDT.

- * **La prévalence de l'activité d'influenza dans la population examinée**
L'activité d'influenza varie d'une année à l'autre, et est liée aux saisons, ce qui influence de manière directe les valeurs prédictives des RIDT.
- * **Le délai entre le début de la maladie et le prélèvement des échantillons respiratoires pour tester**
L'analyse des échantillons prélevés dans les 48-72h après le début de la maladie (au moment où l'excrétion virale est optimale) donne plus de résultats positifs avec les RIDT.
- * **Type d'échantillon respiratoire**
 - o Différents RIDT ont différentes spécifications en ce qui concerne le type d'échantillon acceptable (p.e. aspiration/écouvillon nasopharyngé, nasal ou de gorge). Il faut lire attentivement la notice de la trousse du RIDT qu'on utilise afin de s'assurer qu'un échantillon adéquat est prélevé et que les procédures de tests correctes sont suivies. Certains tests demandent des prélèvements à l'aide d'écouvillons spéciaux (certains RIDT doivent utiliser l'écouvillon livré avec la trousse; certains écouvillons commerciaux ou certains types d'échantillons peuvent interférer avec les résultats des RIDT, il faut donc les éviter).

Table I. Evaluation of Sensitivities of two RAT in different types of samples (ref. 10)

	Nasopharyngeal aspirate		Nasopharyngeal flocced swab		Throat flocced swab	
	Coris Respi-Strip n=938	BinaxNOW n=877	Coris Respi-Strip n=980	BinaxNOW n=694	Coris Respi-Strip n=433	BinaxNOW n=183
Compared to viral culture	58.3% n=822	66.5% n=661	36.2% n=906	33.2% n=532	12.9% n=378	10.6% n=143
Compared to RT-PCR InflA	53.0% n=290	65.8% n=428	34.1% n=662	31.6% n=462	9.0% n=209	13.9% n=54
Compared to CDC RT-PCR A/H1N1	57.1% n=39	67.7% n=302	37.6% n=144	38.7% n=394	11.0% n=55	20.8% n=53

o les RIDT doivent être effectués avec les milieux de transport pour virus adéquats ou avec des milieux alternatifs, cohérent avec les spécifications du test, au cas où l'exécution du test se déroule à une autre localisation que celle où le prélèvement a été effectué.

o Le prélèvement d'un échantillon respiratoire de haute qualité** (entre autres aspiration/écouvillon/lavage nasopharyngé ou nasal ou des écouvillons combinés nasopharyngés/de gorge) augmentera également l'exactitude des résultats des RIDT.

o Certains RIDT consomment l'échantillon entier dans cette unique analyse. Dans ce cas, il faut prévoir de prélever un deuxième échantillon pour confirmation par culture virale ou RT-PCR.

- * **L'âge du patient**
Des différences importantes dans la sensibilité des RIDT entre les adultes immunocompétents et les enfants sont principalement liées à l'excrétion virale élevée chez les jeunes patients, en combinaison avec des voies respiratoires anatomiquement plus étroites expliquant qu'on retrouve une concentration de pathogènes relativement plus élevée à ces endroits. En plus nous remarquons une expertise plus élevée des infirmières pédiatriques et des pédiatres dans le prélèvement des échantillons nasopharyngés pour le diagnostic viral.

- * **Le virus d'influenza qui circule (type, subtype,...)** varie d'une saison à une autre et influence non seulement la performance des RIDT (voir tableau 1), mais également le rendement en culture virale (la manière variable de destruction du tapis cellulaire, la vitesse et l'agressivité de la réplication dans les cellules choisies, le potentiel de croissance sur les cellules spécifiques varient en fonction des souches,...)

Table I. Performance of Influenza A RAT (compared to culture) in function of the circulating subtype

Influenza Season	Predominant Subtype	Number of Respiratory Samples	Sensitivity RAT (%)		Specificity RAT (%)	
			Coris*	BinaxNOW**	Coris	BinaxNOW
2006-2007	A/H3N2	1171 ^Δ	81.2	79.7	96.3	98.1
2007-2008	A/H1N1	3130 ^Δ	56.0		99.8	
2008-2009	A/H3N2	2375 ^Δ	66.0		99.5	
2009-2010	A/H1N1v2009	5046	36.6 ¹	47.0 ²	99.7 ¹	98.7 ²
2010-2011	A/H1N1v2009	3491		61.0		98.9

* Coris Influenza A&B Respi-Strip; ** BinaxNOW Influenza A&B; ^Δ>93% of samples: nasopharyngeal aspirates; ¹tested on 2763 samples; ²on 2883 samples

- * **L'exactitude du test en comparaison avec un test de référence test (le »gold standard « = RT-PCR ou culture virale):**

o Sensibilité des RIDT

- Proportion de résultats positifs des RIDT sur tous les résultats positifs pour le « gold standard » (RT-PCR ou culture virale)
- En général faible à moyenne (une gamme très large vu le grand nombre de variables qui jouent un rôle: 10-82%), où on remarque la sensibilité la plus élevée en cas de DFA pour les aspirations nasopharyngées pédiatriques
- Les RIDT avec une sensibilité basse donneront des résultats négatifs chez les patients avec influenza (faux -négatifs)

o Spécificité des RIDT

- Proportion de résultats négatifs des RIDT sur tous les résultats négatifs pour le « gold standard »
- En général très élevée pour les RIDT (94-100%)
- Un RIDT avec une spécificité élevée ne produira pas fréquemment des résultats positifs chez les patients sans infection d'influenza (nombre de faux positifs très limité)-à condition de suivre les instructions de la firme

Le grand nombre de résultats faux positifs d'influenza A pour l'échantillon Ag/16193 obtenus avec la trousse BinaxNOW d'Alere Health était selon le producteur dû à la matrice de dilution, à savoir l'H₂O. Ceci aurait dû être un milieu tamponné.

** La qualité des échantillons cliniques est un facteur de détermination crucial pour le diagnostic viral. Des différences concluantes et significatives dans les caractéristiques de performance des RIDT sont obtenues pour les différents types d'échantillons; elles montrent clairement qu'une aspiration nasopharyngée reste l'échantillon optimal pour le diagnostic d'une infection respiratoire virale. De toute façon, le prélèvement d'un écouvillon nasopharyngé est une alternative valable pour les examens épidémiologiques étant donné qu'il est plus facile à prélever (surtout chez les patients ambulatoires), il ne demande pas d'équipement supplémentaire, il est mieux accepté par le patient lui-même et pas ses parents et il génère moins d'aérosols que les aspirations.

M. Reynders, AZ St-Jan, Brugge

Références

1. Taylor J, McPhie K, Druce J, Birch C, Dwyer E. (2009) Evaluation of twenty rapid antigen tests for the detection of human influenza A H5N1, H3N2, H1N1 and B viruses. *J Med Virol*;81:1918-1922.
2. Chan KH, Lai S, Poon L, Guan Y, Yuen K, Peiris JSM. (2009) Analytical sensitivity of rapid influenza antigen detection tests for swine-origin influenza virus (H1N1). *J Clin Virol*;45:205-207.
3. Faix DJ, Sherman SS, Waterman SH. (2009) Rapid-test sensitivity for novel swine-origin influenza (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med*;361(7):728-729.
4. Hurt AC, Alexander R, Hibbert J, Deed N, Barr IG. (2007) Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens. *J Clin Virol*;39:132-5.
5. Pollock NR, Duong S, Cheng A, Han LL, Smole S, Kirby JE. (2009) Ruling Out Novel H1N1 Influenza Virus Infection with Direct Fluorescent Antigen Testing. *Clin Infect Dis*; 49(6):e66-8.
6. Petric M, Comanor L, Petti CA. (2006) Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis*;194 (Suppl 2):S98-110.
7. Playford EG and Dwyer DE. (2002) Laboratory diagnosis of influenza virus infection. *Pathology*; 34:115-125.
8. Uyeki TM, Prasad R, Vukotich C, Stebbins S, Rinaldo CR, Ferng YH, et al (2009) Low sensitivity of rapid diagnostic test for influenza. *Clin Infect Dis*; 48(9):e89-92.
9. Drexler JF, Helmer A, Kirberg H, Reber U, Panning M, Müller M, et al. (2009) Poor Clinical Sensitivity of Rapid Antigen Test for Influenza A Pandemic (H1N1)2009 Virus. *Emerg Infect Dis*; 15(10):1662-4.
10. Reynders M, De Foor M, Maaroufi Y, Thomas I, Vergison A, Debulpaep S, Vandenberg O, Crokaert F. Prospective evaluation of Coris Influa-A&B Respi-Strip and of BinaxNOW Influenza A&B assay against viral culture and real-time PCR assay for detection of 2009 pandemic influenza A/H1N1v in Belgian patients. *Acta Clin Belg*. 2012 Mar-Apr;67(2):94-8.

FIN
