



ormation



ormation



cherche



opération
nationale



RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITÉS SCIENTIFIQUES 2005 DU COMITÉ D'ASSURANCE QUALITÉ EN MICROBIOLOGIE MÉDICALE

INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC

RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITÉS SCIENTIFIQUES
2005 DU COMITÉ D'ASSURANCE QUALITÉ
EN MICROBIOLOGIE MÉDICALE

LABORATOIRE DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC

JANVIER 2007

AUTEUR

Comité d'assurance qualité en microbiologie médicale

MEMBRES DU COMITÉ :

Claire Béliveau, présidente du Comité, microbiologiste infectiologue
Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Pierre-Jean Laflamme, microbiologiste infectiologue
Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal

Dominique Lauzon, microbiologiste infectiologue
Hôpital du Haut-Richelieu

Johanne Lefebvre, responsable qualité
Laboratoire de santé publique du Québec

Guyline Lévesque, technologiste médicale
CHUM – Hôpital St-Luc

Louise Poirier, microbiologiste infectiologue
Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Francine Tourangeau, microbiologiste infectiologue
Centre hospitalier régional de Rimouski

Pierre Turcotte, responsable des programmes d'assurance qualité
Laboratoire de santé publique du Québec

Le programme d'assurance qualité en biologie médicale est administré par le Laboratoire de santé publique du Québec.

Ce document est disponible intégralement en format électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.

Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut être obtenue en formulant une demande au guichet central du Service de la gestion des droits d'auteur des Publications du Québec à l'aide d'un formulaire en ligne accessible à l'adresse suivante : <http://www.droitauteur.gouv.qc.ca/autorisation.php>, ou en écrivant un courriel à : droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca.

Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.

CONCEPTION GRAPHIQUE
MARIE PIER ROY

DÉPÔT LÉGAL – 2^e TRIMESTRE 2007
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES CANADA
ISBN 13 : 978-2-550-49408-9 (VERSION IMPRIMÉE)
ISBN 13 : 978-2-550-49409-6 (PDF)

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
1. BACTÉRIOLOGIE	3
1.1. Bactériologie 1 – Campylobacter sp.	3
1.2. Bactériologie 2 – Clostridium difficile	3
1.3. Bactériologie 3	4
1.3.1. Streptococcus β-hémolytique du groupe B (agalactiae)	5
1.3.2. Neisseria gonorrhoeae, résistant à la ciprofloxacine	5
1.3.3. Stenotrophomonas maltophilia	6
2. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE	7
2.1. Biologie moléculaire 1 – Virus de l'hépatite C	7
2.2. Biologie moléculaire 2 – Mycobacterium tuberculosis	8
2.3. Biologie moléculaire 3 – Chlamydia Trachomatis	9
3. MYCOLOGIE	11
3.1. Mycologie 1	11
3.1.1. Absidia sp. (corymbifera)	11
3.1.2. Aspergillus terreus	11
3.1.3. Trichophyton tonsurans	11
3.1.4. Saccharomyces cerevisiae	11
3.2. Mycologie 2	12
3.2.1. Aspergillus versicolor	12
3.2.2. Acremonium sp.	12
3.2.3. Epidermophyton floccosum	12
3.2.4. Aureobasidium sp.	12
4. PARASITOLOGIE SANGUINE	13
4.1. Plasmodium ovale, parasitémie : $0,45 \pm 0,29$ %	13
4.2. Babesia sp., parasitémie : $0,87 \pm 0,63$ %	13
4.3. Frottis sanguin négatif	13
5. SÉROLOGIE	15
5.1. Sérologie 1 – Hépatite B	15
5.2. Sérologie 2 – Rubéole	16
6. VIROLOGIE	19
6.1. Virologie 1 – Herpès simplex	19
7. QUESTIONNAIRES ENQUÊTES	21
8. CONCLUSION	23

INTRODUCTION

Le Comité d'assurance qualité en microbiologie (CAQM) est composé de représentants de l'Association des médecins microbiologistes infectiologues du Québec (AMMIQ), d'une représentante de l'Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec (OPTMQ) et de professionnels du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ). Le LSPQ assure la coordination des activités de contrôle externe de la qualité (CEQ) pour les 112 laboratoires de biologie médicale publics et privés du Québec effectuant des analyses microbiologiques.

Les principaux objectifs du programme sont de permettre aux laboratoires de s'auto-évaluer et d'améliorer continuellement leur performance dans les différentes étapes du processus diagnostic : protocoles standardisés, résultats analytiques précis, rapports de laboratoire conformes, incluant les valeurs et les outils de formation appropriés. Le comité définit annuellement les objectifs scientifiques et détermine les constituants et la structuration des programmes spécifiques à chaque secteur d'activité.

En plus de poursuivre les activités déjà établies et connues en bactériologie, mycologie, sérologie, parasitologie et biologie moléculaire, le Comité a introduit cette année un contrôle pour la détection de toxines de *Clostridium difficile* et un contrôle sur la détection du virus herpès simplex. En raison de l'importance d'un diagnostic étiologique des infections respiratoires virales, un questionnaire d'enquête sur les analyses effectuées pour la détection des virus respiratoires a été réalisé. L'analyse des résultats permettra de développer un programme de contrôle externe de la qualité en 2006. Enfin, une attention particulière a été apportée aux rapports de laboratoire : inscription des valeurs de contrôle pour les tests sérologiques et de biologie moléculaire, et mention « maladie à déclaration obligatoire » sur les rapports, lorsqu'indiqué.

Dans le futur, afin d'augmenter la portée et la pertinence des activités du programme, le Comité tentera d'accélérer la production des comptes-rendus après chacun des envois. Enfin, le Comité veut assurer la communication entre les différents comités d'assurance qualité en biologie médicale dont les laboratoires peuvent se partager les tests (ex. sérodiagnostic de l'hépatite B, diagnostic de la malaria, dosage des médicaments, etc.).

1. BACTÉRIOLOGIE

1.1. BACTÉRIOLOGIE 1 – *CAMPYLOBACTER SP.*

Nombre de laboratoires visés : 6

Objectifs :

1. Vérifier l'impact du programme de CEQ sur l'amélioration de la qualité en regard de l'isolement et l'identification de *Campylobacter sp.* dans les selles.

Six laboratoires avaient été incapables d'isoler les souches de *Campylobacter sp.* lors de deux contrôles antérieurs (2001 et 2002). Un troisième contrôle, composé de trois échantillons, a été envoyé à ces mêmes laboratoires en mars 2005 afin de vérifier leur capacité à isoler ce pathogène. Le LSPQ a fourni les milieux de culture sélectifs appropriés. afin de comparer la pousse avec celle sur les milieux utilisés localement. L'analyse des résultats permettait ainsi d'identifier le problème, soit la qualité des géloses, la température et l'atmosphère d'incubation.

Les 6 laboratoires ont obtenu les résultats attendus. Les laboratoires sous-performants avaient donc identifié leurs problèmes et apporté les correctifs nécessaires.

1.2. BACTÉRIOLOGIE 2 – *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Nombre de laboratoires inscrits : 71

L'envoi comprenait trois (3) échantillons de selles pour la recherche de toxines de *Clostridium difficile*.

Objectifs :

1. Vérifier la capacité des laboratoires à détecter les toxines de *C. difficile*.
2. Documenter les méthodes utilisées au Québec pour la recherche de *C. difficile*.
3. Vérifier le libellé et la conformité des rapports de laboratoire.

Nombre de laboratoires participants	70
Nombre de laboratoires ayant obtenu les résultats attendus dans les 3 spécimens soumis	70/70 (100 %)

Les laboratoires du Québec sont donc en mesure de diagnostiquer correctement les patients avec une diarrhée à *C. difficile*. Il est bien établi que les cliniciens doivent disposer de tests fiables pour la détection des toxines A et B, et des tests de confirmation (ex. : recherche de cytotoxine de *C. difficile* sur lignée cellulaire avec confirmation par neutralisation) lorsque la situation l'exige. Une attention particulière doit être apportée aux conditions de transport des échantillons afin qu'elles respectent les exigences de la technique utilisée.

Enfin, l'analyse des copies de rapports fournis par les participants a permis de proposer des standards de pratique. Ainsi, il est recommandé :

- de préciser sur le rapport le type de toxine recherchée (A/B) et la technique utilisée (ex. : EIA, nom de la trousse, lignée cellulaire, etc.) ;
- d'ajouter un commentaire à l'effet de « communiquer rapidement un résultat positif de recherche de toxines du *C. difficile* au médecin traitant ».

L'application de ces recommandations sera vérifiée lors d'un prochain contrôle de la qualité. Les responsables seront également invités à faire parvenir leur protocole de laboratoire.

1.3. BACTÉRIOLOGIE 3

Nombre de laboratoires inscrits : 114

Trois échantillons (écouvillonnage vagino-rectal, écouvillonnage conjonctival, liquide de lavage broncho-alvéolaire) ont été soumis pour identification et antibiogramme associé lorsqu'indiqué.

Objectifs :

1. Vérifier la capacité des laboratoires à isoler *Streptococcus agalactiae* à partir d'un écouvillonnage vagino-rectal chez une femme enceinte.
2. Vérifier la capacité des laboratoires à procéder aux épreuves de sensibilité à l'érythromycine et à la clindamycine sur une souche de *S. agalactiae* isolée d'un prélèvement vagino-rectal chez une femme enceinte allergique à la pénicilline.
3. Vérifier la capacité des laboratoires à isoler *Neisseria gonorrhoeae* à partir d'un écouvillon conjonctival.
4. Vérifier la capacité des laboratoires à détecter la résistance à la ciprofloxacine d'une souche de *Neisseria gonorrhoeae*.
5. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Stenotrophomonas maltophilia* isolé d'un liquide de lavage broncho-alvéolaire.
6. Vérifier si les laboratoires respectent les normes du CLSI pour les épreuves de sensibilité de *Stenotrophomonas maltophilia*.

1.3.1. *Streptococcus β-hémolytique* du groupe B (*agalactiae*)

Nombre de laboratoires participants	104
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour l'identification	104/104 (100 %)
Nombre de laboratoires ayant procédé à une épreuve de sensibilité	74/104 (71 %)
Nombre de laboratoires n'ayant pas appliqué la procédure appropriée concernant la sensibilité du SGB dans un contexte de grossesse et d'allergie majeure à la pénicilline	21/104 (20 %)

L'envoi d'une souche de *Streptococcus agalactiae* dans un échantillon vagino-rectal visait à vérifier si les laboratoires procèdent à la détermination de la sensibilité à l'érythromycine et à la clindamycine telle que recommandée dans les cas où la patiente est allergique à la pénicilline. Parmi les 104 laboratoires à avoir identifié le streptocoque du groupe B, 74 (71 %) ont effectué une épreuve de sensibilité à la clindamycine et à l'érythromycine, tel que recommandé, et 9 (9 %) auraient acheminé la souche dans un laboratoire de référence pour épreuves de sensibilité. Cependant, 21 laboratoires n'auraient pas fait d'épreuve de sensibilité, auraient effectué des épreuves à des antimicrobiens non recommandés dans un contexte de grossesse ou d'allergie majeure à la pénicilline, ou n'auraient pas rapporté les résultats appropriés.

Les souches de *S. agalactiae* isolées à partir d'un écouvillonnage vagino-rectal d'une femme enceinte avec histoire d'allergie à la pénicilline doivent être testées pour leur sensibilité à l'érythromycine et à la clindamycine. Les laboratoires qui ne sont pas en mesure de procéder à ces épreuves doivent référer ces souches à un laboratoire de référence.

Nombre de laboratoires participants	105
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour l'identification	97/105 (92 %) ¹
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure pour l'identification	0/105 (8 %)
Nombre de laboratoires ayant effectué une épreuve de sensibilité	44/97 (45 %)
Nombre de laboratoires ayant rapporté la souche résistante à la ciprofloxacine (ofloxacine)	40/44 (91 %)

¹ Les huit autres laboratoires qui ont rapporté soit *Neisseria sp.*, soit diplocoques à Gram négatif ont tous indiqué qu'ils référerait la souche à un autre laboratoire pour fin de confirmation et de sensibilité aux antibiotiques.

1.3.2. *Neisseria gonorrhoeae*, résistant à la ciprofloxacine

L'envoi d'une souche de *Neisseria gonorrhoeae* à partir d'un écouvillonnage conjonctival, visait à vérifier la capacité des laboratoires effectuant des épreuves de sensibilité aux antibiotiques à détecter la résistance à la ciprofloxacine.

- Il est recommandé à tous les laboratoires qui effectuent des épreuves de sensibilité d'inclure la ciprofloxacine et une de trois céphalosporines suivantes : ceftriaxone, céfixime ou céfotaxime.

- Pour les laboratoires qui ne sont pas en mesure d'effectuer d'épreuves de sensibilité pour les souches de *N. gonorrhoeae*, il est recommandé de faire appel à un laboratoire de référence.

1.3.3. *Stenotrophomonas maltophilia*

Nombre de laboratoires participants	91
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour l'identification	85/91 (93 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure pour l'identification	5/91 (5 %)
Nombre de laboratoires ayant procédé à une épreuve de sensibilité	80/85 (94 %)
Nombre de laboratoires ayant procédé à une épreuve de sensibilité selon les recommandations du CLSI	75/80 (94 %)

L'envoi d'une souche de *Stenotrophomonas maltophilia* dans un liquide de lavage broncho-alvéolaire voulait vérifier que les dernières normes du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) pour les épreuves de sensibilité faites sur ce type de bactérie soient bien en vigueur et respectées.

Parmi les 85 laboratoires ayant identifié *S. maltophilia*, 80 effectuent des épreuves de sensibilité aux antibiotiques et 75 rapportent les résultats pour le thriméthoprime-sulfaméthoxazole, selon les recommandations et les critères du CLSI. Toutefois, 53 laboratoires (67 %) rapportent aussi des résultats pour des antibiotiques qui ne figurent pas dans la liste recommandée par le CLSI pour ce type d'isolats.

Les laboratoires devraient utiliser la méthode et les critères d'interprétation publiés en janvier 2005 par le CLSI pour les épreuves de sensibilité du *Stenotrophomonas maltophilia* et s'assurer des mises à niveau périodiques de leurs protocoles.

2. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

2.1. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE 1 – VIRUS DE L'HÉPATITE C

Nombre de laboratoires inscrits : 8

L'envoi comprenait cinq échantillons : deux échantillons positifs et trois négatifs.

Objectifs :

1. Évaluer la capacité des laboratoires à identifier les échantillons négatifs et positifs selon une technique d'amplification d'acides nucléiques.
2. S'assurer de l'utilisation du contrôle interne d'amplification pour détecter la présence d'inhibiteurs dans les échantillons.
3. S'assurer que les trousse et les réactifs sont utilisés en deçà de la date de péremption.
4. Vérifier la qualité du rapport de laboratoire en particulier quant à la mention qu'un résultat positif est associé à une maladie à déclaration obligatoire; esurer le temps-réponse des laboratoires.
5. Vérifier la qualité des protocoles de laboratoire selon les recommandations faites lors du contrôle précédent.

Nombre de laboratoires participants	8
Nombre de laboratoires ayant obtenu les résultats attendus	8/8
Nombre de laboratoires qui incluent le contrôle interne d'amplification	8/8
Nombre de laboratoires qui ont utilisé une trousse au-delà de la date de péremption	0/8
Nombre de laboratoires qui inscrivent la mention MADO sur leur rapport de laboratoire pour les résultats positifs ^{1,2,3}	4/5
Nombre de laboratoires qui possèdent un protocole de laboratoire bien défini ⁴	4/8

1 Le laboratoire du Nouveau-Brunswick a été exclu de l'évaluation MADO.

2 Deux laboratoires n'ont pas fourni de rapport de laboratoire tel que demandé.

3 Les laboratoires qui n'inscrivent pas la mention MADO pour les résultats positifs sont imputables d'une erreur majeure.

4 Quatre (4) laboratoires ont envoyé une procédure détaillée et deux autres ont fourni une copie des instructions abrégées du manufacturier. Un laboratoire n'a envoyé qu'une photocopie de la monographie du manufacturier. Enfin, un laboratoire n'a fourni aucune copie de sa procédure.

Le Comité d'assurance qualité en microbiologie a signalé l'importance d'inscrire la cible (ARN VHC), le seuil de détection et le nom de la trousse sur le rapport de laboratoire puisque ces informations sont utiles pour l'interprétation du résultat. Cette recommandation est conforme aux exigences de la Norme internationale ISO 15189 : 2003 « Laboratoires d'analyses de biologie médicale — Exigences particulières concernant la qualité et la compétence », à laquelle les laboratoires devront se conformer d'ici 2008.

Le temps-réponse est important dans l'évaluation de la qualité des services. En ce sens, la majorité des laboratoires a fourni les résultats dans un délai acceptable, soit en 14 jours.

La disponibilité d'une procédure de laboratoire détaillée et conforme aux exigences scientifiques est à la base des bonnes pratiques de laboratoire. La monographie du manufacturier ou une version abrégée de celle-ci ne sont pas acceptables à titre de protocole de laboratoire mais peuvent en faire partie. Une copie de la procédure en vigueur au LSPQ pour la mesure de la charge virale du VHC a été fournie aux participants à titre d'exemple.

2.2. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE 2 – *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Nombre de laboratoires inscrits : 10

Trois échantillons ont été envoyés.

Objectifs :

1. Vérifier la capacité des laboratoires à détecter le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) dans un spécimen par une technique d'amplification d'acides nucléiques (TAAN).
2. Vérifier si les laboratoires recherchent la présence d'inhibiteurs dans les échantillons.

Numéros d'échantillon	Trousse Amplicor™ (Roche)	Trousse Gen-Probe AMTD2™
NAA-1	Négatif	Présence d'inhibiteurs
NAA-2	Présence d'inhibiteurs	Négatif
NAA-3	Positif	Positif

Le spécimen NAA-1 contenait une solution de phosphate de sodium 1M, un inhibiteur de la réaction « transcription-mediated amplification » (TMA) dans la technique utilisant la trousse Gen-Probe AMTD2™. Or, aucun laboratoire au Québec n'utilise cette trousse et un résultat rapporté négatif était correct.

Le spécimen NAA-2 contenait de l'héparine (100 UI/mL), un inhibiteur de la réaction « polymerase chain reaction » (PCR) dans la technique utilisant la trousse Amplicor™ de Roche. Ce résultat a été rapporté par la majorité des participants avec des nuances quant au traitement subséquent de l'échantillon et à son interprétation finale.

Le troisième échantillon (NAA-3) contenait une suspension aqueuse de *Mycobacterium bovis* BCG à une concentration de 50–100 UFC/ml.

Nombre de laboratoires participants	10
Nombre de laboratoires ayant obtenu les résultats attendus	8/10
Nombre de laboratoires qui incluent le contrôle interne d'amplification	10/10
Nombre de laboratoires qui ont utilisé une trousse au-delà de la date de péremption	0/10

Tous les laboratoires québécois qui font la détection du complexe *Mycobacterium tuberculosis* par TAAN ont participé au contrôle et ont obtenu le résultat attendu pour l'échantillon NAA-1 (négatif). Bien qu'ils aient tous fait la recherche des inhibiteurs dans les échantillons de contrôle soumis, 9 des 10 laboratoires québécois ont indiqué la présence d'inhibiteurs dans l'échantillon NAA-2. Le laboratoire qui a fourni un résultat négatif après avoir dilué le spécimen NAA-2, sans mentionner la présence d'inhibiteurs, ce qui est inadéquat puisque potentiellement associé à l'émission d'un résultat faussement négatif. La procédure de dilution d'un spécimen contenant des inhibiteurs est adéquate à condition de signaler dans le rapport que l'échantillon a été dilué et qu'un résultat négatif n'exclut pas la présence du microorganisme recherché.

Le laboratoire qui a rapporté un résultat faussement négatif pour le spécimen NAA-3 doit revoir ses procédures.

2.3. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE 3 – CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Nombre de laboratoires inscrits : 39

Deux troussees sont utilisées pour la détection de *Chlamydia trachomatis* par amplification des acides nucléiques (TAAN). Trente-deux laboratoires utilisent la trousse AMPLICOR™ (Roche), et sept, la trousse BDProbeTec™ ET (Becton Dickinson). Les milieux de transport spécifiques à chaque trousse ont été utilisés.

Trois échantillons ont été envoyés :

- un spécimen positif (> 100 corps élémentaires de *C. trachomatis* / ml);
- un spécimen positif à la même concentration de *C. trachomatis* que le spécimen précédent, mais contenant de l'acide humique à une concentration finale de 0,0012 %, un inhibiteur dans l'épreuve AMPLICOR™ de Roche;
- un spécimen négatif.

Objectifs :

1. Évaluer la capacité des laboratoires à détecter la présence de *C. trachomatis* sur des prélèvements endocervicaux.
2. S'assurer de l'utilisation de contrôles internes d'amplification pour détecter la présence d'inhibiteurs dans les échantillons.
3. S'assurer que les troussees et les réactifs sont utilisés en deçà de la date de péremption.

Nombre de laboratoires participants ¹	38
Nombre de laboratoires utilisant les réactifs de Roche ayant obtenu les résultats attendus	29/31 (94 %)
Nombre de laboratoires utilisant les réactifs de Becton Dickinson ayant obtenu les résultats attendus	7/7 (100 %)
Nombre de laboratoires qui ont utilisé une trousse au-delà de la date de péremption	0/38 (0 %)
Nombre de laboratoires qui n'incluent pas de contrôle interne d'amplification	5/38 (13 %)
Nombre de laboratoires qui calculent la prévalence	23/38 (61 %)

1 Un (1) laboratoire n'a pas participé parce qu'il effectue l'analyse uniquement sur des échantillons d'urine alors qu'il s'agissait de prélèvements endocervicaux.

La performance des laboratoires pour les spécimens sans inhibiteur pour *Chlamydia trachomatis* est excellente.

Deux des 31 utilisateurs de la trousse AMPLICOR™ de Roche et 3 des 7 utilisateurs de la trousse BD ProbeTec™ ET de Becton Dickinson, ne recherchent pas systématiquement la présence d'inhibiteurs tel que recommandé par les manufacturiers. Ceci constitue une erreur majeure puisque des résultats faussement négatifs peuvent s'ensuivre.

Le Comité avait déjà fait mention de l'importance d'utiliser des contrôles internes d'amplification lors du dernier contrôle de la qualité en 2004. À défaut de respecter cette procédure, les laboratoires doivent minimalement informer leur clientèle et inscrire sur le rapport d'analyse qu'ils n'effectuent pas la recherche de substances inhibitrices dans les échantillons et qu'un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection à *C. trachomatis*.

Tous les laboratoires ont respecté la date de péremption des troussees et réactifs.

Près de 40 % des laboratoires qui ont participé à ce contrôle n'ont aucune donnée disponible sur leur taux de positivité pour *C. trachomatis*. Il est important pour un laboratoire de connaître ses taux de positivité, surtout pour détecter toute non-conformité dans les processus pré-analytiques et analytiques.

3. MYCOLOGIE

3.1. MYCOLOGIE 1

Nombre de laboratoires inscrits : 54

Objectifs :

1. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Absidia* sp., un champignon de la classe des zygomycètes communément isolé au Québec et occasionnellement responsable d'infections graves.
2. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Aspergillus terreus*, un champignon parfois responsable d'infections profondes et considéré résistant à l'amphotéricine B.
3. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Trichophyton tonsurans*, un dermatophyte communément responsable d'infections du cuir chevelu.
4. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Saccharomyces cerevisiae*, une levure occasionnellement responsable de fongémie.

3.1.1. *Absidia* sp. (corymbifera)

Nombre de laboratoires participants	52
Nombre de laboratoires ayant obtenu un résultat correct	36/52 (69 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur d'identification au genre	12/52 (23 %) ¹

3.1.2. *Aspergillus terreus*

Nombre de laboratoires participants	51
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu	45/51 (88 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur d'identification à l'espèce	3/51 (6 %) ²

3.1.3. *Trichophyton tonsurans*

Nombre de laboratoires participants	53
Nombre de laboratoires ayant obtenu un résultat correct	47/53 (89 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure	6/53 (11 %) ³

3.1.4. *Saccharomyces cerevisiae*

Nombre de laboratoires participants	52
Nombre de laboratoires ayant obtenu un résultat correct	50/52 (96 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure	1/52 (2 %) ⁴

- 1 Tous les participants ayant rapporté une identification ont reconnu cet organisme comme appartenant à l'ordre des Mucorales. Toutefois, douze d'entre eux ont commis une erreur d'identification au genre.
- 2 Seulement 3 laboratoires ont fourni de fausses identifications à l'espèce pour cette souche. Ceux-ci auraient intérêt à réviser les caractéristiques des principales espèces d'*Aspergillus* isolées en laboratoire biomédical.
- 3 Malgré la fréquence d'isolement relativement élevée des dermatophytes, leur identification demeure souvent un défi à cause des variations morphologiques observées entre souches d'une même espèce. Les laboratoires ayant peu d'expertise à cause d'un volume d'analyses trop faible devraient avoir recours à un laboratoire régional pour identifier ces microorganismes.
- 4 De façon générale, un seul problème majeur a été observé dans l'identification de ce spécimen et il se situe au niveau du manque d'expertise dans l'identification des levures ou dans la manière de rapporter ses résultats.

3.2. MYCOLOGIE 2

Nombre de laboratoires inscrits : 54

Objectifs :

1. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Aspergillus versicolor*, un champignon communément isolé au Québec et habituellement non pathogène.
2. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Acremonium sp.*, un champignon occasionnellement responsable d'infections le plus souvent associées à une inoculation post-traumatique.
3. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Epidermophyton floccosum*, un dermatophyte responsable d'infections de la peau glabre.
4. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier *Aureobasidium sp.*, un organisme levuriforme le plus souvent isolé en tant que contaminant, mais occasionnellement responsable d'infections profondes.

3.2.1. *Aspergillus versicolor*

Nombre de laboratoires participants	52
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu	36/52 (69 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur d'identification à l'espèce	8/52 (15 %) ¹

3.2.2. *Acremonium sp.*

Nombre de laboratoires participants	52
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu	41/52 (79 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur d'identification au genre	7/52 (13 %) ²

3.2.3. *Epidermophyton floccosum*

Nombre de laboratoires participants	52
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu	48/52 (92 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure	2/52 (4 %) ³

3.2.4. *Aureobasidium sp.*

Nombre de laboratoires participants	52
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu	28/52 (54 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur d'identification au genre	14/52 (27 %) ⁴

- 1 La grande majorité des participants a reconnu cette souche comme appartenant au genre *Aspergillus*. Toutefois, l'identification à l'espèce demeure difficile pour plusieurs d'entre eux.
- 2 Six des 7 laboratoires ont faussement identifié *Verticillium sp.* probablement suite à l'observation sporadique de phialides qui semblaient regroupées en verticilles. On doit toujours se baser sur la présence de structures bien visibles et présentes en assez grand nombre pour poser un diagnostic.
- 3 Un bon taux de réussite a été observé pour cette espèce beaucoup moins souvent isolée que les *Microsporum* et *Trichophyton*.
- 4 La confusion occasionnée par cet organisme met en relief les difficultés du travail d'identification en mycologie du fait que cette expertise repose pour l'essentiel sur l'examen morphologique. Les laboratoires qui ont peu d'expérience doivent poursuivre leur formation et, dans les situations qui le réclament, ne pas hésiter à demander l'aide de laboratoires plus expérimentés.

4. PARASITOLOGIE SANGUINE

Nombre de laboratoires inscrits : 86

Objectifs :

1. Déterminer la capacité d'un laboratoire à détecter la présence de *Plasmodium* sp. lorsque le taux de parasitémie est <1 %.
2. Déterminer la capacité des laboratoires de catégorie 2 à distinguer *Plasmodium falciparum* des autres espèces et des laboratoires de catégorie 3 à identifier les *Plasmodium* à l'espèce.
3. Vérifier la capacité des laboratoires à rapporter la présence de *Babesia* sp.
4. Vérifier la capacité des laboratoires à rapporter un frottis négatif.

4.1. *PLASMODIUM OVALE*, PARASITÉMIE : 0,45 ± 0,29 %

Nombre de laboratoires participants	81
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour l'identification	74/81 (91 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure pour l'identification	1/81 (1 %)
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour le pourcentage (%) de la parasitémie	66/79 (84 %)

4.2. *BABESIA SP.*, PARASITÉMIE : 0,87 ± 0,63 %

Nombre de laboratoires participants	78
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour l'identification	54/78 (69 %) ¹
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure pour l'identification ¹	21/78 (27 %) ¹
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour le pourcentage (%) de la parasitémie	35/40 (88 %)

¹: Le spécimen contenant le *Babesia* sp. a été envoyé comme matériel d'enseignement.

4.3. FROTTIS SANGUIN NÉGATIF

Nombre de laboratoires participants	81
Nombre de laboratoires ayant obtenu le résultat attendu pour l'identification	79/81 (98 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure pour l'identification	1/81 (1 %)

La performance des laboratoires s'est révélée excellente pour *P. ovale* (91 %) et pour le frottis négatif (98 %), mais plus faible pour *Babesia* sp. (69 %), un sporozoaire intracellulaire comme *Plasmodium*. Il existe plusieurs espèces de *Babesia*, dont *B. microti*, parasite des rongeurs, qui est l'espèce la plus répandue aux États-Unis (région du nord-est). Ce parasite peut être confondu morphologiquement avec *Plasmodium falciparum*. Il est transmis à l'humain par une piqûre de tique (*Ixodes scapularis*,) .Les informations cliniques sont,

comme toujours, très importantes pour orienter le diagnostic puisque la distribution géographique des deux infections est différente.

La majorité des laboratoires a bien calculé les taux de parasitémie. Les laboratoires qui ont obtenu des valeurs > 5 fois plus élevées que la moyenne établie devraient revoir leur méthode d'estimation des taux de parasitémie.

Étant donné l'importance de l'identification à l'espèce des *Plasmodium* sp. pour le traitement des patients, le Comité d'assurance qualité recommande que les laboratoires avec peu d'expertise et/ou avec doutes quant à l'identification de l'espèce, réfèrent les frottis à un laboratoire avec expertise pour la confirmation.

Le Comité rappelle aux participants que la malaria est une urgence infectieuse, en particulier la malaria à *P. falciparum*, laquelle est associée à une morbidité et une mortalité significative. Il s'agit donc d'une analyse de laboratoire urgente dont le résultat doit être transmis rapidement au médecin en précisant l'espèce, le taux de parasitémie et la référence pour confirmation à un laboratoire expert, le cas échéant. Il est également important d'y préciser que la malaria ou la babésiose sont des maladies à déclaration obligatoire (MADO).

5. SÉROLOGIE

5.1. SÉROLOGIE 1 – HÉPATITE B

Nombre de laboratoires inscrits : 70

Trois échantillons de plasma prélevés dans le contexte d'une exposition accidentelle ont été envoyés pour la recherche du virus de l'hépatite B (Ag HBs). Deux autres échantillons ont été envoyés pour la recherche d'anticorps anti-HBs, avec une demande de statut immunitaire post vaccination.

Objectifs :

1. Vérifier la capacité des laboratoires à détecter la présence de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs).
2. Vérifier que les laboratoires confirment les résultats positifs au test Ag HBs par la recherche d'anti-HBc total ou, si cette épreuve est non disponible localement, qu'ils acheminent les échantillons à un centre de référence pour un test de confirmation.
3. Vérifier si les laboratoires inscrivent la mention MADO pour les échantillons Ag HBs positifs.
4. Vérifier que les rapports de dosage de l'anti-HBs indiquent le seuil d'immunité (10 mUI/ml).
5. S'assurer que les trousse et réactifs ont été utilisés en deçà de la date de péremption.

Nombre de laboratoires participants	67
Nombre de laboratoires ayant obtenu les résultats attendus (Ag HBs)	63/67 (94 %)
Nombre de laboratoires qui procèdent à la recherche d'anti-HBc total pour les échantillons Ag Hbs positifs.	33/67 (49 %)
Nombre de laboratoires qui achemineraient l'échantillon Ag HBs positif à un laboratoire de référence pour un test de neutralisation ou de confirmation.	30/67 (45 %)
Nombre de laboratoires qui indiquent sur leur rapport qu'un résultat Ag HBs positif est à déclaration obligatoire (MADO).	33/67 (49 %)
Nombre de laboratoires ayant obtenu les résultats attendus (anti-HBs)	58/61 (95 %)
Nombre de laboratoires qui ont utilisé une trousse au-delà de la date de péremption	1/67 (1 %)
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure	8/67 (12 %)

Tous les laboratoires ont été en mesure de détecter l'échantillon l'Ag HBs positif. Cependant, 4 laboratoires ont rapporté un résultat faussement positif pour l'un ou l'autre des 2 échantillons négatifs. Presque tous les laboratoires confirmeraient les échantillons positifs à l'Ag HBs par une recherche d'anti-HBc (49 %) ou en les envoyant dans un laboratoire de référence (45 %). Seulement 49 % indiqueraient sur leur rapport d'Ag HBs positif qu'il s'agit d'une maladie à déclaration obligatoire (MADO), une lacune importante.

Pour la détermination du statut immunitaire anti-HBs, presque tous les participants (93 %) ont obtenu un résultat conforme et rapporté la valeur quantitative d'anticorps, soit en UI/L (42/61), soit en mUI/ml (15/61). Un des participants a émis ses résultats en UI/ml, ce qui ne correspond pas au rapport d'unités pour cette analyse. Trois laboratoires n'ont pas inscrit de valeur unitaire. Un utilisateur a fourni ses résultats en densité optique (DO) et un autre sous forme de ratio. Nous rappelons aux laboratoires l'importance de rapporter le résultat de cette analyse en UI/L ou mUI/ml en précisant que le seuil d'immunité est de ≥ 10 UI/L (mUI/ml).

Enfin, il est surprenant de constater que des laboratoires utilisent encore pour leurs analyses, des trousse dont la date de péremption est dépassée malgré les mises en garde adressées à cet effet dans les contrôles précédents.

5.2. SÉROLOGIE 2 – RUBÉOLE

Nombre de laboratoires inscrits : 76

Ce contrôle externe de la qualité incluait deux échantillons positifs et un échantillon négatif. Les instructions précisait qu'il s'agissait d'une demande de sérologie pour la détermination du statut immunitaire dans le cadre d'un dépistage de grossesse.

Objectifs :

1. Vérifier la capacité des laboratoires à identifier correctement les échantillons qui contiennent des anticorps contre la rubéole.
2. Vérifier si les laboratoires indiquent que le seuil d'immunité est ≥ 10 UI/ml.
3. Pour les échantillons ayant un résultat d'anticorps inférieur à 10 UI/ml, vérifier que les laboratoires insèrent une remarque à l'effet que la vaccination serait recommandée en postpartum.
4. S'assurer que les trousse et les réactifs ont été utilisés en deçà de la date de péremption.

Nombre de laboratoires participants	75 ¹
Nombre de laboratoires ayant obtenu les résultats attendus pour les sérums	72/74 (97 %)¹
Nombre de laboratoires qui ont fourni des copies de leurs rapports de laboratoire tels qu'ils seraient envoyés au médecin traitant	72/74 (97 %)
Nombre de laboratoires qui indiquent sur leur rapport qu'en absence d'immunité contre la rubéole, la vaccination est recommandée	33/74 (45 %)
Nombre de laboratoires qui ont utilisé une trousse au-delà de la date de péremption	1/75 (1 %)²
Nombre de laboratoires ayant fait une erreur majeure	3/75 (4 %)

- 1 Soixante-quatorze laboratoires ont effectué l'analyse requise, à savoir la recherche d'anticorps IgG contre la rubéole par une technique de type EIA (67 %) ou la recherche d'anticorps totaux par une technique d'agglutination au latex (33 %). Un laboratoire a fait uniquement la recherche d'IgM sur les 3 sérums et n'a fourni aucune information sur la recherche des IgG et le statut immunitaire pour les échantillons soumis.
- 2 Un laboratoire a utilisé une trousse commerciale périmée lors de ce contrôle, mais a indiqué qu'il attendait une livraison prochaine de nouvelles trousse et qu'il faisait confirmer ses résultats par un laboratoire extérieur dans l'intervalle.

La performance des laboratoires a été excellente pour ce contrôle (97 %). Pour les laboratoires qui indiquent le résultat obtenu en UI/mL seulement, l'interprétation du résultat (immun, non immun) devrait être inscrite sur le rapport. Il serait pertinent de recommander la vaccination en postpartum pour les patientes ayant un résultat d'anticorps contre la rubéole inférieur à 10 UI/mL et une remarque à cet effet pourrait être utile.

Dans un contexte de dépistage lors d'une grossesse, la recherche d'anticorps IgM anti-rubéole n'est pas indiquée et représente une erreur majeure. Ce test est utile pour le diagnostic d'une infection aigue et non pour la détermination du statut immunitaire.

Nous rappelons l'importance d'utiliser des trousse diagnostiques à l'intérieur des dates de péremption.

Lors du prochain contrôle de sérologie de la rubéole, les protocoles de laboratoire seront analysés pour leur conformité. De plus, des informations seront recueillies sur certains indicateurs d'assurance qualité appliqués à ce test (ex. : courbes de Levy-Jennings et suivi périodique des taux de prévalence).

6. VIROLOGIE

6.1. VIROLOGIE 1 – HERPÈS SIMPLEX

Nombre de laboratoires inscrits : 19

Ce contrôle externe de la qualité comprenait cinq échantillons pour la culture du virus herpès simplex (VHS) : deux échantillons positifs pour le VHS de type 1, un échantillon positif pour le VHS de type 2 et deux échantillons négatifs.

Objectifs :

1. Évaluer la capacité des laboratoires d'identifier correctement les échantillons négatifs et positifs incluant le type des souches isolées.
2. S'assurer que les laboratoires effectuant la culture en plaques ne rapportent pas de résultats faussement positifs secondaires à des contaminations croisées.
3. S'assurer que les trousse et les réactifs ont été utilisés en deçà de la date de péremption.
4. Vérifier la conformité du résultat rapporté sur le rapport avec les résultats inscrits sur le bordereau de travail et vérifier la clarté du libellé des rapports.

Tous les laboratoires sauf un ont obtenu les résultats attendus pour les 5 échantillons soumis. Ce dernier a fourni un résultat négatif pour les deux échantillons de VHS-1 en précisant avoir observé un effet cytopathogène et en spécifiant qu'ils seraient envoyés à un laboratoire de référence. Ce laboratoire s'est vu attribué une erreur mineure lors de ce contrôle.

L'examen des feuilles de travail fournies par 8 des 11 laboratoires effectuant la culture en plaque (24 ou 96 puits) a permis de vérifier l'absence de contamination croisée.

Les participants ont respecté les dates de péremption des produits (anticorps, cellules) utilisés et tous ont envoyé une copie de leurs rapports de laboratoire tel que demandé.

La culture de tissus demeure l'épreuve de référence pour la mise en évidence du VHS dans les échantillons cliniques, à l'exception du liquide céphalorachidien. Une attention particulière doit être apportée aux conditions de transport afin que les virus puissent conserver leur infectivité.

7. QUESTIONNAIRES ENQUÊTES

Questionnaire enquête sur l'influenza

Nombre de laboratoires visés : 117

L'objectif de ce questionnaire était de mettre à jour la liste des services disponibles pour la détection du virus de l'influenza afin de planifier un premier contrôle externe de la qualité pour les virus respiratoires, en 2006.

Cent quatorze laboratoires ont répondu au questionnaire.

En octobre 2005, 74 laboratoires offraient des analyses de laboratoire pour la détection du virus influenza. La majorité des laboratoires (70/74) utilisaient des tests rapides de détection d'antigènes.

Parmi les 9 laboratoires qui utilisent une trousse d'immunofluorescence, 3 ne l'utilisent que pour la détection d'antigènes sur des échantillons cliniques alors que 6 l'utilisent aussi pour l'identification du virus en culture. Enfin, 10 laboratoires effectuent la culture virale, 5 la détection d'acides nucléiques et 6 offrent des épreuves de sérodiagnostic.

Les laboratoires qui effectuent la détection d'acides nucléiques utilisent des techniques non commerciales et le font selon des algorithmes analytiques variables.

8. CONCLUSION

Nous tenons à souligner le taux de participation élevé des laboratoires dans tous les secteurs, ce qui témoigne de l'importance que les responsables scientifiques et techniques attribuent à la qualité des analyses.

Le Comité a poursuivi ses activités régulières et continué à développer des activités de contrôle pour de nouvelles épreuves diagnostiques très importantes telles la recherche de toxines de *Clostridium difficile* et la culture du virus herpès simplex.

Le contrôle sur la détection de toxines du *Clostridium difficile* dans les selles, alors que plusieurs centres hospitaliers du Québec étaient particulièrement touchés par l'épidémie, a permis de proposer des standards de pratiques. Ainsi, la culture cellulaire demeure l'épreuve de référence pour la mise en évidence de la cytotoxine (Toxine B) de *C. difficile*. Elle est disponible actuellement dans 24 laboratoires du réseau québécois. Ce test est principalement disponible dans les centres hospitaliers disposant d'un laboratoire de virologie. Les tests immunoenzymatiques rapides pour les toxines A/B, bien que moins sensibles, apparaissent plus pratiques en raison de leur temps-réponse très court.

Un deuxième contrôle pour *Chlamydia trachomatis* (PCR) a permis de réitérer l'importance d'incorporer un contrôle interne d'amplification afin de rechercher la présence de substances inhibitrices dans les spécimens.

L'infection à streptocoques β -hémolytiques du groupe B (SGB) constitue une cause importante de morbidité et de mortalité néonatales. Les SGB font partie de la flore vaginale normale de 10 % à 30 % des femmes. À la naissance, 50 % des nouveau-nés issus de mères colonisées seront colonisés à leur tour. En l'absence d'intervention prophylactique, 2 % des enfants colonisés développeront une infection dans les 7 jours suivant la naissance. L'infection précoce à SGB est associée à un taux de mortalité de 5 % à 9 %. En 2004, la Société canadienne d'obstétrique et de gynécologie recommandait le dépistage universel de la colonisation vagino-rectale par le SGB entre la 35^e et la 37^e semaine de grossesse et l'administration prophylactique intrapartum de pénicilline G aux femmes colonisées. Pour les patientes ayant des antécédents d'allergie sévère à la pénicilline, l'érythromycine et la clindamycine représentent des alternatives. Cependant, contrairement à la pénicilline, en raison de la résistance à ces antibiotiques, un antibiogramme doit être effectué. Les 21 laboratoires qui ne sont pas en mesure de procéder à des épreuves de sensibilité doivent acheminer les isolats à un laboratoire de référence pour les épreuves de sensibilité à la clindamycine et à l'érythromycine.

Pour la première fois, un frottis contenant du *Babesia sp.*, un sporozoaire intracellulaire ressemblant à s'y méprendre à *Plasmodium falciparum*, a été inclus. La grande majorité des laboratoires a pu repérer la présence d'un parasite, mais 25 % (19/78) des participants l'ont effectivement confondu avec *Plasmodium sp.* Un envoi similaire pourra être envisagé afin d'évaluer la portée de cette sensibilisation.

Les contrôles de la qualité envoyés pour la mycologie mettent en évidence la difficulté de maintenir une expertise dans l'identification des champignons. Comme celle-ci repose principalement sur l'examen morphologique et microscopique, quelques laboratoires ayant peu d'expérience tentent parfois d'identifier les champignons au-delà de ce qu'ils fourniraient comme résultats en routine. Ceci a pour effet d'abaisser le taux de performance globale des laboratoires qui participent à ces contrôles de la qualité. En ce sens, l'accès à de la formation continue demeure un objectif essentiel, et dans les situations qui le réclament, les laboratoires qui présentent peu d'expertise en mycologie doivent faire appel à des laboratoires plus expérimentés.

Le virus de l'hépatite B (Ag HBs) fait partie de la liste des agents infectieux associés à une maladie à déclaration obligatoire (MADO). Il est important d'insister sur l'importance d'apposer cette mention sur les rapports.

La culture de tissus demeure l'épreuve de référence pour la mise en évidence du virus herpès simplex (VHS) dans les échantillons cliniques. Le défi pour la mise en place d'un premier contrôle de la qualité consistait à assurer des conditions de transport adéquates pour que les virus puissent conserver leur infectivité.

Parmi les objectifs établis par le Comité qui n'ont malheureusement pas été atteints en 2005, mentionnons :

1. Absence de contrôle de la qualité en parasitologie intestinale, alors qu'au minimum, un envoi par année est nécessaire dans cette sphère d'activités.
2. Délai anormalement long entre la réception des résultats au contrôle externe en sérologie de l'hépatite B et l'envoi du rapport final aux participants.
3. Délai anormalement long entre la réception des résultats au contrôle externe de bactériologie et l'envoi du rapport final aux participants.
4. Report d'un contrôle pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) en 2006.

Nous remercions toutes les personnes impliquées dans le choix et la préparation du matériel, la saisie des résultats et la rédaction des rapports. La qualité du programme repose sur le travail et le professionnalisme de toutes ces personnes.

