

# Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Identification bactérienne  
Antibiogramme *Pseudomonas aeruginosa*  
Sérologie de la syphilis

Guillaume ARLET (Hôpital Tenon, Paris), Anne BIANCHI (Laboratoire Départemental, Conseil général 93),  
Christophe de CHAMPS (CHU Robert Debré, Reims), Nicole GUIISO (CNR corynebactéries toxigènes,  
Institut Pasteur Paris)  
Muriel FROMAGE (Afssaps)

Expédition : 15 septembre 2010

Clôture : 11 octobre 2010

Edition des compte-rendus individuels : 01 février 2011

Paramètres contrôlés : **Identification bactérienne** : *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Corynebacterium diphtheriae*

**Antibiogramme *P. aeruginosa*** : *P. aeruginosa* VIM-2, *P. aeruginosa* PER-1

**Sérologie de la syphilis**

Nombre de laboratoires concernés\* : 3407

Nombre de laboratoires participants\*\* : 3281

\* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer au moins une des analyses concernées par l'envoi

\*\* Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

## Résumé de l'opération

Cette opération comportait deux souches bactériennes lyophilisées à identifier : *Erysipelothrix rhusiopathiae* et *Corynebacterium diphtheriae*, précisément identifiées par respectivement 68 et 67% des laboratoires.

*E. rhusiopathiae* a été le plus souvent confondu avec *Arcanobacterium haemolyticum* (7,6% des réponses). Il s'agissait du deuxième envoi de cette souche dans le cadre du contrôle national de qualité et on note une baisse nette (-20%) des performances concernant l'identification de cette espèce bactérienne par rapport à la première opération de contrôle en 1998.

Cette baisse de performance est aussi observée pour la souche de *C. diphtheriae* également proposée en 1998 puisque l'on passe de 73 à 67% d'identification correcte.

En ce qui concerne l'antibiogramme, deux souches lyophilisées de *Pseudomonas aeruginosa* ont été proposées : l'une produisait une carbapénémase (métallo- $\beta$ -lactamase de type VIM-2), l'autre produisait une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE de type PER-1). Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche qu'ils avaient isolée vis-à-vis de 14 antibiotiques définis et de préciser le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines détecté. Bien qu'il s'agisse du premier envoi d'une souche productrice de carbapénémase dans le cadre du CNQ, plus de 7 participants sur 10 l'ont bien détectée. En revanche, seuls un peu plus de la moitié des laboratoires ont mis en évidence la BLSE. Ce mauvais résultat est dû au fait que certains systèmes experts n'ont pas proposé le phénotype de résistance « BLSE » pour cette souche qui était par ailleurs sensible à la pipéracilline.

Cette opération comportait également quatre échantillons lyophilisés (S1, S2, S3 et S4) destinés au sérodiagnostic de la syphilis par deux tests relevant chacun d'un des deux groupes réglementaires de techniques (groupe 1 : tests cardioplipidiques, groupe 2 : tests tréponémiques). Chacun des 2275 laboratoires ayant déclaré réaliser cette sérologie a reçu un des quatre échantillons.

Avec 98% de dépistages corrects, les résultats obtenus en VDRL sont très satisfaisants pour les échantillons négatifs en VDRL et TPHA (S3) ou positifs en VDRL et TPHA (S1). En revanche, on note pour les échantillons VDRL négatif et TPHA positif (S2 et S4) une proportion non négligeable (respectivement 10,4 et 7,3%) de dépistages VDRL faussement positifs ou douteux. C'est un problème récurrent pour les échantillons de type « VDRL négatif et TPHA positif » pour lesquels les biologistes semblent hésiter à rendre un VDRL négatif lorsque le TPHA est positif.

Les résultats obtenus en dépistage TPHA sont excellents avec l'échantillon négatif et l'échantillon fortement positif. En revanche, l'échantillon S4 de titre plus faible (160-320) a été dépisté négatif à tort par 14% des laboratoires.

En ce qui concerne le titrage des échantillons dépistés positifs en VDRL ou TPHA, on note un pourcentage élevé de titres conformes. Quel que soit le réactif considéré, le titre modal obtenu est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal tous réactifs confondus.

# Identification bactérienne

## Définition des échantillons

Bactérie	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	103, 119, 259, 373, 466, 642, 765, 811	bactérie isolée d'hémocultures chez un homme de 50 ans opéré d'une endocardite sur valve aortique.
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> var. <i>gravis</i>	150, 194, 212, 328, 430, 500, 746, 955	bactérie isolée d'une lésion ulcéreuse inter-orteil chez une fille de 12 ans ayant fait un séjour en Afrique quatre mois auparavant. L'enfant ne présentait pas de fièvre.

## Résultats des participants

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants ainsi que les diagnostics obtenus selon le système d'identification utilisé sont présentés dans les tableaux I à III.

tableau I - identification des souches bactériennes : fréquence des résultats

Réponse attendue	Genre exact				Genre faux	« bacille Gram positif »	Total identifications
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée	Total			
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	867 (68,1%)	-	-	867 (68,1%)	359 <sup>a</sup> (28,2%)	47 (3,7%)	1273 (100%)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	871 (66,9%)	36 (2,8%)	263 (20,2%)	1170 (89,9%)	90 <sup>b</sup> (6,9%)	41 (3,2%)	1301(100%)

a : dont 97 *Arcanobacterium haemolyticum* et 45 *Propionibacterium acnes*

b : dont 36 *Kocuria kristinae*

tableau II - *E. rhusiopathiae* : résultats de l'identification selon la technique utilisée

Méthode utilisée (effectif > 10)	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>				
	total	espèce exacte	<i>A. haemolyticum</i>	<i>P. acnes</i>	autre
<b>Galleries :</b>					
API Coryne bioMérieux	334	252	63	3	16
API 32 Strep bioMérieux	58	57	-	-	1
API non précisée	95	60	4	3	28
<b>Automates :</b>					
Vitek 2 Compact bioMérieux	274	223	12	17	22
Vitek 2 bioMérieux	182	144	8	20	10
Phoenix Becton Dickinson	15	15	-	-	-

tableau III - *C. diphtheriae* : résultats de l'identification selon la technique utilisée

Méthode utilisée (effectif > 10)	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>					
	total	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée	<i>Kocuria kristinae</i>	autre
<b>Galleries :</b>						
API Coryne bioMérieux	545	512	6	27	-	-
API non précisée	63	39	1	17	1	5
<b>Automates :</b>						
Vitek 2 Compact bioMérieux	175	136	8	4	24	3
Vitek 2 bioMérieux	168	139	6	10	10	3

## Commentaires

Le lot 1 contenait un *Erysipelothrix rhusiopathiae* correctement identifié par 68% des laboratoires (tableau I), soit 20% de moins qu'en 1998, année du 1<sup>er</sup> envoi de cette souche dans le cadre du contrôle national de qualité.

Il existe deux espèces dans le genre : *Erysipelothrix rhusiopathiae* et *Erysipelothrix tonsillarum*. Ce dernier se distingue d'*E. rhusiopathiae* par la fermentation du saccharose.

*E. rhusiopathiae* est rarement rencontrée chez l'homme. Il donne un érysipèle qui peut se compliquer de dermohypodermite, septicémie ou endocardite. Les portes d'entrée sont souvent des blessures ou piqûres avec des végétaux ou des objets contaminés par les animaux. Il s'agit de bacilles à Gram positif fins et réguliers, immobiles, aéro-anaérobie facultatifs dont la croissance est favorisée en présence de CO<sub>2</sub>. Les colonies sont translucides mais peuvent être prises pour un streptocoque avec un halo d'hémolyse alpha, d'autant plus que ces colonies sont catalase négatives. Cependant, *Erysipelothrix* est résistant aux glycopeptides. Il produit de l'H<sub>2</sub>S.

*Erysipelothrix* est correctement identifié par différentes galeries et automates. Néanmoins, on observe que 7,6 % des laboratoires ont répondu *Arcanobacterium haemolyticum* et 3,5% *Propionibacterium acnes* (tableau II). Ces diagnostics erronés sont en partie dus au fait qu'*Erysipelothrix* n'est pas dans la base de la carte ANC (pour anaérobies et corynebactéries) utilisée sur le Vitek 2 et 2C. Les utilisateurs de la carte GP (Gram positif) n'ont pas rencontré ce problème.

*A. haemolyticum* fait partie du diagnostic différentiel classique d'*Erysipelothrix*. La coloration de Gram est différente, *Erysipelothrix* se présente sous forme de bacilles longs aux extrémités arrondies, isolés ou en courtes chaînes ou en filaments flexueux non ramifiés ; *Arcanobacterium*, sous forme de bacilles irréguliers et courts et leur groupement pouvant faire apparaître des aspects branchés. Les colonies d'*A. haemolyticum* sont plus petites et entourées d'une zone d'hémolyse β.

*Arcanobacterium haemolyticum* diffère également d'*Erysipelothrix rhusiopathiae* par la production d'acide à partir du maltose (positive chez *Arcanobacterium*, négative chez *Erysipelothrix*). Certaines souches d'*Arcanobacterium* peuvent être saccharose positives.

En ce qui concerne *Propionibacterium acnes*. Ces bacilles à Gram positif sont corynéformes, anaérobies préférentiel et indole positif. Ils se différencient des 2 précédents par le fait qu'ils sont catalase positive et nitrate réductase positive.

Le lot 2 contenait une souche de *Corynebacterium diphtheriae* correctement identifiée par 66,9% des participants. Au total, 90% des participants ont fait le diagnostic d'une corynebactérie (tableau I), soit 6% de moins qu'en 1998, année du 1<sup>er</sup> envoi de cette souche dans le cadre du contrôle national de qualité.

La principale difficulté pour les laboratoires a été d'identifier l'espèce au sein des Corynebactéries. Il est vrai que l'énoncé clinique pouvait être trompeur expliquant que quelques laboratoires se soient orientés vers un staphylocoque en particulier *Staphylococcus aureus* et que d'autres n'aient pas poursuivi l'identification au-delà du genre *Corynebacterium sp.*. L'absence d'identification de l'espèce ne semble pas liée à la méthode utilisée. Il s'agit donc probablement d'une décision du biologiste.

Bien que dans les formes typiques *C. diphtheriae* soit isolé à partir du pharynx surtout lorsque la souche est toxigène, on peut observer cette bactérie dans d'autres prélèvements (septicémie, arthrite mais aussi à partir de foyers cutanés). Dans les lésions cutanées, il ne faut pas méconnaître *Corynebacterium ulcerans* qui peut être également toxigène. Celle-ci donne des fausses membranes, aussi bien dans les angines que dans les lésions cutanées.

*Corynebacterium diphtheriae* présente 4 biotypes *gravis*, *mitis*, *belfanti* et *intermedius*. La détermination du biotype présente un intérêt épidémiologique. Il n'existe pas de lien entre le biotype et la gravité de la maladie.

*Corynebacterium diphtheriae* se distingue de la plupart des autres Corynebactéries par la production d'alpha-glucosidase et par l'absence de production de pyrazinamidase contrairement à la plupart des espèces commensales cutanéomuqueuses. Sur milieu de Tinsdale (milieu agar, sang, cystéine, tellurite de potassium et thiosulfate de sodium), elle se présente sous la forme de colonies noires (réduction du tellurite) entourées d'un halo brun-noir (production d'H<sub>2</sub>S à partir de la cystéine). Elle se distingue de *C. ulcerans* et *C. pseudotuberculosis* par le fait qu'elle est uréase négative.

*Corynebacterium diphtheriae* peut présenter également une bêta-hémolyse sur gélose au sang. Mais elle est inconstante. Les colonies sont grises et lisses.

Les limites du milieu de Tinsdale sont la nécessité de le préparer, sa durée de conservation assez courte et la nécessité d'ajouter du sérum de cheval. L'avantage du milieu de Loëffler est la croissance rapide de *C. diphtheriae* et le fait qu'il est commercialisé prêt à l'emploi. Son inconvénient est l'absence de sélectivité rendant son utilisation parfois difficile pour les primo-cultures. Les galeries API Coryne bioMérieux sont fiables pour cette identification et utilisent différents caractères tels que la catalase, la nitrate réductase, l'hydrolyse de l'urée, l'hydrolyse de l'esculine et la fermentation du glucose, maltose, saccharose, mannitol et xylose. (*C. diphtheriae* est pyrazinamidase négative. Elle fermente le glucose et le maltose mais pas le saccharose).

Enfin, il faut noter que l'ensemble des fausses identifications « *Kocuria kristinae* » ont été rendues par les utilisateurs du Vitek 2 ou Vitek 2C / carte GP. Par conséquent, un diagnostic de « *Kocuria* » réalisé avec cette carte doit conduire à un contrôle de l'identification. Ce problème n'apparaît pas avec la carte ANC.

La survenue, ces dernières années, de cas d'importation de diphtérie à *C. diphtheriae* et surtout l'émergence de cas autochtones à *C. ulcerans* par transmission zoonotique a conduit le Haut Conseil de la Santé Publique à actualiser les recommandations de prise en charge des patients et à publier, en mars 2011, un guide intitulé « Conduite à tenir lors de l'apparition d'un cas de diphtérie ».

Ce guide fait le point sur l'épidémiologie au niveau national et international (modes de transmission, manifestations cliniques, modalités diagnostiques, mesures de prévention) et précise les conduites à tenir selon l'atteinte clinique (ORL ou cutanée), l'espèce en cause (*C. diphtheriae*, *C. ulcerans* ou *C. pseudotuberculosis*) et la détection du gène *tox*.

Seules les infections dues aux bactéries porteuses du gène *tox* doivent faire l'objet d'une sérothérapie et d'une déclaration obligatoire. Cependant, toute suspicion de diphtérie ORL et cutanée doit être signalée à la plateforme de veille et de gestion sanitaires de l'Agence régionale de santé (ARS) concernée afin d'initier une investigation épidémiologique.

Ce guide est téléchargeable à l'adresse suivante :

<http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?ae=avisrapportsdomaine&clefdomaine=1&menu=09>

## Antibiogramme *Pseudomonas aeruginosa*

### Définition des échantillons

Deux souches de *P. aeruginosa* ont été proposées. L'une produisait une métallo-bêta-lactamase (VIM-2), l'autre produisait une bêta-lactamase à spectre étendu (PER-1).

Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 14 antibiotiques (liste définie). Pour chaque antibiotique testé, le résultat « lu » ou « observé » permet de contrôler la qualité technique de l'antibiogramme tandis que le résultat « transmis » correspond à l'interprétation de l'antibiogramme par le biologiste en présence d'un éventuel mécanisme de résistance.

Les résultats des experts - Pr G. ARLET, Paris, Pr C. de CHAMPS, Reims - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans le tableau IV. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du Etest ou par la méthode de dilution en gélose.

tableau IV - antibiogramme : résultats des experts

Antibiotiques	<i>P. aeruginosa</i> VIM-2		<i>P. aeruginosa</i> PER-1	
	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Ticarcilline	R	R	R	R
Ticarcilline + ac. clavulanique	R	R	S	S / I
Pipéracilline	R	R	S	S / I
Pipéracilline + tazobactam	R	R	S	S / I
Ceftazidime	R	R	R	R
Céfépime	R	R	R	R
Cefsulodine	R	R	R	R
Aztréonam	S / I	S / I	R	R
Imipénème	R	R	S / I <sup>(a)</sup>	S / I
Gentamicine	S	S	S	S
Tobramycine	R	R	S	S
Amikacine	S / I	I	S	S
Ciprofloxacine	R	R	S	S
Fosfomycine	S	S	S <sup>(b)</sup>	S

(a) : souche de sensibilité diminuée à l'imipénème

(b) : CMI = concentration critique unique = 32 mg/l

## Résultats des participants

Les réactifs utilisés par les laboratoires participants pour la réalisation d'un antibiogramme de *P. aeruginosa* sont détaillés dans le tableau V.

Les résultats obtenus, tous réactifs confondus, sont rapportés pour chacune des deux souches dans les tableaux VI et VII.

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires devaient préciser le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines détecté. Les réponses obtenues pour chaque souche sont rapportées dans les tableaux VIII et IX. Les réponses attendues apparaissent en gras (tableaux VI à IX).

**tableau V** - antibiogramme *Pseudomonas aeruginosa* : réactifs utilisés (effectif > 10)

Techniques / Réactifs	Nombre d'utilisateurs
<b>Galleries (41,8%) :</b>	
ATB PSE bioMérieux	955
ATB G- bioMérieux	100
Autres divers	7
<b>Automates (35,1%) :</b>	
Vitek 2C bioMérieux	566
Vitek 2 bioMérieux	246
Phoenix Becton Dickinson	44
Microscan Siemens	35
<b>Disques (18,6%) :</b>	
Biorad	350
I2a	49
Oxoid	29
BioMérieux	26
Autres divers	18
<b>Réactif non précisé (4,5%) :</b>	
Total	2538

**tableau VI** - antibiogramme de la souche *P. aeruginosa* VIM-2

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Ticarcilline	1231	0,2	0,1	<b>99,7</b>	1210	0,2	0	<b>99,8</b>
Ticarcilline + ac clavulanique	1198	0,4	0,1	<b>99,5</b>	1177	0,3	0,1	<b>99,6</b>
Pipéracilline	1167	0,6	1,4	<b>98</b>	1144	0,2	0,8	<b>99</b>
Pipéracilline + tazobactam	1181	1	7,5	<b>91,5</b>	1161	0,6	4,1	<b>95,3</b>
Ceftazidime	1236	1,1	6,6	<b>92,3</b>	1211	1,2	4	<b>94,8</b>
Céfépime	1181	0,9	16,8	<b>82,3</b>	1155	1	11,8	<b>87,2</b>
Cefsulodine	227	1,3	2,2	<b>96,5</b>	237	0,8	1,3	<b>97,9</b>
Aztréonam	710	<b>9,6</b>	<b>77,2</b>	13,2	701	<b>8,3</b>	<b>70,9</b>	20,8
Imipénème	1218	0,7	0,3	<b>99</b>	1198	0,6	0,3	<b>99,1</b>
Gentamicine	1234	<b>98,3</b>	0,4	1,3	1210	<b>90,2</b>	1,9	7,9
Tobramycine	1221	2,3	3	<b>94,7</b>	1199	2,2	2,2	<b>95,6</b>
Amikacine	1199	<b>19,4</b>	<b>42,3</b>	38,3	1179	9,6	<b>41,1</b>	49,3
Ciprofloxacine	1236	1,2	1	<b>97,8</b>	1215	1,2	0,8	<b>98</b>
Fosfomycine	852	<b>98</b>	0,2	1,8	836	<b>97,5</b>	0,2	2,3

**tableau VII** - antibiogramme de la souche *P. aeruginosa* PER-1

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Ticarcilline	1274	0,1	0,6	<b>99,3</b>	1252	0,2	0,4	<b>99,4</b>
Ticarcilline + ac clavulanique	1235	<b>82,1</b>	9,4	8,5	1213	<b>32</b>	<b>46</b>	22
Pipéracilline	1182	<b>76,4</b>	13,4	10,2	1167	<b>15,1</b>	<b>50,5</b>	34,4
Pipéracilline + tazobactam	1227	<b>90,5</b>	6,8	2,7	1200	<b>37,8</b>	<b>46,1</b>	16,1
Ceftazidime	1266	0,7	0,6	<b>98,7</b>	1241	0,3	0,5	<b>99,2</b>
Céfépime	1209	2,9	29,1	<b>68</b>	1182	0,5	24,3	<b>75,2</b>
Cefsulodine	256	1,2	3,1	<b>95,7</b>	267	1,1	2,6	<b>96,3</b>
Aztréonam	713	1,4	1	<b>97,6</b>	710	1,6	0,7	<b>97,7</b>
Imipénème	1254	<b>48</b>	<b>47,2</b>	4,8	1226	<b>48</b>	<b>42,6</b>	9,4
Gentamicine	1268	<b>98,9</b>	0,2	0,9	1239	<b>97,8</b>	0,9	1,3
Tobramycine	1256	<b>99,8</b>	0,1	0,1	1229	<b>99,3</b>	0,2	0,5
Amikacine	1253	<b>91,3</b>	6,2	2,5	1223	<b>91,8</b>	5,2	3
Ciprofloxacine	1271	<b>99,3</b>	0,1	0,6	1243	<b>99</b>	0,3	0,7
Fosfomycine	920	<b>49,3</b>	0,9	49,8	902	<b>49,5</b>	0,7	49,8

**tableau VIII** - *P. aeruginosa* VIM-2 : Phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines ?

	Effectif (%)
Absence de réponse	102 (8,1)
<b>carbapénémase</b>	<b>528 (41,9)</b>
carbapénémase + Céphalosporinase haut niveau	230 (18,3)
carbapénémase + BLSE +/- Case haut niveau	64 (5,1)
Céphalosporinase haut niveau	170 (13,5)
Pénicillinase + Case haut niveau	70 (5,6)
BLSE	47 (3,7)
Autres (divers)	48 (3,8)
Total	1259

**tableau IX** - *P. aeruginosa* PER-1 : Phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines ?

	Effectif (%)
Absence de réponse	121 (9,4)
<b>BLSE</b>	<b>599 (46,5)</b>
BLSE + Céphalosporinase haut niveau	37 (2,9)
Pénicillinase + Case haut niveau	230 (17,8)
Céphalosporinase haut niveau	125 (9,7)
Carbapénémase	45 (3,5)
Carbapénémase +/- BLSE +/- Case haut niveau	61 (4,7)
Autres (divers)	71 (5,5)
Total	1289

## Commentaires

### 1 - *P. aeruginosa* VIM-2

#### Bêta-lactamines :

La souche proposée produisait une carbapénémase de type VIM-2. Cette carbapénémase est une métallo-bêta-lactamase (MBL) capable d'hydrolyser toutes les bêta-lactamines à l'exception de l'aztréonam. Par conséquent, la souche était résistante à toutes les bêta-lactamines y compris l'imipénème et sensible à l'aztréonam.

Le pourcentage de bonnes réponses « R » transmises est excellent pour les bêta-lactamines suivantes : ticarcilline (99,8%), association ticarcilline + acide clavulanique (99,6%), pipéracilline (99%), cefsulodine (97,9%) et imipénème (99,1%). Il est un peu moins bon pour le céfépime (87,2%) et dans une moindre mesure, pour la ceftazidime (94,8%) et l'association pipéracilline + tazobactam (95,3%). En effet, pour ces trois bêta-lactamines, on observe des réponses « intermédiaire » alors que cette catégorie n'existe pas du fait d'une concentration critique unique (égale à 8 mg/l pour le céfépime et la ceftazidime et égale à 16 mg/l pour l'association pipéracilline + tazobactam).

En ce qui concerne le céfépime (CMI = 32 mg/l et diamètre d'inhibition égal à 10 mm), toutes les réponses « intermédiaire » proviennent d'utilisateurs de la galerie ATB PSE ou ATB G- bioMérieux. Ceci peut s'expliquer par le fait que les deux concentrations de céfépime (4 et 32 mg/l) testées par galeries les moins récentes ne sont plus pertinentes. Pour la ceftazidime (résistance « contact » en diffusion sur gélose) et l'association pipéracilline + tazobactam (diamètre d'inhibition égal à 11 mm), l'origine du problème est la même.

En ce qui concerne l'aztréonam qui n'est pas hydrolysé par VIM-2, les réponses en lecture brute des participants sont dispersées : 77% « I », 13% « R » et 10% « S ». Les experts qui ont testé la sensibilité de la souche vis-à-vis de l'aztréonam par la méthode de diffusion en gélose ont trouvé des diamètres d'inhibition autour du diamètre critique supérieur (27 mm). Par conséquent, la réponse attendue était « S » ou « I ». Ces résultats sont confirmés par ceux des laboratoires participants ayant utilisé la même technique : 2/3 « I » et 1/3 « S ». En revanche, l'automate Vitek 2 ou 2C rend systématiquement « I » avec une CMI égale à 16 mg/l qui correspond à la concentration critique haute. Ceci n'est pas étonnant car l'antibiogramme de *P. aeruginosa* en milieu liquide a toujours tendance à être plus défavorable (surestimation de la résistance) que par la méthode en diffusion.

Le fait de trouver la souche « intermédiaire » à l'aztréonam pouvait faire évoquer, en plus de la carbapénémase, un autre mécanisme de résistance associé de type efflux ou céphalosporinase hyperproduite. L'absence de récupération de l'activité par la cloxacilline à 200 mg/l (inhibitrice de la céphalosporinase) permettait d'éliminer l'hypothèse d'une hyperproduction de céphalosporinase.

Il existe un moyen simple à mettre en œuvre pour détecter la production de métallo-bêta-lactamase (enzyme inhibée par l'EDTA) chez *P. aeruginosa* :

- technique du double Etest (Etest MBL) imipénème / imipénème + EDTA (positive si au moins 3 dilutions d'écart entre l'imipénème seul et l'imipénème + EDTA).
- technique du double disque imipénème et imipénème + EDTA (positive si au moins 5 mm d'écart entre les deux diamètres d'inhibition).

#### Autres antibiotiques :

- aminoglycosides : les réponses attendues pour cette famille d'antibiotiques étaient gentamicine « S », tobramycine « R » et amikacine « S ».

Seule l'amikacine a conduit à des résultats discordants : 19,4% « S », 42,3% « I » et 38,3% « R » car la souche était de sensibilité diminuée avec un diamètre d'inhibition égal au diamètre critique supérieur (17 mm). Par conséquent, la réponse « I » a été considérée comme acceptable. Les 38% « R » proviennent de l'automate Vitek 2 ou 2C. Une fois encore, il s'agit d'une sur-évaluation de la résistance en milieu liquide par rapport à la technique de diffusion. Enfin, il faut noter que les résultats bruts « S » ou « I » ne doivent pas être interprétés « R ».

- la ciprofloxacine et la fosfomycine n'ont pas posé de problème (en moyenne 98% de bonnes réponses).

## **2 - *P. aeruginosa* PER-1**

### Bêta-lactamines :

La souche produisait une bêta-lactamase à spectre étendu de type PER-1. Le pourcentage de bonnes réponses « R » transmises est excellent pour les bêta-lactamines suivantes : ticarcilline (99,4%), ceftazidime (99,2%), cefsulodine (96,3%) et aztréonam (97,7%). Il est nettement moins bon pour le céfépime (CMI = 16-32 mg/l) pour lequel on observe près de 30% de résultats lus « intermédiaire » alors que cette catégorie n'existe pas (concentration critique unique = 8 mg/l). Comme pour la souche précédente (*P. aeruginosa* VIM-2), toutes les réponses « intermédiaire » proviennent d'utilisateurs de la galerie ATB PSE ou ATB G- bioMérieux.

La souche était sensible à l'association ticarcilline + acide clavulanique, à la pipéracilline (CMI = 4 mg/l) et à l'association pipéracilline + tazobactam (CMI = 2 mg/l). Selon les règles de lecture interprétative du CA-SFM 2010, un résultat « S » obtenu pour ces trois antibiotiques devait être interprété « I » car la souche présentait un haut niveau de résistance à la ticarcilline (CMI > 256 mg/l, disque contact). Cependant, il n'y avait pas lieu d'interpréter « R » comme l'ont fait respectivement 22%, 34% et 16% des laboratoires participants (en majorité utilisateurs de la galerie ATB PSE dont le système expert propose une correction de « S » en « R »). Enfin, on note un pourcentage non négligeable (14%) de résultats lus « R » pour l'association ticarcilline + acide clavulanique avec les disques Biorad (problème de stabilité ?).



En ce qui concerne l'imipénème, la réponse attendue par les experts était « Sensible ». Néanmoins, la souche présentait une sensibilité diminuée avec, en diffusion, un diamètre d'inhibition autour de 22 mm (diamètre critique supérieur) et une CMI égale à 4 mg/l (soit « S ») ou 8 mg/l (soit « I »). Il n'y avait pas lieu d'évoquer une résistance par carbapénémase mais plutôt une imperméabilité sélective à l'imipénème. En effet, cette souche présentait un grand diamètre d'inhibition (35 mm) au doripénème (carbapénème ne figurant pas dans la liste des antibiotiques à tester).

Au total, cette souche présentait une résistance de haut niveau à la ticarcilline, à la ceftazidime, au céfépime et à l'aztréonam. On observait également des images de synergie « en bouchon de champagne » entre la ceftazidime et l'association ticarcilline + acide clavulanique, signant la présence d'une BLSE (cette synergie est parfois mieux détectée en rapprochant les disques à 2 cm).

Les principales BLSE retrouvées en France chez le bacille pyocyanique sont des BLSE de type PER-1 ou VEB-1 qui présentent des phénotypes de résistance similaires.

Concernant le phénotype de résistance aux bêta-lactamines, la réponse attendue était « BLSE ». Toutefois, si la souche avait été rendue « intermédiaire » pour l'imipénème, la réponse « BLSE + OprD2 (déficit porine) » était acceptable.

Du fait de la sensibilité de la souche à la pipéracilline, les systèmes experts des galeries ATB PSE et ATB PSE EU n'évoquaient pas le phénotype BLSE mais proposaient « bêta-lactamines : résistance haut niveau : céphalosporinase partiellement déréprimée + pénicillinase » (réponse rapportée par 230 laboratoires).

#### Autres antibiotiques :

- la souche était sensible aux aminoglycosides. Les résultats sont excellents pour la gentamicine et la tobramycine avec respectivement 98,9% et 99,8% de réponses « S » et un peu moins bons pour l'amikacine pour laquelle on observe 6,2% de réponses « I » et 2,5% de réponses « R », toutes obtenues avec la galerie ATB PSE.

- la ciprofloxacine n'a pas posé de problème (99,3% de bonnes réponses « S »).

- en ce qui concerne la fosfomycine, la réponse attendue en diffusion était « S » (réponse confirmée par 93% des 231 laboratoires participants ayant utilisé cette technique). Cependant, on note une fois de plus une discordance entre les résultats obtenus en diffusion et en milieu liquide. En effet, 68% des utilisateurs de la galerie ATB PSE (réactif le plus utilisé) ont rendu « R » et 32% « S ». Cette galerie teste une seule concentration de fosfomycine (32 mg/l) égale à la concentration critique unique de cet antibiotique. Si la CMI de la fosfomycine est égale à la concentration critique, alors il est possible de passer de « S » à « R » à une dilution près.

## Bibliographie

1. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993 May;37(5):962-9.
2. Naas T, Poirel L, Karim A, Nordmann P. Molecular characterization of In50, a class 1 integron encoding the gene for the extended-spectrum beta-lactamase VEB-1 in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett*. 1999 Jul 15;176(2):411-9.
3. Poirel L, Naas T, Nicolas D, Collet L, Bellais S, Cavallo JD, Nordmann P. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Apr;44(4):891-7.
4. Arlet G, Philippon A. Les nouvelles  $\beta$ -lactamases à l'aube du troisième millénaire. *Revue Française des Laboratoires* 2003, 352,41-55.

## Sérologie de la syphilis

### Définition des échantillons

Un échantillon (pool de plasmas défibrinés lyophilisé) a été adressé à chacun des 2275 laboratoires ayant déclaré réaliser la sérologie de la syphilis.

Pour rappel, le dépistage de la syphilis selon la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale comprend au moins une réaction de chacun des deux groupes suivants : test cardiolipidique du groupe 1 (VDRL) et test tréponémique du groupe 2 (TPHA, EIA, FTA abs). En cas de réaction positive ou dissociée, le dépistage doit être complété par un titrage.

Quatre échantillons identifiés S1, S2, S3, S4 ont été proposés. Les résultats du CNR Syphilis et de l'Afssaps sont présentés en inverse de dilution dans le tableau X.

**tableau X** - Sérologie de la syphilis : résultats du CNR syphilis (site 1) et de l'Assaps (site 2).

	VDRL <sup>(a)</sup>			TPHA <sup>(b)</sup>			Western Blot <sup>(c)</sup>			
	dépistage	titrage (seuil = 1)		dépistage	titrage (seuil = 80)		P15	P17	TmpA	P47
		site 1	site 2		site 1	site 2				
<b>S1</b>	positif	8	8	positif	2560	1280	+	+	+	+
<b>S2</b>	négatif	-	-	positif	1280	640	+/-	+	-	+/-
<b>S3</b>	négatif	-	-	négatif	-	-				
<b>S4</b>	négatif	-	-	positif	640	320	+/-	+	-	-

(a) : VDRL Latex Bio-Rad (site 1) / RPR Nosticon BioMérieux (site 2)

(b) : TPHA 200 Biorad

(c) : MASTABLOT TP IgG (site 1)

## Méthode statistique et expression des résultats

En ce qui concerne les titres obtenus avec les techniques telles que le VDRL et le TPHA, il n'est pas possible d'appliquer directement les formules arithmétiques habituelles pour déterminer la moyenne et les écart-types. En effet, ces titres sont exprimés en inverse de dilution de raison deux (titres en VDRL : 1, 2, 4, 8, 16, etc...et titres en TPHA : 80, 160, 320, 640, etc...). Par conséquent, les calculs ont été effectués sur les logarithmes des titres permettant ainsi de calculer la moyenne géométrique appelée ici « titre modal ». Si cette moyenne se situe entre deux inverses de dilution, la réponse attendue correspond aux deux dilutions.

Les titres précédés du signe < ou > ne sont pas pris en compte dans le calcul du titre modal.

Un titre sera considéré comme « conforme » s'il est égal ou s'il ne s'écarte que d'une dilution du titre modal.

## Résultats des participants

### 1 - Réactions du groupe 1 : antigène cardiolipidique non spécifique

Les réactifs utilisés par l'ensemble des participants sont précisés dans le tableau XI. Les résultats obtenus en dépistage VDRL pour les quatre échantillons sont rassemblés dans le tableau XII.

En ce qui concerne l'échantillon S1, la distribution de fréquence des titres obtenus par les laboratoires participants tous réactifs confondus est représentée figure 1, tandis que les titres obtenus en fonction du réactif utilisé sont rapportés dans le tableau XIII.

**tableau XI** - Réactifs utilisés en VDRL

Réactif	Distributeur	Nombre utilisateurs
VDRL Carbon antigen	Abbott	18
Syphacard-R	Abbott	10
VDRL Check Charbon	All Diag	183
RPR Test	Biolys	29
Signal-spirolipin	Biolys	13
RPR Nosticon II	Biomérieux	395
RPR 100 ou 500	Bio-Rad	364
VDRL Latex	Bio-Rad	28
RPR syphilis	Dako	1
Sypal CB	Diagast	75
Sypal	Diagast	2
RPR Charbon	Elitech Diagnostic	166
VDRL Charbon	Eurobio	19
RPR Card Test	Fumouze	235
RPR Reditest	Instr.Laboratory (Biokit)	163
Spin Reac RPR Carbon	Inverness	35
RPR Carbon	Mast Diagnostic (Biosystems)	8
VDRL charbon	Oxoid	13
Syphilis RPR Card Test	Randox	2
Servitex RPR	Servibio	129

Syphilis RPR	Sobioda	2
réactif non précisé		13
<b>TOTAL</b>		1903

tableau XII - Sérologie de la syphilis : dépistage VDRL

	S1	S2	S3	S4
Effectif	475	481	463	482
Réponse attendue	positif	négatif	négatif	négatif
Dépistage « négatif »	5 (1,1%)	<b>431 (89,6%)</b>	<b>454 (98,0%)</b>	<b>447 (92,7%)</b>
Dépistage « positif »	<b>466 (98,1%)</b>	40 (8,3%)	5 (1,1%)	25 (5,2%)
Dépistage « douteux »	4 (0,8%)	10 (2,1%)	4 (0,9%)	10 (2,1%)

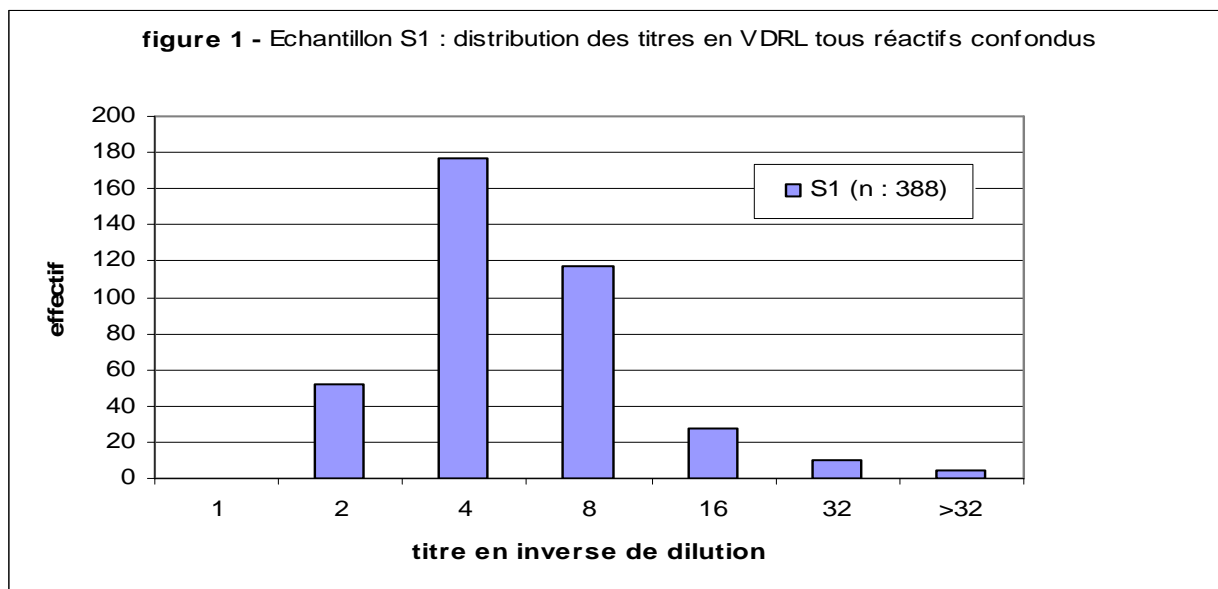


tableau XIII - Echantillon S1 : titres obtenus en VDRL selon le réactif utilisé (effectif > 10)

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)						% titres conformes*
			2	4	8	16	32	> 32	
VDRL Check Charbon	All Diag	26	3	14	7	2			100
RPR Nosticon	Biomérieux	74	5	25	25	15	3	1	94,5
RPR 100 ou 500	Biorad	92	21	52	14		3	2	94,6
RPR Charbon	Elitech	32	1	9	18	3	1		96,9
RPR Card Test	Fumouze	48	6	26	12	2	1	1	95,8
RPR Reditest	Instr.Laboratory (Biokit)	44	6	12	24	1	1		97,7
Servitex RPR 125	Servibio	28	2	19	6	1			96,4
tous réactifs confondus		388	52	177	117	28	10	4	96,4

\* : titre égal au titre modal (en gras)  $\pm$  1 dilution

**■** : zone correspondant au titre modal

**■ ■ ■** : zone de conformité

## 2 - Réactions du groupe 2 : antigène tréponémique spécifique

Les techniques employées ainsi que le détail des réactifs correspondant à chaque technique sont rapportés dans le tableau XIV. La place occupée par chacune de ces techniques en 2010 est comparée à celles des opérations de contrôle précédentes dans le tableau XV.

Les résultats obtenus en dépistage TPHA pour les quatre échantillons sont rassemblés dans le tableau XVI. De plus, la proportion de dépistages négatifs, douteux et positifs obtenus en fonction du réactif utilisé est détaillée pour l'échantillon S2 et l'échantillon S4 respectivement dans les tableaux XVII et XVIII. Les réponses attendues apparaissent en gras (tableaux XVI, XVII et XVIII).

Enfin, en ce qui concerne les trois échantillons (S1, S2 et S4) positifs en TPHA, la distribution des titres obtenus par les laboratoires participants tous réactifs confondus est représentée figure 2, tandis que les titres obtenus en fonction du réactif utilisé sont respectivement rapportés dans les tableaux XIX à XXI.

**tableau XIV** - Réactifs du groupe 2

Techniques / réactifs	Distributeur	Nombre utilisateurs
<b>TPHA (73,8%)</b>		
TPHA Check	All Diag	87
TPHA 100	Biomérieux	185
TPHA 200 ou 500	Bio-Rad	414
Syphilis OC 2000	Bio-Rad	5
TPHA	Elitech	180
TPHA 200T	Eurobio	36
Immutrep TPHA	Fumouze	121
TPHA Liquid	Fumouze	30
TPHA 200	Immunochim	5
Syphagen TPHA	Inst. Laboratory (Biokit)	170
SPIN REAC TPHA	Inverness	31
Mast TPHA	Mast Diagnostic	2
TPHA	Oxoid	8
Syphilis TPHA	Randox	2
Servitex TPHA 200	Servibio	126
Cellognost TPHA	Siemens	5
Syphilis TPHA	Sobioda	5
<b>ELISA (7,3%)</b>		
Architect Syphilis TP	Abbott	56
Syphilis EIA	Bioadvance	9
Syphilis total Antibody EIA	Bio-rad	11
Enzygnost syphilis	Siemens	4
ID PaGIA Syphilis Antibody Test	Diamed	17
LIAISON	Diasorin	30
ETI-TREPONEMA Plus	Diasorin	6
EIAgen TMPA Screen Recomb	Ingen	2
Immulite 2000	Siemens	4
<b>Immunochromatographie (16,3%)</b>		
Syphilitop Optima	All Diag	178
Syphilis test	Biolys	34
Signal-Spirolipin	Biolys	12
Bioline Syphilis 3.0	Eurobio	4
Visitect	Omega diagnostics	17
Syphi check 3	Servibio	4
Test cassette syphilis	Servibio	63
<b>Agglutination sur particule (TPPA) (2,1%)</b>		
Serodia-TP.PA	Siemens	41
<b>réactif non précisé (0,5%)</b>		
<b>TOTAL</b>		1914

**tableau XV** - Evolution de la place occupée par les différentes techniques entre 2004 et 2010 (réaction du groupe 2)

Technique	2004 (%)	2008 (%)	2009 (%)	2010 (%)	Evolution
TPHA	82,9	77,1	76,7	73,8	↘
Immunochromatographie	11,8	15,3	14,5	16,3	↗
ELISA	0,3	4,1	6,0	7,3	↗
TPPA	4,1	2,7	2,3	2,1	↘
FTA-abs	0,1	0,1	< 0,1	0	↘
non précisée	0,8	0,7	0,5	0,5	↘
Effectif	2712	2466	2146	1914	↘

**tableau XVI** - Sérologie de la syphilis : dépistage TPHA

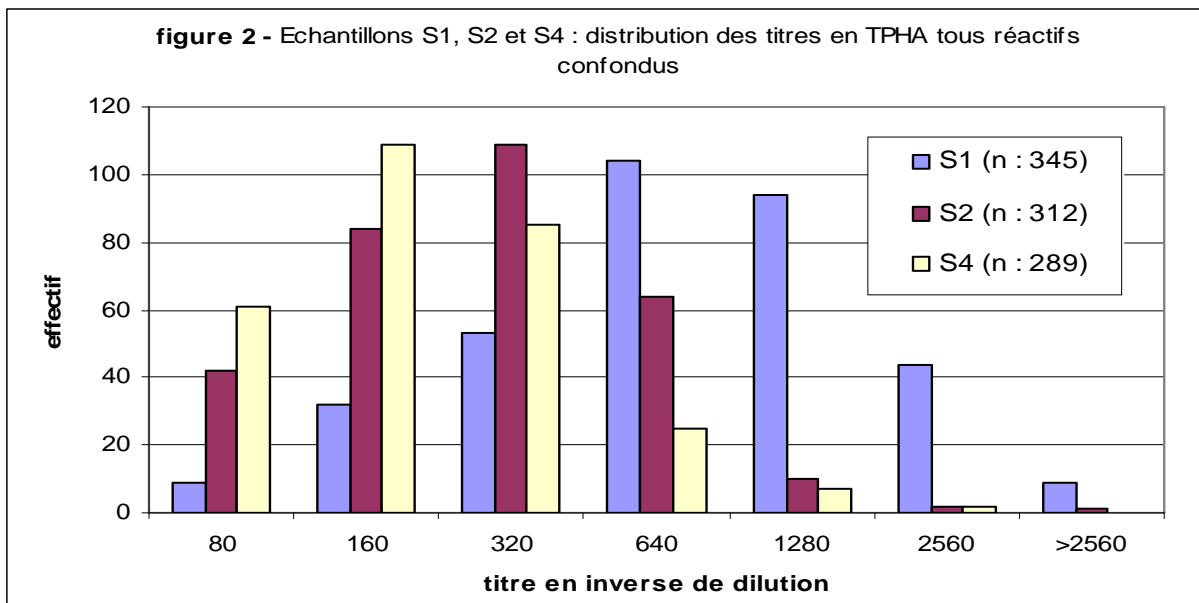
	S1	S2	S3	S4
Effectif	474	485	471	485
Réponse attendue	positif	positif	négatif	positif
Dépistage « négatif »	1 (0,2%)	40 (8,4%)	<b>468 (99,4%)</b>	68 (14%)
Dépistage « positif »	<b>473 (99,8%)</b>	<b>432 (88,9%)</b>	3 (0,6%)	<b>388 (80%)</b>
Dépistage « douteux »	-	13 (2,7%)	-	29 (6%)

**tableau XVII** - échantillon S2 / réaction du groupe 2 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé (effectif ≥ 5)

		Douteux	%	Négatif	%	Positif	%	Total
ARCHITECT Syphilis TP	Abbott					<b>10</b>	<b>100,0</b>	10
SYPHILITOP OPTIMA	All Diag	3	6,3	2	4,2	<b>43</b>	<b>89,6</b>	48
TPHA check	All Diag	2	10,5	2	10,5	<b>15</b>	<b>78,9</b>	19
Syphilis test	Biolys					<b>10</b>	<b>100,0</b>	10
TPHA 100	Biomérieux	3	7,1	4	9,5	<b>35</b>	<b>83,3</b>	42
SYPHILIS TPHA 200 ou 500	Biorad					<b>101</b>	<b>100,0</b>	101
ID PaGIA Syphilis AntibodyTest	Diamed					<b>5</b>	<b>100,0</b>	5
TPHA	Elitech	4	8,3	7	14,6	<b>37</b>	<b>77,1</b>	48
TPHA	Eurobio					<b>8</b>	<b>100,0</b>	8
IMMUTREP TPHA	Fumouze	1	2,6	11	28,9	<b>26</b>	<b>68,4</b>	38
TPHA liquid	Fumouze			3	33,3	<b>6</b>	<b>66,7</b>	9
SYPHAGEN TPHA	Instr. Laboratory					<b>48</b>	<b>100,0</b>	48
TPHA	Inverness			1	20	<b>4</b>	<b>80,0</b>	5
SERVITEX TPHA 200 ou 100	Servibio			2	6,1	<b>31</b>	<b>93,9</b>	33
Test cassette syphilis	Servibio			1	7,7	<b>12</b>	<b>92,3</b>	13
SERODIA-TP.PA	Siemens			1	10	<b>9</b>	<b>90,0</b>	10

**tableau XVIII** - échantillon S4 / réaction du groupe 2 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé (effectif ≥ 5)

		Douteux	%	Négatif	%	Positif	%	Total
ARCHITECT Syphilis TP	Abbott			2	11,1	<b>16</b>	<b>88,9</b>	18
SYPHILITOP OPTIMA	All Diag	5	10,0	10	20,0	<b>35</b>	<b>70,0</b>	50
TPHA check	All Diag	2	8,3	9	37,5	<b>13</b>	<b>54,2</b>	24
Syphilis test	Biolys	1	12,5	1	12,5	<b>6</b>	<b>75,0</b>	8
TPHA 100	Biomérieux	1	1,9	11	20,4	<b>42</b>	<b>77,8</b>	54
SYPHILIS TPHA 200 ou 500	Biorad	3	2,8	2	1,8	<b>104</b>	<b>95,4</b>	109
LIAISON	Diasorin					<b>7</b>	<b>100,0</b>	7
TPHA	Elitech	4	9,3	15	34,9	<b>24</b>	<b>55,8</b>	43
TPHA	Eurobio	1	10,0			<b>9</b>	<b>90,0</b>	10
IMMUTREP TPHA	Fumouze	2	6,9	6	20,7	<b>21</b>	<b>72,4</b>	29
TPHA liquid	Fumouze			1	12,5	<b>7</b>	<b>87,5</b>	8
SYPHAGEN TPHA	Instr. Laboratory	1	3,1	1	3,1	<b>30</b>	<b>93,8</b>	32
TPHA	Inverness			1	14,3	<b>6</b>	<b>85,7</b>	7
SERVITEX TPHA 200 ou 100	Servibio	2	7,4			<b>25</b>	<b>92,6</b>	27
Test cassette syphilis	Servibio	6	33,3	4	22,2	<b>8</b>	<b>44,4</b>	18
SERODIA-TP.PA	Siemens					<b>13</b>	<b>100,0</b>	13



**tableau XIX - Echantillon S1 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif >5)**

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	>2560	
TPHA Check	All Diag	16		2	3	6	4	1		81,3
TPHA 100	Biomérieux	40		6	13	16	5			100
TPHA 200 ou 500	Biorad	108	1	2	6	26	44	24	5	87,0
TPHA	Elitech	38	1	7	11	15	4			97,4
TPHA	Eurobio	6				1	4	1		100
Immutrep TPHA	Fumouze	21	1	4	6	8	2			95,2
TPHA liquid	Fumouze	6		1	1	3	1			100
Spin Reac TPHA	Inverness	8	1	2	1	3	1			**
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	49	2	2	6	15	12	10	2	87,8
Servitex TPHA 200	Servibio	38	3	4	6	10	10	5		68,4
Serodia-TP.PA	Siemens	9				1	4	2	2	77,8
tous réactifs confondus		345	9	32	53	104	94	44	9	72,8

\* : titre égal au titre modal  $\pm$  1 dilution

\*\* : distribution des titres ne permettant pas le calcul d'un titre modal.

■ : zone correspondant au titre modal      ■ ■ ■ : zone de conformité

**tableau XX - Echantillon S2 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif >5)**

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	>1280		
TPHA Check	All Diag	12	3	4	5					100
TPHA 100	Biomérieux	33	6	14	13					100
TPHA 200 ou 500	Biorad	96	4	14	37	35	5	1		94,8
TPHA	Elitech	36	14	15	6	1				97,2
TPHA	Eurobio	8	1	1	1	5				**
Immutrep TPHA	Fumouze	26	6	10	8	2				100
TPHA liquid	Fumouze	6	1	2	2	1				100
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	42	2	8	16	13	2	1		92,9
Servitex TPHA 200	Servibio	31	4	13	11	1	1	1		93,5
Serodia-TP.PA	Siemens	9			4	3	2			100
tous réactifs confondus		312	42	84	109	64	10	3		82,4

\* : titre égal au titre modal  $\pm$  1 dilution

\*\* : distribution des titres ne permettant pas le calcul d'un titre modal.


■ : zone correspondant au titre modal      ■ ■ ■ : zone de conformité

**tableau XXI** - Echantillon S4 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif >5)

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)						% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	
TPHA Check	All Diag	12	1	9	1			1	91,7
TPHA 100	Biomérieux	40	10	19	11				100
TPHA 200 ou 500	Biorad	105	16	37	34	17	1		99,0
TPHA	Elitech	21	12	3	6				100
TPHA 200	Eurobio	8		2	5	1			100
Immutrep TPHA	Fumouze	19	7	7	3	1		1	89,4
TPHA liquid	Fumouze	6	2	3	1				100
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	31	3	15	10	2		1	96,8
Servitex TPHA 200	Servibio	24	9	8	5	1	1		91,7
Serodia-TP.PA	Siemens	12			5	3	4		100
tous réactifs confondus		289	61	109	85	25	7	2	96,9

\* : titre égal au titre modal  $\pm$  1 dilution

 : zone correspondant au titre modal

 : zone de conformité

## Commentaires

### 1 - Réactions du groupe 1 : antigènes cardiolipidiques non spécifiques (VDRL)

En ce qui concerne les échantillons S2, S3 et S4, négatifs en VDRL, on observe respectivement 89,6% de dépistages corrects pour S2, 92,7% pour S4 et 98% pour S3 (tableau XII).

La meilleure performance est obtenue avec S3. Pour ce type d'échantillon « VDRL négatif / TPHA négatif », les résultats sont toujours excellents ( $\geq$  98%). En revanche S2 et S4 sont « VDRL négatif / TPHA positif ». Dans ce cas, on note de façon récurrente un pourcentage non négligeable de faux positifs en VDRL. De plus, ce pourcentage varie selon le titre en TPHA : en effet, il est d'autant plus élevé que le titre en TPHA est fort. C'est ainsi que l'échantillon S2, franchement positif en TPHA (titre = 320), a été rendu à tort « VDRL positif ou douteux » par un laboratoire sur 10. Cette proportion diminue et passe à 7,3% pour l'échantillon S4 de titre légèrement plus faible en TPHA (titre = 160-320).

L'analyse des pourcentages de dépistages corrects en VDRL en fonction du réactif utilisé ne permet pas de mettre en évidence un éventuel défaut de spécificité d'un réactif particulier. Par conséquent, l'hypothèse la plus probable est que certains laboratoires hésitent à rendre un VDRL négatif lorsque le TPHA est positif.

En ce qui concerne l'échantillon S1, « VDRL positif », le pourcentage de dépistages corrects égal à 98% est excellent (tableau XII) et la dispersion des titres est faible (figure 1).

Le titre modal obtenu avec chaque réactif est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal (égal à 4-8) tous réactifs confondus, ce qui conduit à un pourcentage global élevé (96,4%) de titres conformes (tableau XIII).

### 2 - Réactions du groupe 2 : antigènes tréponémiques spécifiques

Plusieurs techniques (TPHA, TPPA, ELISA, immunochromatographie, FTA-abs) sont à la disposition des biologistes pour la réalisation d'une réaction de groupe 2.

Depuis 2004, on note une augmentation de l'utilisation des techniques ELISA (+7%) et de l'immunochromatographie (+4,5%) au détriment du TPPA (-2%) et surtout du TPHA (-9,1%) qui reste toutefois majoritairement utilisé (73,8% des participants) (tableau XV).

L'échantillon négatif S3 et l'échantillon fortement positif S1 (titre modal = 640), avec respectivement 99,8 et 99,4% de dépistages corrects n'ont pas posé de problème (tableau XVI).

En revanche, pour les échantillons positifs S2 et S4 de titres plus faibles (S2 = 320 et S4 = 160-320), on note respectivement 8,4% et 14% de faux négatifs.

L'analyse détaillée des résultats obtenus avec l'échantillon S4 permet de distinguer six réactifs avec un taux de faux négatifs supérieur ou égal à 20%. Il s'agit du TPHA check / All Diag (37,5%), du TPHA / Elitech (34,9%), de l'Immutrep TPHA / Fumouze (20,7%), du TPHA 100 / bioMérieux (20,4%) et de deux tests immunochromatographiques : Test cassettes syphilis / Servibio (22,2%) et Syphilitop Optima / All Diag (20%). Pour l'échantillon S2, un taux élevé (supérieur ou égal à 10%) de faux négatifs est retrouvé avec les réactifs Immutrep TPHA / Fumouze (28,9%), TPHA / Elitech (14,6%), TPHA check / All Diag (10,5%) dont la sensibilité semble ici mise en défaut comparativement aux autres réactifs (tableau XVII).

Quel que soit l'échantillon positif considéré (S1, S2 ou S4), le titre modal observé avec chaque réactif est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal tous réactifs confondus. Selon le réactif utilisé, le pourcentage de titres conformes s'échelonne de 77,8 à 100% pour S1, de 92,9 à 100% pour S2 et de 89,4 à 100% pour S4 (tableaux XIX à XXI).

### **3 - Réactif mixte**

Un nouveau réactif de type immunodot, couplant la recherche des anticorps spécifiques anti-Treponema pallidum et des anticorps non spécifiques (réagines), commercialisé par Biolys (fabricant : Span Diagnostics) est apparu sur le marché en 2010. Les échantillons S2 et S4 testés avec ce réactif, respectivement par 4 et 3 laboratoires, ont conduit à des résultats négatifs. Toutefois, ces faibles effectifs ne permettent pas actuellement d'évaluer les performances de ce nouveau réactif.