

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Identification bactérienne
Antibiogramme
Sérologie Chlamydia trachomatis

Bactériologie

07BAC2

Novembre 2007

Edition : avril 2009

Muriel FROMAGE (Afssaps)

Guillaume ARLET (Hôpital Tenon, Paris), Christophe de CHAMPS (CHU Robert Debré, Reims)

Anne BOUVET (Hôtel Dieu, Paris)

Patrice SEDNAOUI (Institut Fournier, Paris)

Expédition : 21 novembre 2007

Clôture : 17 décembre 2007

Edition des compte-rendus individuels : 14 mars 2008

Paramètres contrôlés : **Identification bactérienne** : *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (groupe C) et *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (groupe G)

Antibiogramme : *Escherichia coli* IRT-2 et *E. coli* OXA-1

Sérodiagnostic Chlamydia trachomatis

Nombre de laboratoires concernés* : 3766

Nombre de laboratoires participants** : 3671

* 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. Il s'agissait dans les deux cas de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (streptocoque β -hémolytique), mais l'une de groupe C et l'autre de groupe G. Proposées pour la première fois dans le cadre du CNQ, ces deux souches, bien que n'ayant pas posé de problème d'identification (respectivement 93% et 95% de diagnostics corrects), nous permettent de rappeler ici quelques principes d'identification des streptocoques β -hémolytiques pathogènes pour l'homme.

En ce qui concerne l'antibiogramme, deux souches lyophilisées d'*Escherichia coli* ont été proposées : l'une produisait une β -lactamase de type oxacillinase (OXA-1), l'autre produisait une β -lactamase de type TEM résistante aux inhibiteurs (TRI ou IRT-2). Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche qu'ils avaient isolée vis-à-vis de 20 antibiotiques définis et de préciser le phénotype de résistance aux β -lactamines détecté.

Le choix de ces deux souches a été motivé par l'émergence depuis quelques années de souches d'*E.coli* résistantes à l'association amoxicilline-acide clavulanique aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (4 à 7%). La détection de cette résistance est importante, l'interprétation qui en est faite également. Respectivement 95,8% et 96,8% des laboratoires participants ont mis en évidence la résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique chez chacune des deux souches. Concernant l'interprétation des phénotypes, plus de 50% des laboratoires ont correctement identifié le phénotype IRT, alors que le phénotype oxacillinase ne l'a été que par 4,6% d'entre eux. Au vu de ces résultats, il nous a semblé important d'apporter des solutions simples pour aider les biologistes dans l'interprétation des quatre phénotypes de résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique chez *Escherichia coli*.

Cette opération comportait également deux échantillons destinés au sérodiagnostic d'une infection urogénitale à *Chlamydia trachomatis* qui selon la Nomenclature des actes de biologie médicale, comprend la recherche et le titrage éventuel des IgG et en cas de positivité, la recherche des IgA ou des IgM anti-*C.trachomatis*.

Chacun des 1025 laboratoires ayant déclaré réaliser cette analyse a reçu un des deux échantillons proposés (soit SCT1/SCT4 : négatif en IgG, IgA et IgM ; soit SCT2/SCT3 : positif moyen en IgG, positif faible ou douteux en IgA et IgM). L'analyse des résultats montre que 95% des laboratoires recherchent les IgA, plutôt que les IgM, en complément des IgG lorsque ces dernières sont positives. L'échantillon négatif a été diagnostiqué comme tel par la grande majorité des participants. En revanche, l'échantillon positif a posé des problèmes d'interprétation du fait de l'hétérogénéité des seuils de positivité utilisés.

Identification bactérienne

Définition des échantillons

Bactérie	Origine	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (streptocoque groupe C)	Hôtel Dieu, Paris (A. Bouvet)	123, 154, 256, 408, 451, 520, 602, 703, 882, 936	Bactérie isolée d'une hémoculture aérobie et anaérobie chez un homme de 50 ans hospitalisé pour un syndrome de choc associé à une lésion dermo-hypodermique extensive et hyperalgique de la jambe gauche.
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (streptocoque groupe G)		106, 222, 419, 494, 596, 712, 840, 879, 905, 911	

Résultats des participants

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants est présenté dans le tableau I.

Environ 68% des participants ont précisé le système d'identification utilisé. Les pourcentages de diagnostics corrects de groupe et d'espèce obtenus selon le système d'identification employé sont détaillés respectivement dans les tableaux II et III pour les réactifs les plus utilisés.

tableau I - Identification des souches bactériennes : fréquence des résultats

Réponses des participants	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (streptocoque groupe C)	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (streptocoque groupe G)
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	771 (45,2%)	800 (46,5%)
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	8	9
<i>S. dysgalactiae</i>	32 (1,9%)	26 (1,5%)
<i>S. agalactiae</i>	16	19
Streptocoque groupe C	786 (46%)	5
Streptocoque groupe G	10	809 (47%)
Autres streptocoques	69	46
Autres genres bactériens	15	7
Total	1707	1721

 Réponses attendues ou acceptables

tableau II - Pourcentage de groupage correct selon le réactif d'agglutination au latex utilisé.

Distributeur	streptocoque groupe C (<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>)		streptocoque groupe G (<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>)	
	effectif	groupage exact (%)	effectif	groupage exact (%)
Biorad	63	97 ^(a)	48	100
Elitech	28	100	48	100
Fumouze	40	100	34	97 ^(c)
BioMérieux	101	99 ^(b)	100	100
Oxoid	14	100	21	100
Servibio	13	100	11	73 ^(d)
	^(a) 2 « groupe A » ^(b) 1 « groupe G » 1 « groupe A »		^(c) 1 « non groupable » ^(d) 2 « groupe F » 1 « groupe B »	

tableau III - Diagnostic d'espèce selon le système d'identification (galerie ou automate) utilisé.

	galeries API BioMérieux						Automates BioMérieux				Automate BD Phoenix	
	32 STREP		20 STREP		non précisée		Vitek 2		Vitek 2C		Automate BD Phoenix	
	Lot 1*	Lot 2*	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	249	231	134	128	60	57	84	96	167	182	9	5
<i>S. dysgalactiae</i>	5	4	8	6	2	3	4	4	3	3	3	2
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>		1	5	5	2	1		1				
<i>S. agalactiae</i>	5	1	5	9		2		1	1			
<i>S. constellatus</i>							2		6			
<i>S. porcinus</i>		1	2					1				
<i>S. pyogenes</i>	1			1	1							
<i>S. equi</i>	1		1			1						
<i>S. canis</i>		1							1			
<i>S. mitis</i>	1											
<i>S. gordonii</i>			1									
<i>S. acidominimus</i>							1					
<i>Streptococcus</i> sp.	1								2			
Total	263	239	156	149	65	64	91	103	180	185	12	7

* : Lot 1 et Lot 2 = *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*

Réponses attendues

Commentaires

1- Principes d'identification des streptocoques bêta-hémolytiques pathogènes pour l'homme

L'identification précise des streptocoques β -hémolytiques, qui forment l'ensemble des streptocoques pyogènes, est nécessaire lorsqu'ils sont la cause d'infections invasives du fait de leur potentiel malin et du risque de cas secondaires familiaux ou hospitaliers. Les infections les plus sévères sont les septicémies sans foyer identifié, les dermo-hypodermes nécrosantes (ex-fasciites nécrosantes) et les pneumopathies, associées ou non à un syndrome de choc toxique streptococcique mortel dans près de la moitié des cas. L'espèce en cause est le plus souvent *Streptococcus pyogenes* ou *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, rarement *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Le pouvoir pathogène de *Streptococcus agalactiae* est différent. Il est surtout responsable de méningites et de septicémies néo-natales, mais aussi d'infections invasives de l'adulte, parfois associées à un syndrome de choc.

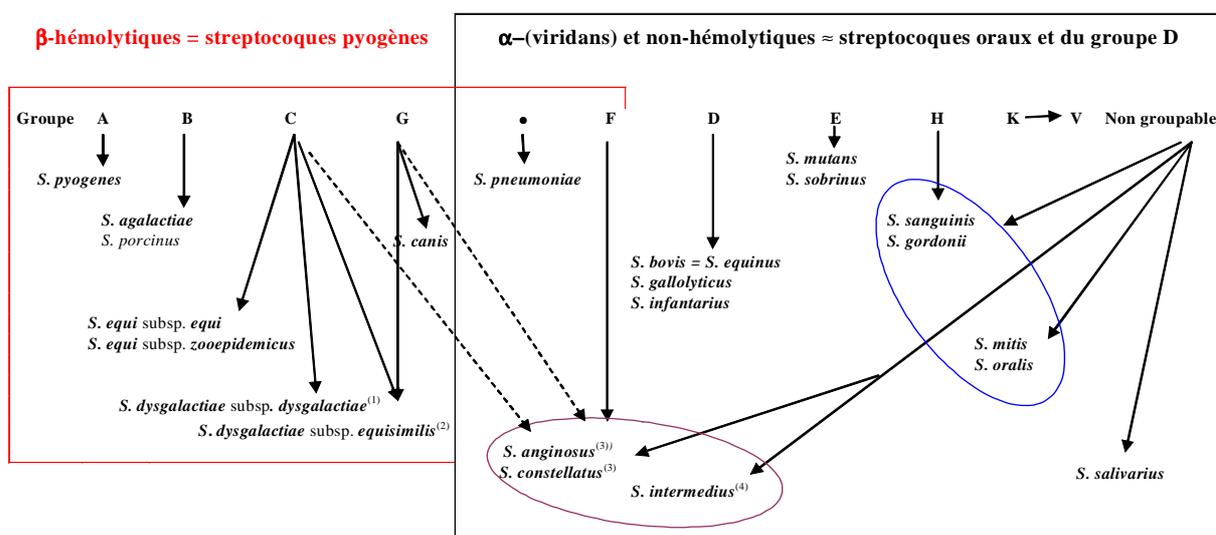
La détermination du groupe de Lancefield d'une souche de streptocoques β -hémolytiques est une première étape de l'identification (figure 1). Bien qu'elle soit insuffisante dans ce contexte, elle oriente vers un certain nombre d'espèces. Si les progrès de la taxonomie moléculaire ont consolidé le classement de différentes espèces pathogènes reconnues auparavant par leur antigène de groupe et d'autres propriétés phénotypiques, ils ont permis un regroupement en espèces ou sous-espèces conforme aux proximités génomiques (tableau IV). L'intérêt de l'identification d'espèce n'est pas seulement théorique. Elle permet de connaître l'habitat, le mode de transmission, le pouvoir pathogène, et la sensibilité aux antibiotiques propres à chaque espèce. Elle permet également en pratique, de rechercher la porte d'entrée de l'agent pathogène et ses localisations secondaires, de limiter sa transmission, et d'adapter le traitement antibiotique.

Certaines espèces, comme *Streptococcus pyogenes* (communément appelé streptocoque du groupe A), sont des espèces presque exclusivement humaines, d'autres, comme *Streptococcus agalactiae* (ou streptocoque du groupe B), décrites primitivement chez l'animal, sont aussi pathogènes pour l'homme. Récemment des souches humaines de *Streptococcus porcinus* ont été responsables d'infections néo-natales. Elles sont de groupe B ou non-groupables, alors que les souches animales peuvent être de groupe E, P, U ou V.

Autrefois les streptocoques du groupe C comprenaient quatre espèces : *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equi* et *Streptococcus zooepidemicus*, et les streptocoques du groupe G étaient désignés comme tels, alors même que leurs caractères métaboliques étaient ceux de *S. equisimilis*. Actuellement, *S. dysgalactiae* rassemble deux sous-espèces *dysgalactiae* et *equisimilis*.

S. dysgalactiae subsp. *dysgalactiae* comprend des souches animales α - ou non-hémolytiques du groupe C, et *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* des souches β -hémolytiques animales ou humaines. Les souches humaines sont plus souvent du groupe G que du groupe C, rarement du groupe A ou du groupe L. L'antigène du groupe G est aussi présent chez les souches de *Streptococcus canis* décrites chez les bovins et les chiens, et récemment isolées chez l'homme. De plus, il n'est pas rare que des streptocoques de groupe C ou G, comme des streptocoques de groupe F ou même A, appartiennent à l'espèce *Streptococcus anginosus* ou à l'espèce *Streptococcus constellatus*. Ces dernières espèces font partie de l'ancien ensemble des streptocoques « milleri » qui se distinguent des espèces « pyogènes » par leurs colonies « minutes » (de très petite taille). D'autres espèces sont plus rares, comme *Streptococcus phocae* du groupe C ou F et la variété β -hémolytique de *Streptococcus alactolyticus*, décrite sous le nom de « *Streptococcus intestinalis* » exprimant inconstamment le groupe G, alors que les souches non-hémolytiques sont du groupe D ou non groupables.

Figure 1. Classification des principales espèces de streptocoques



⁽¹⁾ Souches α - ou non-hémolytiques, animales, groupe C

⁽²⁾ Souches β -hémolytiques, humaines ou animales, groupes C, G, rarement A ou L

⁽³⁾ Souches α - ou β -hémolytiques, groupes A, C, G, F ou non groupables

⁽⁴⁾ Souches habituellement α -hémolytiques et non groupables

tableau IV - Streptocoques β -hémolytiques et principales espèces de groupe A, B, C, F ou G

Ensemble	Espèce et sous-espèce	Hôtes	Hemolyse	Groupe de Lancefield
Streptocoques pyogènes*	<i>S. pyogenes</i>	Homme	β	A
	<i>S. agalactiae</i>	Homme et Animal	β ou nh	B
	<i>S. porcinus</i>	Homme Animal	β	B ou ng E, P, U, V ou ng
	<i>S. pseudoporcinus</i>	Homme	β	ng
	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	Animal	α ou nh	C
	subsp. <i>equisimilis</i>	Homme Animal	β β	G, C, A ou L rare C ou L
	<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>	Animal	β	C
	subsp. <i>zooepidemicus</i>	Animal Homme	β	C
	subsp. <i>ruminatorum</i>	Animal	β	C
<i>S. canis</i>	Animal et Homme	β	G	
<i>S. phocae</i>	Animal	β	C ou F	
Streptocoques du groupe D	" <i>S. intestinalis</i> " = <i>S. alactolyticus</i>	Animal et Homme	β α ou nh	G (rare) ou ng D ou ng
Streptocoques "milleri" °	<i>S. anginosus</i>	Homme	α , β ou nh	F, C, A, G ou ng
	<i>S. constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>	Homme	α , β ou nh	F, G, C ou ng A (rare)
	subsp. <i>pharyngitis</i>	Homme	β	C
	<i>S. intermedius</i>	Homme	α ou nh	ng

* petites colonies
° colonies « minutes »

nh : non hémolytique
ng : non groupable

2- Application aux souches de l'opération 07BAC2

L'identification des streptocoques repose sur la morphologie des bactéries, les caractères de culture sur gélose enrichie de sang indiqués ci-dessous et sur quelques tests métaboliques :

- cocci à Gram positif, arrondis et disposés en chaînettes ;
- colonies β -hémolytiques de petite taille obtenues sur gélose Columbia au sang, après 18h d'incubation à 35°C ou 37°C en atmosphère aérobie, anaérobie ou enrichi e en CO₂, sans odeur particulière de caramel.

Les colonies des deux souches du contrôle de qualité bien qu'elles soient de petite taille, ne sont pas aussi petites que celles des streptocoques de l'ensemble *S. anginosus* / *S. constellatus*.

- tests effectués directement à partir des colonies :

- Test de catalase : négatif, qui les distingue en particulier des staphylocoques ;
- Test rapide de production de pyrrolidonyl arylamidase (PYRase) : négatif.

Ce caractère négatif du test PYRase effectué sur les deux souches les distingue des entérocoques, qui sont « PYRase-positifs ». Parmi les streptocoques β -hémolytiques, seuls *S. pyogenes* et certaines souches de *S. porcinus* sont PYRase-positifs.

Le caractère β -hémolytique oriente vers les streptocoques pyogènes, et non vers les streptocoques α - ou non hémolytiques, commensaux des muqueuses et isolés par hémoculture plus souvent à l'occasion d'endocardites, que de lésions des tissus mous. Il n'exclut cependant pas les streptocoques de l'ensemble *S. anginosus* / *S. constellatus* (figure 1).

La détermination du groupe de Lancefield par agglutination sur lame est faite à partir des colonies avec les sérums mettant en évidence les antigènes des groupes A, B, C, F et G (figure 2).

Il est inutile de tester sur des streptocoques β -hémolytiques le sérum du groupe D, qui réagit avec l'acide lipotéichoïque des streptocoques du groupe D et des entérocoques.

La présence de l'antigène C (souche du lot 1) ou G (souche du lot 2) oriente l'identification vers plusieurs espèces. C'est aussi un marqueur particulier à chacune de ces deux souches de *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*.

Environ la moitié des laboratoires participants ont identifié les deux souches de streptocoques par leur seul antigène de groupe (tableau I). Les réactifs d'agglutination utilisés sont ceux commercialisés par bioMérieux, BioRad, Elitech, Fumouze, Oxoid ou Servibio. Leurs performances ont été bonnes pour chacune des deux souches. Quelques laboratoires ont, cependant, fait des erreurs majeures sur la détermination du groupe (groupe rendu A, B, F ou D, au lieu de C ou G) (tableau II).

L'identification phénotypique d'espèce et de sous-espèce des streptocoques possédant l'antigène C ou G repose sur une association de caractères métaboliques qui les distingue des autres streptocoques pyogènes (tableau V).

Ces tests ont été réalisés sur des galeries d'identification API ID 32 STREP ou 20 STREP (bioMérieux) ou sur automate Vitek (bioMérieux), plus souvent que sur automate Phoenix (Becton Dickinson) ou Microscan (Dade Behring). Le niveau d'identification varie selon les souches et les galeries utilisées et la date d'actualisation de la banque de données ou du système expert utilisés. Par exemple avec l'automate Phoenix (version 5.15A) la souche du lot 1 est identifiée précisément comme *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, alors que la souche du lot 2 est identifiée incomplètement comme *S. dysgalactiae* / *S. canis*. En effet, pour cette dernière souche les caractères métaboliques analysés sont en faveur de *S. dysgalactiae*, mais ne permettent pas d'exclure *S. canis*, d'où l'absence de distinction entre les deux espèces.

Lorsqu'une souche, responsable d'une infection sévère ou de cas groupés, ne peut être facilement identifiée jusqu'au niveau d'espèce et de sous-espèce, par les techniques utilisées couramment dans un laboratoire, elle peut être confiée au Centre National de Référence des Streptocoques (CNR-Strep).

L'identification génomique repose sur l'analyse de séquences de gènes amplifiés en utilisant des primers dits universels pour le gène de l'ARN ribosomal 16S ou des primers spécifiques d'autres gènes.

La séquence de référence utilisée pour identifier les souches de *Streptococcus dysgalactiae* est celle de l'ARNr 16S.

figure 2 - Identification des principales espèces de streptocoques bêta-hémolytiques isolées chez l'Homme

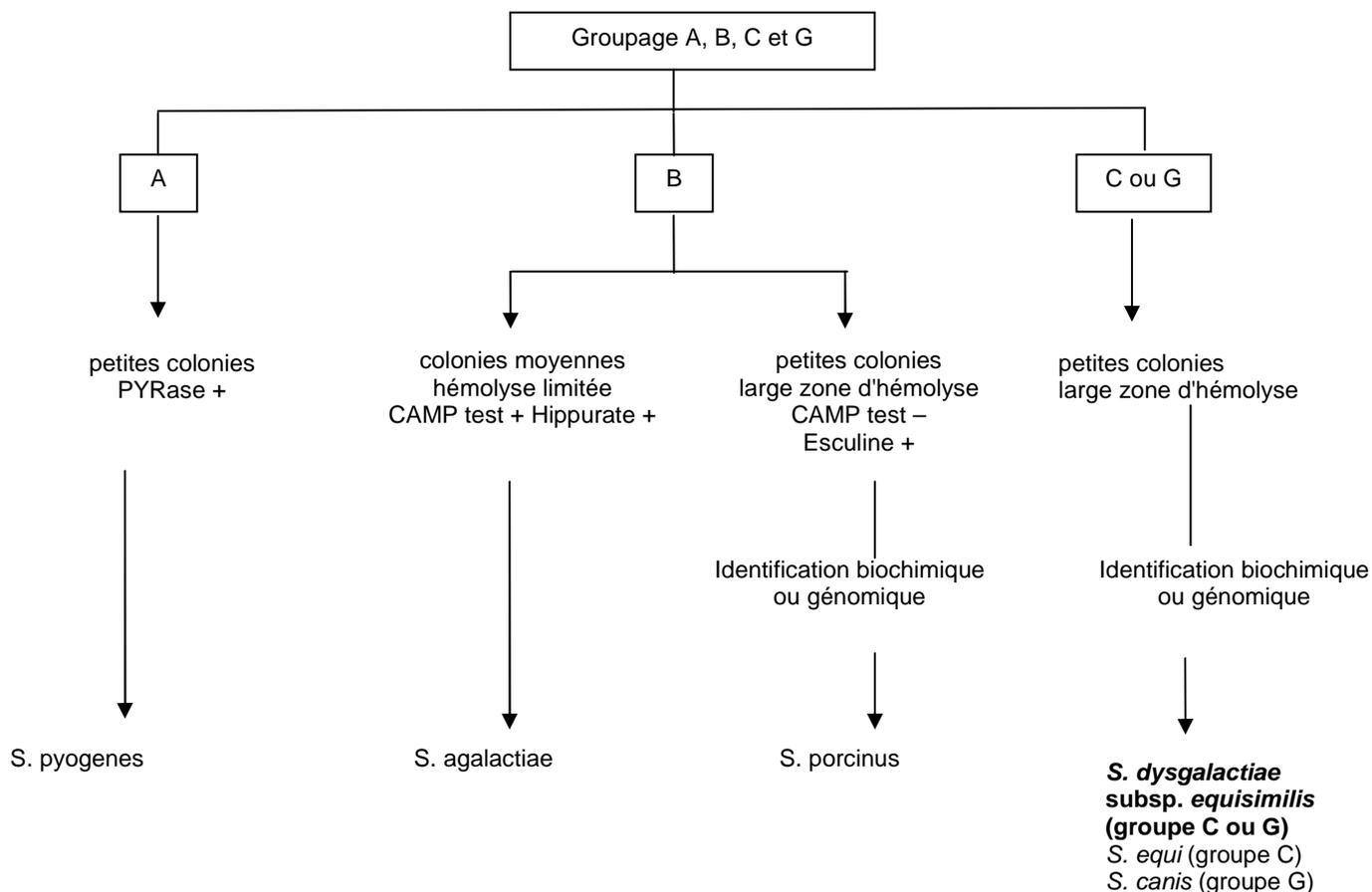


tableau V - Caractères d'identification phénotypiques des principales espèces de streptocoques pyogènes.

	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. porcinus</i>	<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>	<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	<i>S. canis</i>	<i>S. phocae</i>
Groupe de Lancefield	A	B	B ⁽¹⁾ , E, P, U, V ou ng ⁽²⁾	C	C	C ou L	C ou G	G	C, F ou ng
Hémolyse	β	β	β	β	β	α ou β	β	β	β
Hydrolyse de :									
Esuline	-	-	+	V	V	V	V	+	-
Hippurate	-	+	V ⁽³⁾	-	-	V	-	-	-
Production de :									
PYRase	+	+	V	-	-	-	-	-	-
Acétoïne	-	+	V	-	-	-	-	-	-
Fermentation du :									
Lactose	+	V	V	-	+	+	V	+	-
Sorbitol	-	-	+	-	+	V	-	-	-
Ribose	-	+	+	-	+	+	V	+	+
Mannitol	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Sensibilité bacitracine	S ⁽⁴⁾	R ⁽⁵⁾	R	R	R	R	R*	R	S

+ : > 85 % de souches positives, - : < 15 % de souches positives, V : caractères variable selon les souches, * : rares exceptions

⁽¹⁾ 50 % des souches d'origine humaine de *S. porcinus* sont de groupe B

⁽²⁾ ng : non groupable

⁽³⁾ 50 % des souches d'origine humaine de *S. porcinus* hydrolysent l'hippurate

⁽⁴⁾ S : sensible : présence d'une zone d'inhibition autour d'un disque chargé de bacitracine (0,02 ou 0,04 U)

⁽⁵⁾ R : résistant à la bacitracine : absence de zone d'inhibition

Bibliographie

(1) Précis de bactériologie clinique, *Streptococcaceae: Streptococcus, Abiotropha, Granulicatella, Enterococcus* et autres genres apparentés. Bouvet A., Schlegel L., Loubinoux J. in Précis de Bactériologie Clinique, 2007, pages 845-897. Freney J., Renaud F., Leclercq R., et Riegel L. Editions ESKA, Paris.

Antibiogramme

Définition des échantillons

En ce qui concerne l'antibiogramme, deux souches d'*Escherichia coli* ont été proposées : l'une produisait une β -lactamase de type oxacillinase (OXA-1), l'autre produisait une β -lactamase de type TEM résistante aux inhibiteurs (TRI ou IRT-2). Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche qu'ils avaient isolée vis-à-vis de 20 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 VI. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test et par la méthode de référence (dilution en gélose).

tableau VI - Antibiogramme : résultats des experts

Antibiotiques	<i>E. coli</i> OXA-1		<i>E. coli</i> IRT-2	
	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Amoxicilline	R	R	R	R
Amoxicilline + ac. clavulanique	R	R	R	R
Ticarcilline	R	R	R	R
Ticarcilline + ac. clavulanique	R	R	I	I
Pipéracilline	I / R	I / R	I	I
Pipéracilline + tazobactam	I / S	I / S	S	S
Céfaloine	I	I	S	S
Céfuroxime	S	S	S	S
Céfamandole	S	S	S	S
Céfoxitine	S	S	S	S
Céfotaxime	S	S	S	S
Ceftazidime	S	S	S	S
Céfépime / cefpirome	S	S	S	S
Imipénème	S	S	S	S
Gentamicine	S	S	S	S
Tobramycine	S	S	S	S
Acide nalidixique	S	S	S	S
Ofloxacine	S	S	S	S
Ciprofloxacine	S	S	S	S
Cotrimoxazole	S	S	R	R

Résultats des participants

Les résultats obtenus, tous réactifs confondus, sont détaillés pour chacune des deux souches dans les tableaux VII et VIII (la réponse attendue pour chaque antibiotique apparaît en gras).

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires devaient préciser le phénotype de résistance aux β -lactamines détecté. Les réponses obtenues pour chaque souche sont rapportées dans le tableau IX.

tableau VII – antibiogramme *E. coli* OXA-1

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Amoxicilline	1621	0,2	-	99,8	1592	0,2	-	99,8
Amoxicilline + ac. clavu.	1669	0,4	6,4	93,2	1634	0,3	3,9	95,8
Ticarilline	1639	0,3	0,3	99,4	1599	0,3	0,2	99,5
Ticarilline + ac. clavu.	1231	1,1	11,1	87,8	1211	1,0	8,5	90,5
Pipéracilline	1109	2,3	28,7	69,0	1103	1,6	23,1	75,3
Pipéracilline + tazobactam	1288	21,4	66,2	12,4	1262	14,0	60,9	25,1
Céfalotine	1647	19,9	44,0	36,1	1607	17,2	39,1	43,7
Céfuroxime	559	65,8	15,2	19,0	578	64,0	14,5	21,5
Céfamandole	301	81,7	7,0	11,3	339	76,7	7,1	16,2
Céfoxitine	1519	98,7	0,6	0,7	1484	97,6	0,9	1,5
Céfotaxime	1503	97,8	1,3	0,8	1475	95,3	2,6	2,1
Ceftazidime	1615	99,3	0,3	0,4	1564	96,5	2,0	1,5
Céfépime / ceftiorome	1194	97,0	1,2	1,8	1185	94,0	3,5	2,5
Imipénème	1249	99,6	0,2	0,2	1230	99,4	0,2	0,4
Gentamicine	1663	99,6	0,2	0,2	1621	99,4	0,2	0,4
Tobramycine	1595	99,4	0,4	0,2	1558	99,2	0,4	0,4
Acide nalidixique	1630	98,9	0,7	0,4	1589	98,9	0,5	0,6
Ofloxacin	1581	99,9	0,1	-	1542	99,8	0,2	-
Ciprofloxacine	1657	99,9	0,1	-	1615	99,9	0,1	-
Cotrimoxazole	1616	97,8	0,9	1,3	1576	97,6	0,8	1,6

tableau VIII - antibiogramme *E. coli* IRT-2

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Amoxicilline	1651	0,5	0,1	99,4	1616	0,4	0,2	99,4
Amoxicilline + ac. clavu.	1694	0,7	5,8	93,5	1655	0,7	2,5	96,8
Ticarilline	1668	0,7	1,6	97,7	1632	0,6	0,9	98,5
Ticarilline + ac. clavu.	1212	18,5	27,6	53,9	1211	13,0	21,4	65,6
Pipéracilline	1085	20,1	25,7	54,2	1092	7,1	30,5	62,4
Pipéracilline + tazobactam	1317	83,9	13,1	3,0	1304	56,7	32,8	10,5
Céfalotine	1673	77,7	9,1	13,2	1625	70,4	12,2	17,4
Céfuroxime	572	94,4	3,7	1,9	610	91,3	3,4	5,3
Céfamandole	345	96,2	2,9	0,9	401	92,5	2,8	4,7
Céfoxitine	1536	99,0	0,5	0,5	1504	98,8	0,8	1,2
Céfotaxime	1514	99,4	0,3	0,3	1485	98,4	1,0	0,6
Ceftazidime	1636	98,8	0,5	0,7	1586	98,0	0,9	1,1
Céfépime / ceftiorome	1237	99,5	0,2	0,2	1226	98,4	1,0	0,6
Imipénème	1260	99,5	0,2	0,3	1247	99,3	0,1	0,6
Gentamicine	1684	98,6	0,4	1,0	1637	97,9	0,9	1,2
Tobramycine	1598	95,3	2,1	2,6	1562	95,2	1,7	3,1

Acide nalidixique	1641	98,9	0,4	0,7	1598	98,7	0,3	0,9
Ofloxacin	1591	99,8	0,1	0,1	1555	99,7	0,1	0,2
Ciprofloxacine	1667	100	-	-	1624	99,8	-	0,2
Cotrimoxazole	1652	2,9	0,4	96,7	1612	2,8	0,3	96,9

tableau IX - Phénotype de résistance aux β -lactamines.

	E. coli OXA-1	E. coli IRT-2
Absence de réponse	90	73
Pénicillinase bas niveau	49	97
Pénicillinase haut niveau	562	404
Pénicillinase résistante aux inhibiteurs	11	10
IRT ou oxacillinase	94	121
IRT	718	942
Oxacillinase	78	21
Céphalosporinase naturelle chromosomique HP	11	12
BLSE	47	25
Autres (divers)	40	16
Total	1700	1721

Commentaires

Le choix des deux souches d'*Escherichia coli* a été motivé par l'émergence depuis quelques années de souches de *E. coli* résistantes à l'association amoxicilline-acide clavulanique aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire. La détection de cette résistance est importante, l'interprétation qui en est faite également.

Globalement, on peut considérer que la résistance (R) à cette association tourne autour de 4 à 7%, aussi bien en ville qu'à l'hôpital, aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant. En milieu hospitalier, elle est plus fréquente dans les services de chirurgie et dans les unités de soins intensifs. De plus, le pourcentage de souches R est plus élevé parmi les isolats provenant des infections respiratoires basses (3).

Plusieurs mécanismes peuvent être responsables de la résistance à cette association : en premier lieu, la surexpression du gène naturel codant pour la céphalosporinase (gène *ampC*), en deuxième lieu, l'hyperproduction de la bêta-lactamase acquise usuelle de type TEM-1 (plus rarement TEM-2), puis l'expression d'un mutant du gène TEM-1/2 conférant la résistance aux inhibiteurs (comparable aux mutants de type BLSE conférant la résistance aux céphalosporines de troisième génération), et enfin l'expression d'une bêta-lactamase de type OXA-1 (ou OXA-30) naturellement peu sensible aux inhibiteurs comme l'acide clavulanique.

L'incidence de ces différents mécanismes semble varier d'un pays à l'autre (1, 3, 6).

Escherichia coli producteur d'OXA-1.

Beta-lactamines

Globalement, concernant les pénicillines, les résultats bruts sont assez satisfaisants puisque plus de 85% des résultats sont bons. La souche était résistante aux anciennes pénicillines (amoxicilline, ticarcilline), intermédiaire ou résistante à la pipéracilline. De même, cette souche était résistante à l'association amoxicilline-acide clavulanique. Dans ce cas précis, plus de 6% des laboratoires ont rendu intermédiaire. De même, cette souche était résistante à l'association ticarcilline-acide clavulanique et plus de 12% des laboratoires ont répondu intermédiaire ou sensible (ce qui est plus grave).

Le problème principal réside dans l'interprétation des résultats, en particulier pour les associations avec les inhibiteurs. En effet, on observe un glissement des résultats interprétés vers plus de résistance (S interprété I et I interprété R). Il n'y a aucune raison d'opérer ce glissement, alors qu'il n'existe aucune règle codifiée selon la version 2007 du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Concernant les céphalosporines de première et deuxième génération, la souche était intermédiaire à la céfalotine et sensible au céfamandole et au céfuroxime. Il y a eu beaucoup d'erreur au niveau des résultats lus pour la céfalotine, car près de 20% des participants ont rendu « sensible » et plus de 35% ont rendu « résistant ». Pour le céfamandole et le céfuroxime, le pourcentage d'erreur est moindre mais reste important puisque respectivement plus de 18% et plus de 30% les ont trouvés « intermédiaire », voire « résistant ».

La souche était sensible aux céphalosporines de troisième et quatrième génération. Les résultats bruts sont corrects avec plus de 97% de réponses « sensible », mais un certain nombre de participants ont interprété à tort les résultats en « intermédiaire », croyant voir une synergie entre le céfépime et les associations avec les inhibiteurs.

OXA-1 (OXA-30) est une enzyme qui confère une diminution de sensibilité au céfépime, mais avec des CMI qui restent dans la zone de sensibilité ($\leq 4 \mu\text{g/ml}$) et à un moindre niveau au céfotaxime (CMI $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$) (2, 5). Il n'y a pas de règle d'interprétation particulière concernant cette enzyme.

Autres antibiotiques

Concernant les autres antibiotiques : gentamicine, tobramycine, acide nalidixique, ofloxacine, ciprofloxacine et cotrimoxazole, les résultats sont globalement bons avec de 97,8 à 99,9% de réponses correctes.

Escherichia coli IRT-2.

Béta-lactamines

Cette souche produisait une bêta-lactamase appelée IRT-2 (pour **Inhibitory Resistant TEM** bêta-lactamase) ou en français TRI-2 (pour **TEM Résistant aux Inhibiteurs**). Cette souche était donc résistante à l'amoxicilline, à la ticarcilline, et également à l'association amoxicilline-acide clavulanique. Elle était de sensibilité intermédiaire à la pipéracilline et à l'association ticarcilline-acide clavulanique. Enfin, elle était sensible à l'association pipéracilline - tazobactam. Les principales erreurs portent sur les trois dernières citées ; en effet, près de 75% des réponses concernant l'association ticarcilline-acide clavulanique et la pipéracilline étaient erronées avec près de 50% de R et 25% de S. De plus, près de 15% des réponses concernant l'association pipéracilline-tazobactam étaient fausses avec une très grande majorité de rendu "intermédiaire". Comme pour la souche produisant OXA-1, il y a une dérive importante dans l'interprétation des résultats, en particulier pour les associations avec les inhibiteurs. En effet, on observe également le même glissement des résultats interprétés vers plus de résistance (S interprété I et I interprété R). Il n'y a aucune raison d'opérer ce glissement, alors qu'il n'existe aucune règle codifiée selon la version 2007 du CA-SFM.

La seule règle d'interprétation concerne la pipéracilline où il est clairement dit d'interpréter « I » un résultat « S » chez toute entérobactérie I ou R aux carboxy-pénicillines (en l'occurrence la ticarcilline). Or, on note que plus de 7% des laboratoires participants ont rendu S à pipéracilline alors que la souche est ticarcilline R.

Concernant les céphalosporines, la souche était sensible aux 4 générations testées. Concernant plus particulièrement la céfalotine, qui devait être rendue S, un pourcentage important de laboratoires ont répondu en résultats bruts I (9,1%) ou R (13,2%). Ces résultats sont liés à l'utilisation des galeries API bioMérieux comme ATB G-, rapid ATB UR ou rapid ATB E qui testent une concentration unique (8 mg/l), mais aussi ATB UR qui pourtant teste deux concentrations (8 et 32 mg/l). D'autre part, un pourcentage supplémentaire important (7,2%) des biologistes ont interprété leur résultat brut S en I, voire en R, ce qui n'est absolument pas justifié. Une dérive dans le même sens, mais heureusement moins importante, a été observée pour le céfuroxime et le céfamandole.

Autres antibiotiques

La souche de *E. coli* était sensible aux aminosides testés (gentamicine, tobramycine) bien qu'elle présentait une diminution de sensibilité ou de diamètre à la tobramycine due à une hyperproduction de l'enzyme APH(3')-I conférant la résistance à la kanamycine (4). Il n'y a pas lieu de procéder actuellement à une lecture interprétative. La souche était pleinement sensible aux fluoroquinolones. Enfin, elle était résistante au cotrimoxazole (R aux sulfamides et au triméthoprime) ; on compte cependant près de 3% des laboratoires qui ont répondu S pour cet antibiotique.

Interprétation des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines

Concernant l'interprétation des phénotypes, plus de 50% des laboratoires ont correctement identifié le phénotype IRT, alors que le phénotype oxacillinase ne l'a été que par 4,6% d'entre eux (tableau IX). Dans ce dernier cas, les laboratoires ont répondu soit IRT, soit pénicillinase haut niveau. Pour les deux souches, un petit nombre de laboratoires ont répondu BLSE.

Au vu de ces résultats, il nous a semblé important de clarifier ces phénotypes afin d'apporter des solutions simples pour aider les biologistes dans l'interprétation des phénotypes de résistance à l'association amoxicilline - acide clavulanique chez *Escherichia coli*.

La résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique chez *E. coli* est due à 4 mécanismes :

- la surexpression du gène naturel codant pour la céphalosporinase,
- l'hyperproduction de la bêta-lactamase acquise usuelle de type TEM-1 (plus rarement TEM-2),
- l'expression d'un mutant de type IRT dérivant du gène TEM-1/2 et conférant la résistance aux inhibiteurs
- l'expression d'une bêta-lactamase de type OXA-1 (ou OXA-30).

Dans le cas précis de ce contrôle, les deux souches ne surexprimaient pas le gène de céphalosporinase naturelle. Ce mécanisme (figure 3) se détecte facilement par une résistance associée à la céfalotine, au céfixime et une sensibilité de type intermédiaire à la céfoxitine. Ces souches sont habituellement sensibles à la ticarcilline (et à la pipéracilline), ce qui signe l'absence de bêta-lactamase acquise de type TEM ou OXA-1/30.

Les événements génétiques à l'origine de cette surexpression de la céphalosporinase sont soit une modification du propre promoteur du gène *ampC* par des mutations le rendant plus efficace soit l'insertion d'une séquence d'insertion en amont du gène *ampC* apportant un nouveau promoteur plus efficace.

figure 3 - *Escherichia coli* hyperproducteur de céphalosporinase



AMX, amoxicilline ; TIC, ticarcilline ; PIP, pipéracilline ; FEP, céfépime ; CF, céfalotine ; AMC, amoxicilline + acide clavulanique ; CAZ, ceftazidime ; TZP, pipéracilline + tazobactam ; FOX, céfoxitine ; CXM, céfuroxime ; TCC, ticarcilline + acide clavulanique ; ATM, aztréonam ; MA, céfamandole ; CFM, céfixime ; CTX, céfotaxime ; IPM, imipénème.

Le deuxième mécanisme incriminé dans la résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique est l'hyperproduction d'une bêta-lactamase acquise de type TEM-1/2 dont le gène est porté par un petit plasmide qui se trouve en mult copie à l'intérieur de chaque cellule bactérienne ou dont le gène est précédé d'un promoteur fort permettant une expression beaucoup plus importante du gène (figure 4). Dans ce cas, la souche est résistante à toutes les pénicillines (amoxicilline, ticarcilline, pipéracilline), aux associations amoxicilline-acide clavulanique et ticarcilline-acide clavulanique, et à la céfalotine. Le céfamandole, céphalosporine de deuxième génération, est également touché (rendu R) puisque bien hydrolysé. On peut également remarquer que l'association pipéracilline-tazobactam est rendue intermédiaire, car la quantité de tazobactam est insuffisante pour restaurer l'activité de la pipéracilline.

figure 4 - *Escherichia coli* hyperproducteur de la bêta-lactamase TEM-1

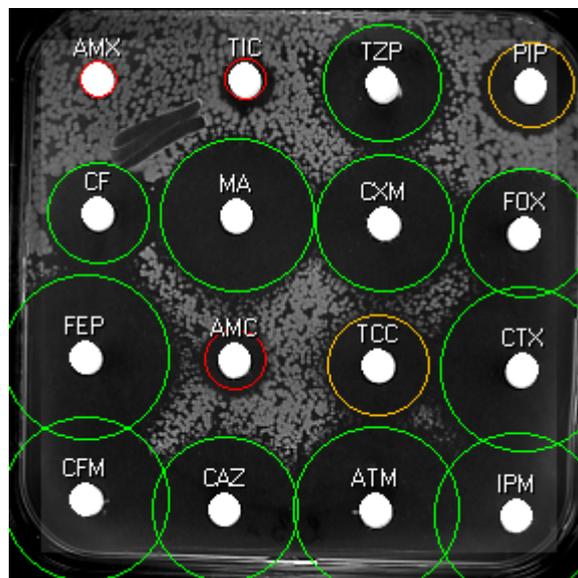


Le troisième mécanisme est la production d'un mutant de la bêta-lactamase de type TEM1/2 devenu résistant aux inhibiteurs par mutation intra-génique. L'effet de ces mutations sur l'expression de l'enzyme est, d'une part une importante diminution de l'affinité pour les inhibiteurs, d'où la grande diminution de leur efficacité et d'autre part, une moindre diminution de l'affinité pour les substrats de cette enzyme que sont les pénicillines, la

Annales Bactériologie 07BAC2 13 / 20

céfalotine et le céfamandole. En effet, on peut voir que cette souche est sensible à la céfalotine et au céfamandole, ce qui écarte la surproduction de la céphalosporinase (souche également sensible au céfixime et à la céfoxitine) et qui écarte également une hyperproduction d'une beta-lactamase de type TEM-1/2. On peut remarquer également la présence d'un petit diamètre d'inhibition autour de la ticarcilline, signant la diminution d'affinité de ces mutants IRT pour les pénicillines (7).

figure 5 - *Escherichia coli* producteur d'une bêta-lactamase de type IRT



Le dernier mécanisme est la production d'une enzyme de type OXA-1/30 (figure 6). Ces bêta-lactamases (classe D de Ambler) ne sont naturellement pas bien inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam, d'où la résistance aux associations des pénicillines à l'acide clavulanique et la moindre efficacité du tazobactam associé à la pipéracilline. On peut remarquer, que le céfamandole n'est absolument pas hydrolysé par cette enzyme, d'où une sensibilité équivalente à celle d'une souche sauvage de *E. coli*. On peut également remarquer, ce qui est tout à fait inhabituel chez *E. coli*, une diminution importante de la sensibilité au céfépime (et au ceftiofime), à un moindre degré au céfotaxime, alors que la ceftazidime garde son entière efficacité. En effet, l'enzyme de type OXA-1/30 hydrolyse de manière efficace le céfépime et le ceftiofime ce qui entraîne une augmentation importante de la CMI de ces deux molécules d'un facteur d'environ 50 (2, 5). De plus, cette hydrolyse et la faible efficacité de l'acide clavulanique est à l'origine d'une image de synergie dite "en entonnoir" ou "en pointe" entre le disque de céfépime et le disque amoxicilline-acide clavulanique (figure 7). Cette image de synergie en pointe est totalement différente de l'image dite "en bouchon de champagne" observée pour les bêta-lactamase à spectre élargi ou BLSE. Dans ce cas présent, il ne fallait pas répondre BLSE pour ce phénotype. Cette distinction a été parfaitement clarifiée dans la version 2008 du CA-SFM.

figure 6 - *Escherichia coli* producteur d'OXA-1/30

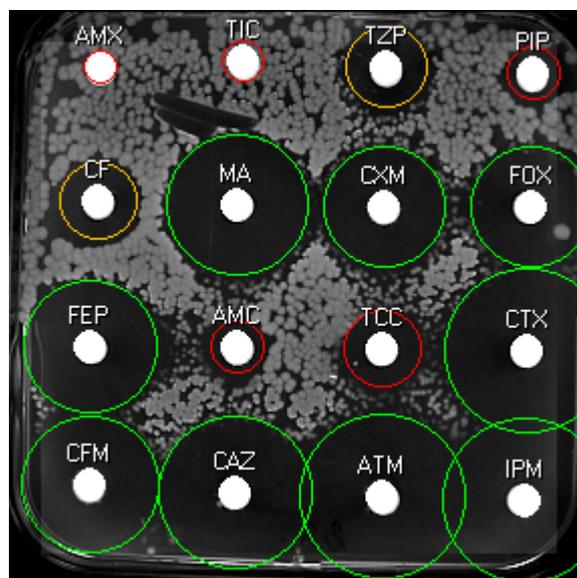
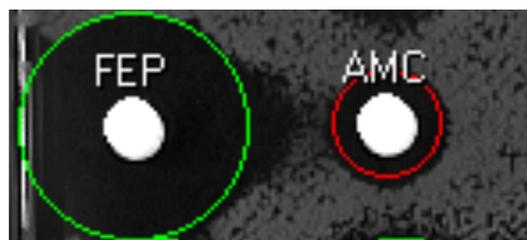


figure 7 - synergie en pointe entre le céfépime et le disque amoxicilline + acide clavulanique chez *Escherichia coli* producteur d'OXA-1/30



Bibliographie

1. Brinas L, Zarazaga M, Saenz Y, Ruiz-Larrea F, Torres C. Beta-lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans, and healthy animals. *Antimicrobial Agents Chemother.* 2002, 46: 3156-63.
2. Dubois V, Arpin C, Quentin C, Texier-Maugein J, Poirel L, Nordmann P. Decreased susceptibility to cefepime in a clinical strain of *Escherichia coli* related to plasmid- and integron-encoded OXA-30 beta-lactamase. *Antimicrobial Agents Chemother.* 2003, 47: 2380-1.
3. Leflond-Guibout V, Speldooren V, Heym B, Nicolas-Chanoine MH, Epidemiological survey of amoxicillin-clavulanate resistance and corresponding molecular mechanisms in *Escherichia coli* isolates in France: new genetic features of *bla*_{TEM} genes. *Antimicrobial Agents Chemother.* 2000, 44: 2709-14.
4. Menard R, Molinas C, Arthur M, Duval J, Courvalin P, Leclercq R. Overproduction of 3'-aminoglycoside phosphotransférase type I confers resistance to tobramycin in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents Chemother.* 1993, 37: 78-83.
5. Sanders CC. Cefepime : the next generation. *Clin Infect Dis.* 1993, 17: 369-79.
6. Stapleton P, Wu PJ, King A, Shannon K, French G, Phillips I. Incidence and mechanisms of resistance to the combination amoxicillin and clavulanic acid in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents Chemother.* 1995, 39: 2478-83.
7. Vedel G, Belaouaj A, Gilly L, Labia R, Philippon A, Nevot P, Paul G. Clinical isolates of *Escherichia coli* producing TRI beta-lactamases: novel TEM-enzymes conferring resistance to beta-lactams inhibitors. *J Antimicrobial Chemother.* 1992, 30:449-62.

Sérodiagnostic *Chlamydia trachomatis*

Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun 500 µl de sérum ont été proposés pour la recherche et le titrage des IgG anti-*C.trachomatis* et, en cas de positivité, des IgA et/ou des IgM anti-*C.trachomatis*.

Les renseignements cliniques joints aux échantillons étaient les suivants : jeune femme de 23 ans présentant des douleurs abdominales qui se rend au laboratoire pour un ECB cervico-vaginal complet avec recherche directe de *Chlamydia trachomatis* au niveau endocervical ainsi que pour un sérodiagnostic de *C. trachomatis*.

Les numéros des échantillons ainsi que leurs titres respectifs rapportés par les experts sont rassemblés dans le tableau X.

tableau X - Résultats des experts

Echantillon	Experts	IgG anti- <i>C. trachomatis</i>			IgA anti- <i>C. trachomatis</i>			IgM anti- <i>C. trachomatis</i>		
		titre	seuil	conclusion	titre	seuil	conclusion	titre	seuil	conclusion
SCT1 ou SCT4	Exp 1*	< 1	1,1	négatif	< 1	1,1	négatif	-	-	-
	Exp 2**	< 32	64	négatif	-	-	-	< 1/10	1/10	négatif
< 16		16								
SCT2 ou SCT3	Exp 1	5,5	1,1	positif	1,7	1,1	positif faible	-	-	-
	Exp 2	256	64	positif moyen	-	-	-	1/10	1/10	positif faible
128		16								

* réactifs utilisés : sero CT IgG BMD, sero CT IgA BMD

** réactifs utilisés : Chlamydia IgG sero FIA BMD, Chlamydia MIF IgG EURO BIO, Chlamydia IgM sero FIA BMD

Résultats des participants

Chacun des 1025 laboratoires ayant déclaré réaliser le sérodiagnostic des infections urogénitales à *C. trachomatis* a reçu un des deux échantillons suivants : SCT1/SCT4 ou SCT2/SCT3.

Selon la Nomenclature des actes de biologie médicale, cette analyse comprend la recherche et le titrage éventuel des IgG et en cas de positivité, la recherche des IgA ou des IgM. Comme le montrent les réponses obtenues pour l'échantillon SCT2/SCT3 (tableau XI), la quasi-totalité des laboratoires (357/374) recherche les IgA en plus des IgG lorsque ces dernières sont positives ; très peu recherchent les IgM (8/374) ou les deux isotypes IgM + IgA (9/374).

Le bilan des techniques et réactifs employés par les 821 laboratoires participants montre que la majorité d'entre eux utilisent un réactif ELISA plutôt qu'une technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) pour la recherche des IgG (83,9%) et des IgA (87,9%) (tableaux XII et XIII). En revanche, le dépistage des IgM, très peu pratiqué par les laboratoires, est uniquement réalisé en IFI (tableau XIV).

Pour chaque type d'anticorps, une conclusion était demandée (au choix : négatif, douteux, faiblement positif, moyennement positif, fortement positif ou positif sans précision supplémentaire). En ce qui concerne l'échantillon SCT1/SCT4, les conclusions rendues par les laboratoires en fonction du réactif utilisé sont présentées dans les tableaux XV, XVI et XVII respectivement pour les IgG, IgA et IgM anti-*C. trachomatis*. De la même façon, les conclusions rendues par les participants ayant testé l'échantillon SCT2/SCT3 sont détaillées dans les tableaux XVIII, XIX et XX. Les réponses attendues figurent en gras dans les tableaux.

tableau XI - Classe(s) d'immunoglobuline(s) recherchée(s) en fonction de l'échantillon testé

Recherche :	SCT1 / SCT4 « IgG négatif »	SCT2 / SCT3 « IgG positif »
IgG seules	225	28
IgG + IgA	185	357
IgG + IgM	5	8
IgG + IgA + IgM	3	9
IgA seules	0	1
total	418	403

tableau XII - Réactifs utilisés pour la recherche des IgG anti-*C. trachomatis*

Techniques / Réactifs	Effectif
ELISA (83,9%) :	
Chlamycheck IgG & IgA	All Diag 100
ELISA anti-Chlamydia trachomatis IgG	Bio Advance 27
Platelia Chlamydia IgG TMB	Bio-Rad 3
SeroCT IgG	BMD 138
Ipazyme Chlamydia IgG/IgA	BMD 28
Novagnost Chlamydia trachomatis IgG	Dade Behring 2
Chlamydia trachomatis IgG	DiaSorin 14
Chlamydia trachomatis IgG Plus	DiaSorin 32
Chlamydia trachomatis IgG EIA	Elitech France 6
Chlamydia trachomatis IgG EIA	InGen 39
ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgG	Inverness 220
ImmunoComb Chlamydia bivalent (C.tr+C.pn) IgG	Inverness 73
Chlamydia trachomatis ELISA IgG/IgM	Vircell 6
IFI (15,1%) :	
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance 16
Chlamydia IgG SeroFIA	BMD 33
Chlamydia MIF IgG	Eurobio 7
Lame Mu.S.T. DuoDiag Chlamydiae (IgG/IgA)	inoDiag 1
ServiMif Chlamydia IgG/IgA	Servibio 12
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio 55
réactif non précisé (1%)	8
total	820

tableau XIII - Réactifs utilisés pour la recherche des IgA anti-*C. trachomatis*

Techniques / Réactifs		Effectif
ELISA (87,9%) :		
Chlamycheck IgG & IgA	All Diag	70
ELISA anti-Chlamydia trachomatis IgA	Bio Advance	22
SeroCT IgA	BMD	108
Ipazyme Chlamydia IgG/IgA	BMD	23
Chlamydia trachomatis IgA	DiaSorin	14
Chlamydia trachomatis IgA Plus	DiaSorin	22
Chlamydia trachomatis IgA EIA	Elitech France	6
Chlamydia trachomatis IgA EIA	InGen	28
ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgA	Inverness	190
Chlamydia trachomatis ELISA IgG/IgA	Vircell	3
IFI (11,8%) :		
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance	10
Chlamydia IgA SeroFIA	BMD	13
Chlamydia MIF IgA	Eurobio	3
ServiMif Chlamydia IgG/IgA	Servibio	9
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio	30
réactif non précisé (0,3%)		2
total		553

tableau XIV - Réactifs utilisés pour la recherche des IgM anti-*C. trachomatis*

Techniques / Réactifs		Effectif
IFI (92%) :		
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance	3
Chlamydia IgM SeroFIA	BMD	4
Chlamydia MIF IgM	Eurobio	1
ServiMif Chlamydia IgG/IgM	Servibio	1
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio	14
réactif non précisé (8%)		2
total		25

tableau XV - Echantillon SCT1 ou SCT4 / IgG anti-*C. trachomatis* : conclusion en fonction du réactif utilisé

		Conclusion						
		-	douteux	négatif	positif	positif faible	positif moyen	Total
Chlamycheck IgG & IgA	All Diag			54				54
ELISA anti-Chlamydia trachomatis IgG	Bio Advance			8			1	9
Platelia Chlamydia IgG TMB	Bio-Rad			2				2
SeroCT IgG	BMD			64		1		65
Ipazyme Chlamydia IgG/IgA	BMD			8	1			9
Novagnost Chlamydia trachomatis IgG	Dade Behring			1				1
Chlamydia trachomatis IgG	DiaSorin			6				6
Chlamydia trachomatis IgG Plus	DiaSorin			17				17
Chlamydia trachomatis IgG EIA	Elitech France			2				2
Chlamydia trachomatis IgG EIA	InGen			26				26
ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgG	Inverness	1	1	113		2		117

ImmunoComb Chlamydia bivalent (C.tr+C.pn) IgG	Inverness		1	36		1		38
Chlamydia trachomatis ELISA IgG/IgM	Vircell			3				3
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance			5		1	1	7
Chlamydia IgG SeroFIA	BMD			19		2		21
Chlamydia MIF IgG	Eurobio			3				3
Lame Mu.S.T. DuoDiag Chlamydiae (IgG/IgA)	inoDiag			1				1
ServiMif Chlamydia IgG/IgA	Servibio		1	4	1	1		7
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio		3	21		2		26
réactif non codé				1		3		4
Total		1	6	394	2	13	2	418
Total (%)		-	1,4	94,5	0,5	3,1	0,5	100

tableau XVI - Echantillon SCT1 ou SCT4 / IgA anti-*C. trachomatis* : conclusion en fonction du réactif utilisé

		Conclusion				Total
		-	négatif	positif	positif faible	
Chlamycheck IgG & IgA	All Diag		26			26
ELISA anti-Chlamydia trachomatis IgA	Bio Advance		2			2
SeroCT IgA	BMD		38		1	39
Ipazyme Chlamydia IgG/IgA	BMD		3			3
Chlamydia trachomatis IgA	DiaSorin		5			5
Chlamydia trachomatis IgA Plus	DiaSorin		7			7
Chlamydia trachomatis IgA EIA	Elitech France		1			1
Chlamydia trachomatis IgA EIA	InGen		15			15
ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgA	Inverness	1	60	1		62
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance		6			6
Chlamydia IgA SeroFIA	BMD		5			5
Chlamydia MIF IgA	Eurobio		1			1
ServiMif Chlamydia IgG/IgA	Servibio		4			4
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio		9	1	1	11
réactif non codé			1			1
Total		1	183	2	2	188
Total (%)		-	97,8	1,1	1,1	100

tableau XVII – Echantillon SCT1 ou SCT4 / IgM anti-*C. trachomatis* : conclusion en fonction du réactif utilisé

		Conclusion	
		négatif	Total
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance	1	1
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio	5	5
réactif non codé		2	2
Total		7	8
Total (%)		100,0	100,0

tableau XVIII - Echantillon SCT2 ou SCT3 / IgG anti-*C. trachomatis* : conclusion en fonction du réactif utilisé

		Conclusion							Total
		-	douteux	négatif	positif	positif faible	positif moyen	positif fort	
Chlamycheck IgG & IgA	All Diag				22	3	14	7	46
ELISA anti-Chlamydia trachomatis IgG	Bio Advance			2	10	3	3		18
Platelia Chlamydia IgG TMB	Bio-Rad					1			1
SeroCT IgG	BMD			2	23	3	16	28	72
Ipazyme Chlamydia IgG/IgA	BMD				4	3	9	4	20
Novagnost Chlamydia trachomatis IgG	Dade Behring				1				1
Chlamydia trachomatis IgG	DiaSorin				5		2	1	8
Chlamydia trachomatis IgG Plus	DiaSorin				5		4	6	15
Chlamydia trachomatis IgG EIA	Elitech				2	1	2		5
Chlamydia trachomatis IgG EIA	InGen	1			4	1	1	6	13
ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgG	Inverness		1	2	22	28	31	19	103
ImmunoComb Chlamydia bivalent (C.tr+C.pn) IgG	Inverness		4	3	11	9	6	2	35
Chlamydia trachomatis ELISA IgG/IgM	Vircell				1	1	1		3
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance			4	1	2	1	1	9
Chlamydia IgG SeroFIA	BMD	1	1	2	3	2	1	2	12
Chlamydia MIF IgG	Eurobio				1	1	2		4
ServiMif Chlamydia IgG/IgA	Servibio				3	1	1		5
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio			1	9	6	11	2	29
réactif non codé			1				1	1	3
Total		2	7	16	127	65	106	79	402
Total (%)		-	1,7	4,0	31,8	16,2	26,5	19,8	100,0

tableau XIX - Echantillon SCT2 ou SCT3 / IgA anti-*C. trachomatis* : conclusion en fonction du réactif utilisé

		Conclusion							Total
		-	douteux	négatif	positif	positif faible	Positif moyen	positif fort	
Chlamycheck IgG & IgA	All Diag		4	33	5	2		1	45
ELISA anti-Chlamydia trachomatis IgA	Bio Advance		3	14	2				19
SeroCT IgA	BMD		6	16	12	24	9	3	70
Ipazyme Chlamydia IgG/IgA	BMD			7	3	8	2		20
Chlamydia trachomatis IgA	DiaSorin	1	1	6	1				9
Chlamydia trachomatis IgA Plus	DiaSorin		8	5		1	1		15
Chlamydia trachomatis IgA EIA	Elitech France			2	1	1	1		5
Chlamydia trachomatis IgA EIA	InGen	1	1	1	2	6	1	1	13
ImmunoComb Chlamydia trachomatis IgA	Inverness		11	11	37	43	18	8	128
Chlamydia trachomatis ELISA IgG/IgA	vircell		2		1				3
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance			3	1		1		5
Chlamydia IgA SeroFIA	BMD	2		4	1	1			8
Chlamydia MIF IgA	Eurobio			2					2
ServiMif Chlamydia IgG/IgA	Servibio			3		2			5
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio		1	16	1	1			19
réactif non codé						1			1
Total		4	37	123	67	90	33	13	367
Total (%)			10,2	34,0	18,5	24,6	9,1	3,6	100,0

tableau XX - Echantillon SCT2 ou SCT3 / IgM anti-*C. trachomatis* : conclusion en fonction du réactif utilisé

		Conclusion					Total
		négatif	positif	positif faible	positif moyen	positif fort	
Lames Chlamydia trachomatis IgA, IgG ou IgM	Bio Advance	1		1			2
Chlamydia IgM SeroFIA	BMD	4					4
Chlamydia MIF IgM	Eurobio					1	1
ServiMif Chlamydia IgG/IgM	Servibio				1		1
Lames Chlamydia trachomatis	Servibio	4	2	2	1		9
Total		9	2	3	2	1	17
Total (%)		52,9	11,8	17,6	11,8	5,9	100,0

Commentaires

L'échantillon SCT1/SCT4 qui ne contenait pas d'anticorps anti-*C. trachomatis* n'a pas posé de problème aux laboratoires participants. En effet, le pourcentage de bonnes réponses « négatif » est de 94,5%, 97,8% et 100% respectivement pour la recherche d'IgG, IgA et IgM anti-*C. trachomatis*.

Au vu des titres et des seuils de positivité reportés sur les bordereaux de réponse, quatre laboratoires (3 utilisateurs des réactifs Immunocomb et 1 utilisateur du ServiMif) auraient dû conclure « négatif » en IgG au lieu de « douteux » ou « positif faible » (titre < seuil de positivité) ; ce qui aurait légèrement amélioré le pourcentage de bonnes réponses (95,4%) en IgG.

En ce qui concerne l'échantillon SCT2/SCT3, les réponses obtenues pour la recherche des IgG sont satisfaisantes avec 94,3% de résultats globalement positifs. On note que près du tiers des participants ne se sont pas prononcés sur le degré de positivité de l'échantillon alors qu'il s'agit d'une information importante. Néanmoins, un peu plus du quart ont précisé qu'il s'agissait d'un taux « positif moyen » ce qui correspondait à la réponse attendue.

La grande hétérogénéité des conclusions données par les participants quant au degré de positivité du sérum est due, d'une part à l'hétérogénéité des seuils de positivité utilisés (variables selon les réactifs mais aussi d'un laboratoire à l'autre pour un même réactif) et d'autre part à l'interprétation du couple « titre de l'échantillon/seuil de positivité » qui, pour un même réactif, peut être différente selon le laboratoire.

Seuls seize laboratoires (soit 4%) ont conclu à tort « négatif ».

En ce qui concerne la recherche des IgA anti-*C. trachomatis*, on relève globalement un tiers (34%) de conclusions « négatif », un tiers (34,8%) de conclusions « douteux » ou « positif faible » et un tiers (31,2%) de conclusions positives. Cette discordance s'explique par le taux limite d'IgA : le titre proche du seuil peut être interprété d'une fois sur l'autre comme négatif, douteux ou positif faible. Par conséquent, une conclusion négative est considérée comme acceptable pour cet échantillon. Selon le réactif considéré, le pourcentage de « négatif » varie de 60 à 100% en IFI et de 0 à 75% en ELISA classique. Il est de 8,6% pour le réactif Immunocomb (ELISA sur peigne) et de 73% pour le Chlamycheck (ELISA sur bandelettes).

Seuls 17 laboratoires ont recherché la présence d'IgM anti-*C. trachomatis*. Avec globalement 50% de résultats négatifs et 50% de résultats positifs, on relèvera l'absence de consensus pour cet échantillon. Rappelons que les IgM anti-*C. trachomatis* sont peu sensibles mais spécifiques. Lorsqu'elles sont positives, elles confirment une infection profonde. Mais en cas d'infection profonde, elles ne sont présentes qu'une fois sur deux. Enfin, elles sont utiles dans le suivi de traitement, une diminution de leur titre signe l'efficacité du traitement.