

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Identification bactérienne
Antibiogramme
Sérologie de la syphilis

Muriel FROMAGE et Michèle KERVELLA (Afssaps)
Gérard PAUL et Alain PHILIPPON (Hôpital COCHIN, Paris)

Expédition : 31 mars 2004

Clôture : 26 avril 2004

Edition des compte-rendus individuels : 25 juin 2004

Paramètres contrôlés : **Identification bactérienne et antibiogramme**

Turicella otitidis, *Vibrio alginolyticus*, *Pasteurella dagmatis*, *Streptococcus oralis*

Sérologie de la syphilis

Nombre de laboratoires concernés* : 4252

Nombre de laboratoires participants** : 4012

* 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

Chacun des 4034 laboratoires inscrits en bactériologie générale (identification bactérienne, antibiogramme) a reçu, pour la première fois dans le cadre du CNQ, une des quatre bactéries suivantes sous forme lyophilisée : *Turicella otitidis*, *Vibrio alginolyticus*, *Pasteurella dagmatis* et *Streptococcus oralis*.

Turicella otitidis, bactérie coryneforme n'a été précisément identifiée que par 22% des participants. Cependant, 9 laboratoires sur 10 ont reconnu qu'il s'agissait d'une souche appartenant au groupe des corynebactéries au sens large.

Vibrio alginolyticus a été précisément identifié par 59% des participants. Ce bacille à Gram négatif, mobile et oxydase (+) a été confondu dans 12% des cas avec deux autres genres possédant ces mêmes caractères : *Aeromonas* et *Pseudomonas*. La souche testée était pénicillinase (+) : 95% des laboratoires ont détecté la résistance à l'amoxicilline et à la ticarcilline. De plus, la sensibilité de la souche aux aminosides, tétracyclines, cotrimoxazole, fluoroquinolones a été mise en évidence par 98 à 100% des laboratoires selon l'antibiotique considéré.

Pasteurella dagmatis a été précisément identifiée par 5% des participants. Deux points permettant de relativiser ce faible score sont à souligner : d'une part cette espèce ne figure dans aucune base de données des systèmes d'identification commercialisés, d'autre part 70% des laboratoires ont reconnu une pasteurelle (soit 18% de plus par rapport à l'envoi précédent en 1998 de *Pasteurella multocida*, espèce d'identification plus aisée).

Streptococcus oralis a été précisément identifié par 51% des participants. Cette espèce fait partie du sous-ensemble Or1 des streptocoques oraux au même titre que *S. mitis* et *S. sanguis* (16% des réponses). La sensibilité diminuée de cette souche à la pénicilline G a bien été détectée (97,3% de résultats transmis « I » ou « R » pour cet antibiotique). En revanche, 27 à 38% des participants n'ont pas signalé de diminution de la sensibilité aux trois autres β -lactamines (amoxicilline, ampicilline et céfotaxime).

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 cardiolipidiques, groupe 2 : tests tréponémiques). Chacun des 3076 laboratoires ayant déclaré réaliser cette sérologie a reçu un des quatre échantillons.

Les résultats obtenus en VDRL sont globalement très satisfaisants avec environ 99% de dépistages corrects, à l'exception de l'échantillon « VDRL négatif / TPHA positif » pour lequel on note une proportion non négligeable (13%) de faux positifs en VDRL. C'est un problème récurrent pour ce type d'échantillon ; pour lequel les biologistes semblent hésiter à rendre un VDRL négatif lorsque le TPHA est positif.

Les résultats obtenus en dépistage TPHA sont excellents (99,7%) avec l'échantillon négatif et très bons (96,9%) avec les deux échantillons franchement positifs (titres : 640-1280). En revanche, l'échantillon de titre plus faible (160-320) a été dépisté négatif à tort par 9% 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 (origine)	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<i>Turicella otitidis</i> (Necker, Paris)	154, 163, 224, 518, 885, 908, 944	souche isolée d'une otorrhée associée à une diminution de l'acuité auditive, chez un jeune homme par ailleurs en bonne condition physique, pratiquant des sports d'équipe et la natation en compétition. L'examen ORL montrait une otite chronique résultant du passage à la chronicité d'une otite traitée il y a plusieurs mois à l'aveugle.
<i>Vibrio alginolyticus</i> (CIP 103336T)	121, 249, 377, 431, 687, 761, 959	
<i>Pasteurella dagmatis</i> (CIP 103293T)	146, 233, 252, 426, 572, 732, 962	souche isolée d'une plaie chronique de jambe chez une patiente âgée présentant un mauvais retour veineux des membres inférieurs. Récemment, cette lésion torpide est devenue inflammatoire et douloureuse en même temps qu'elle devenait purulente. La patiente vit seule dans un petit appartement avec ses animaux familiers.
<i>Streptococcus oralis</i> (Hôtel Dieu, Paris)	311, 394, 531, 599, 641, 804, 819	souche isolée par hémoculture d'une endocardite infectieuse sur valves natives chez un patient ayant subi récemment des soins dentaires. La prophylaxie de l'endocardite avait comporté un macrolide sur la notion non confirmée d'une possible allergie à la pénicilline. Au 5 ^{ème} jour de traitement de l'endocardite par pénicilline G et gentamicine à la posologie habituelle, le patient reste fébrile et une série d'hémocultures de contrôle s'avère toujours positive malgré le traitement.

Résultats des participants

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants ainsi que les pourcentages de diagnostics corrects obtenus selon le système d'identification utilisé sont présentés dans les tableaux I et II.

Tableau I – Identification des souches bactériennes : fréquence des résultats

Réponse attendue	Genre exact			Total	Genre faux	Absence de diagnostic	Total des réponses (100%)
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée				
<i>Turicella otitidis</i>	540 ^a (57%)	57 (6%)	219 (23%)	816 ^b (86%)	93 (10 %)	36 (4%)	945
<i>Vibrio alginolyticus</i>	540 (59%)	20 (2%)	18 (2%)	578 (63%)	267 (29%)	71 (8%)	916
<i>Pasteurella dagmatis</i>	41 (5%)	471 ^c (51%)	130 (14%)	642 (70%)	232 (25%)	45 (5%)	919
<i>Streptococcus oralis</i>	612 ^d (67%)	30 (3%)	223 (25%)	865 (95%)	38 (4%)	9 (1%)	912

a : dont 209 (22,1%) réponses *T. otitidis* , 299 (32%) réponses *C. auris* /*T. otitidis* et 32 (3%) réponses *C. auris*.

b : groupe des corynébactéries au sens large.

c : dont 378 (41%) réponses *P. multocida*.

d : dont 463 (51%) réponses *S. oralis*, 106 (11%) réponses *S. mitis* et 43 (5%) réponses *S. sanguis*.

Tableau II – Pourcentage d'identification correcte selon la technique utilisée (effectif ≥ 10 utilisateurs).

Automates ou galeries commercialisés *	<i>T. otitidis</i> / <i>C. auris</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>P. dagmatis</i>	<i>S. oralis</i>
VITEK 2	5/11 (45%)	11/14 (79%)	1/27 (4%)	28/31 (90%)
VITEK		35/41 (85%)	2/49 (4%)	
API 20 E		50/71 (70%)	3/103 (3%)	
API rapid ID 32 E		66/86 (77%)	2/103 (2%)	
API 20 NE		172/217 (79%)	4/140 (3%)	
API 32 GN		92/127 (72%)	1/19 (5%)	
API NH		0/19 (0%)	6/108 (6%)	
API CORYNE	383/473 (81%)	3/16 (19%)		
API 20 STREP				109/169 (64%)
API rapid ID 32 STREP				179/209 (86%)
MICROSCAN			1/10 (10%)	
pas de galerie **	53/229 (23%)	6/42 (14%)	5/73 (7%)	9/205 (4%)

* : les techniques citées par moins de 10 participants ne figurent pas dans ce tableau (PHOENIX et galerie BBL CRYSTAL de Becton Dickinson, API ZYM, ARN 16S)

** : "pas de galerie" = identification traditionnelle dichotomique avec choix personnel des caractères étudiés.

Commentaires

1 - *Turicella otitidis*

Le genre *Turicella* de description récente (1994) comprend une seule espèce : *T. otitidis*, bactérie corynéforme ne possédant pas d'acides mycoliques à la différence des bactéries du genre *Corynebacterium*.

T. otitidis comme *Corynebacterium auris* (espèce très voisine) peut être normalement présent dans l'oreille mais aussi être impliqué dans l'otite moyenne aiguë. En terme de prévalence, ces bactéries occupent le troisième rang avec *Moraxella catarrhalis* après *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* dans les otites du jeune enfant.

Cette bactérie proposée pour la première fois dans le cadre du CNQ a été identifiée précisément par 22% des participants (tableau I). Toutefois, les réponses « *Corynebacterium auris* » (3%) et « *C.auris* /*T.otitidis* » (32%) ont été considérées comme correctes car il n'existe pas de système miniaturisé d'identification (galerie ou automate) permettant de distinguer ces deux espèces. C'est le cas de la galerie API Coryne BioMérieux très largement utilisée pour l'identification de cette souche qui a conduit à 81% d'identifications correctes (tableau II) et qui devait être complétée par d'autres caractères simples. En effet, *T. otitidis* se différencie de *C. auris* et d'une autre espèce proche, *Corynebacterium afermentans*, d'après la morphologie des colonies et des bacilles comme indiqué ci-dessous :

	Forme colonie	Couleur colonie	Aspect colonie	bacilles
<i>T. otitidis</i>	bombée	mastic	lisse	longs
<i>C. auris</i>	bombée	mastic	rugueuse adhérente	courts
<i>C. afermentans</i>	plate	grise	lisse	courts

A propos de ces trois espèces, on peut se reporter à la revue générale sur les corynébactéries de G. Funke (1).

Les principaux caractères d'identification de *Turicella otitidis* sont rassemblés dans le cadre ci-dessous :

Caractères d'identification de *Turicella otitidis*

- croissance sur gélose au sang à 37°C.
- colonies rondes, bombées, lisses et petites en 24 h, blanchâtres, non hémolytiques.
- bacilles irréguliers non sporulés à Gram positif, en paires et en forme de lettre V.
- **catalase (+)**, anaérobie facultatif.
- n'hydrolyse pas l'esculine et la gélatine.
- nitrate réductase et uréase (-).
- **phosphatase alcaline** et **pyrazinamidase (+)**.
- ne fermente aucun sucre.
- **CAMP test (+)**.

On notera que la présence d'une DNase est variable chez cette espèce. La souche envoyée, comme la souche type de référence de la CIP, *T. otitidis* 104075T, ne possède pas cette enzyme.

2 - *Vibrio alginolyticus*

Vibrio alginolyticus proposé pour la première fois dans le cadre du CNQ a été correctement identifié quant au genre et à l'espèce par respectivement 63 et 59% des laboratoires participants (tableau I).

Les meilleurs scores d'identification (de 79 à 85%) sont enregistrés avec les deux automates VITEK et la galerie API 20 NE (tableau II). Cette dernière doit être inoculée avec une suspension dense (5 Mc Farland) en eau physiologique et incubée à 30°C.

Cette bactérie qui est un bacille à Gram négatif, mobile et oxydase (+) a été confondue avec d'autres bactéries possédant ces mêmes caractères comme *Aeromonas* et *Pseudomonas* qui représentent près de 12 % des réponses fausses de genre. On note par ailleurs un total de 7% de réponses fausses correspondant aux genres *Moraxella* et *Haemophilus* (bactéries certes largement responsables d'otites mais différentes des *Vibrio* par la morphologie, l'absence de mobilité et les caractères culturels). Enfin, 5% des laboratoires ont rendu « absence de culture » (sans doute parce que *V. alginolyticus* ne se développe pas à 37°C).

V. alginolyticus est une espèce halophile très répandue dans la mer qui peut être occasionnellement isolée dans des pus d'otites, des infections de plaies ou d'ulcères, des infections oculaires après contact avec le milieu marin (2).

Les principaux caractères d'identification de *Vibrio alginolyticus* sont rassemblés dans le cadre ci-dessous :

Caractères d'identification de *Vibrio alginolyticus*

- croissance à 20-30°C sur gélose nutritive avec NaCl (bactérie halophile).
- colonies rondes, transparentes.
- bacilles droits, **mobiles** à Gram négatif.
- **oxydase (+)**, anaérobie facultatif.
- LDC (+), ADH (-), ONPG (-) et VP(+).
- nitrate réductase (+) et uréase (-).
- hydrolyse la gélatine.
- fermente le mannitol et le saccharose mais pas l'arabinose.

3 - *Pasteurella dagmatis*

Alors que 70 % des participants ont identifié le genre *Pasteurella*, seulement 5% sont parvenus au diagnostic d'espèce *P. dagmatis* (tableau I). Ces résultats sont à comparer aux scores obtenus (52% et 48% respectivement pour le genre et l'espèce) lors de l'envoi précédent d'une autre pasteurelle, *P. multocida*, en 1998.

Pasteurella dagmatis, proposée pour la première fois dans le cadre du CNQ est une espèce difficile à identifier. En effet, elle ne figure dans aucune base de données des systèmes d'identification commercialisés. Par ailleurs, la souche envoyée apparaissait urée (-), sur la plupart des galeries alors qu'elle était urée (+) en 1 heure en tube urée indole (technique conventionnelle). Ceci est peut-être à l'origine de la confusion avec *P. multocida* (41% des réponses). *Pasteurella dagmatis* se différencie de *P. multocida* par les caractères suivants : urée (+), ODC (-), mannitol (-) et maltose (+).

La galerie API 20 E devait être inoculée avec une suspension dense et additionnée d'extrait globulaire ou de levure.

On notera que l'étude de quelques caractères majeurs de cette pasteurelle [urée (+), indole (+), saccharose (+) et maltose (+)] était singulièrement plus rapide (2 heures) et précise avec une galerie API NH qui n'est cependant pas destinée au genre *Pasteurella*.

Un fait encourageant est à signaler, le pourcentage de réponses fausses de genre *Haemophilus* qui était de 40% en 1998 passe à 14% cette fois en 2004. Rappelons que les pasteurelles peuvent se développer sur gélose non enrichie alors que les *Haemophilus* exigent les facteurs de croissance X et/ou V. Les participants ayant répondu à tort *Haemophilus* n'ont sans doute pas vérifié ou pris en compte le fait que la souche pouvait croître correctement sur une gélose au sang frais (milieu dépourvu des facteurs X et V).

Le contexte clinique annoncé pour la pasteurelle proposée est un exemple de pasteurellose d'inoculation (3) (4). *Pasteurella multocida* est majoritairement impliquée dans ce type d'infection, mais d'autres espèces peuvent être mises en cause comme *P. canis*, *P. dagmatis* et *P. stomatis*.

Les caractères phénotypiques permettant le diagnostic différentiel de ces quatre espèces majeures du genre *Pasteurella* sont rappelés dans le tableau III :

Tableau III – Diagnostic différentiel

	<i>P. multocida</i>	<i>P. canis</i>	<i>P. dagmatis</i>	<i>P. stomatis</i>
Urée	-	-	+	-
Indole	+	v *	+	+
ODC	+	+	-	-
Maltose	-	-	+	-
Mannitol	+	-	-	-

* : v = variable

Les principaux caractères d'identification de *Pasteurella dagmatis* sont rassemblés dans le cadre ci-dessous :

Caractères d'identification de *Pasteurella dagmatis*

- croissance sur gélose ordinaire à 37°C, favorisée sur gélose au sang et sous CO₂
- petites colonies de 1-2 mm de diamètre, rondes, lisses, non hémolytiques.
- petits coccobacilles à Gram négatif, isolés, en paires ou en courtes chaînettes, immobiles.
- aérobic anaérobic facultatif, **oxydase (+)**.
- nitrate réductase (+), gélatinase (-), **uréase (+), indole (+)**.
- ODC (-), ONPG (-).
- fermente le galactose, le maltose, le saccharose mais pas l'arabinose ni le mannitol.

4 - Streptococcus oralis

L'ensemble des laboratoires (95%) a identifié un streptocoque mais seul un sur deux (51%) a précisément identifié *S. oralis*, proposé pour la première fois dans le cadre du CNQ (tableau I). On enregistre aussi 16% de réponses : *Streptococcus mitis* et *Streptococcus sanguis* qui sont des espèces très voisines de *S. oralis* et qui ont été par conséquent considérées comme des réponses correctes. Ces trois espèces avec *Streptococcus gordonii* et *Streptococcus parasanguis* constituent le sous-ensemble Or1 des streptocoques oraux. Les streptocoques Or1 sont des commensaux de l'oropharynx de l'homme. Ils sont responsables de bactériémies et d'endocardites, souvent à la suite de soins dentaires .

Les meilleures performances sont obtenues avec le système VITEK 2 (90%) et la galerie API rapid ID 32 STREP (86%) (tableau II) qui réalisent un grand nombre de tests indispensables pour identifier cette espèce.

Les principaux caractères d'identification de *Streptococcus oralis* sont rassemblés dans le cadre ci-dessous :

Caractères d'identification de *Streptococcus oralis*

- croissance sur gélose au sang, favorisée en anaérobiose ou sous CO₂.
- pas d'odeur de caramel de la culture [propre aux streptocoques oraux du groupe milleri (Or5)].
- petites colonies non pigmentées α-hémolytiques ou non hémolytiques.
- cocci à Gram positif groupés par deux ou en chaînettes, immobiles.
- catalase et oxydase négatives , **non groupable**.
- ADH (-), esculine (-), VP (-).
- PYRase (-).
- β-galactosidase (+) avec substrat β-GAL , β-glucosidase (-), β-mannosidase (-).
- production extracellulaire de glucanes (polysaccharides) à partir de saccharose.
- **sensible aux glycopeptides**

La distinction phénotypique entre *S. mitis* et *S. oralis* est très difficile.

- S. mitis* :
- non groupable ou possédant l'antigène K ou O de Lancefield.
 - ne produit pas de polysaccharides .

Bibliographie

- (1) FUNKE G. et al. Clinical Microbiology of Coryneform Bacteria. Clin Microbiol Rev, 1997; 10 : 125-159
- (2) HANSEN W. Vibrio. Précis de bactériologie clinique. 2000 (éd. ESKA), 1331-1348.
- (3) GAUTIER-LERESTIF A.-L. et coll. Le diagnostic, le traitement et la prévention des pasteurelloses humaines. Ann Biol Clin, 2003 ; 61 : 15-21.
- (4) ESCANDE F. Les Pasteurella. Annales du contrôle national de qualité, 2000 ; 22 : 14-16.

Antibiogramme

Définition des échantillons

En ce qui concerne l'antibiogramme, il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche qu'ils avaient identifiée (*T. otitidis*, *V. alginolyticus*, *P. dagmatis*, *S. oralis*) vis-à-vis de sept antibiotiques au maximum choisis sur une liste de 60 antibiotiques jointe aux échantillons. 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 A. PHILIPPON, Paris et Dr G. PAUL, Paris - obtenus pour chacune de ces quatre souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques BIORAD) et sur l'automate VITEK 2 (BIOMERIEUX) sont présentés dans les tableaux IV à VII. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test.

Tableau IV -*Turicella otitidis*

Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Pénicilline G	S	S
Amoxicilline	S	S
Amoxicilline + ac. clav.	S	S
Céfalotine	S	S
Céfuroxime	S	S
Céfotaxime	S	S
Gentamicine	S	S
Tobramycine	S	S
Amikacine	S	S
Erythromycine	S	S
Pristinamycine	S	S
Lincomycine	S	S
Tétracycline	S	S
Minocycline	S	S
Cotrimoxazole	S/I	-
Ofloxacin	S	S
Ciprofloxacine	S	S
Vancomycine	S	S
Teicoplanine	S	S
Acide fusidique	S	S
Rifampicine	S	S
Fosfomycine	R	R

Tableau V -*Vibrio alginolyticus*

Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Amoxicilline	R	R
Amoxicilline + ac. clav.	S/I	-
Ticarcilline	R	R
Ticarcilline + ac. clav.	S	-
Pipéracilline + tazobactam	S	-
Céfalotine	S/I	I
Céfotaxime	S	S
Ceftazidime	S	S
Imipénème	S	S
Gentamicine	S	S
Tobramycine	S	S
Amikacine	S	S
Tétracycline	S	S
Minocycline	S	S
Cotrimoxazole	S	S
Acide nalidixique	S	-
Ofloxacin	S	S
Ciprofloxacine	S	S
Colistine	S	S
Fosfomycine	S	-
Souche Pénicillinase +		

Tableau VI -*Pasteurella dagmatis*

Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Pénicilline G	S	S
Amoxicilline	S	S
Amoxicilline + ac. clav.	S	S
Céfalotine	S	S
Céfuroxime	S	S
Céfotaxime	S	S
Imipénème	S	S
Gentamicine	S	S
Amikacine	S	S
Erythromycine	S/I	-
Pristinamycine	S	-
Lincomycine	R	-
Tétracycline	S	S
Minocycline	S	S
Cotrimoxazole	S	S
Ofloxacin	S	S
Ciprofloxacine	S	S
Rifampicine	S	S
Chloramphénicol	S	S

Tableau VII -*Streptococcus oralis*

Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Oxacilline	R (1)	-
Pénicilline G	(2)	I
Ampicilline	(2)	I
Amoxicilline	(2)	I
Céfotaxime	(2)	I
Gentamicine HC	S	I (3)
Kanamycine HC	S	I (3)
Streptomycine	S	I (3)
Erythromycine	R	R
Pristinamycine	S/I	I
Lincomycine	R	R
Tétracycline	S (4)	-
Cotrimoxazole	S/I	-
Vancomycine	S	S
Teicoplanine	S	S
Rifampicine	S	S
(1) : OXA-5µg = 11 mm (< 21 mm) : souche de sensibilité diminuée à la pénicilline G		
(2) : CMI pénicilline G = 8 mg/l, CMI ampicilline = CMI amoxicilline = 8 mg/l, CMI céfotaxime = 6 mg/l		
(3) : résistance naturelle de bas niveau (BNR). Synergie bactéricide possible avec une pénicilline ou un glycopeptide		
(4) : sensibilité limite		

Résultats des participants

Les résultats obtenus, tous réactifs confondus, par les laboratoires participants sont détaillés pour chacune des quatre souches dans les tableaux VIII à XI.

Pour chaque antibiotique testé par les experts, la réponse attendue apparaît en gras.

Tableau VIII – *Turicella otitidis*

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
pénicilline G	392	97,7	0,8	1,5	391	96,7	1	2,3
ampicilline	231	98,7	1,3		231	97,8	1,3	0,9
amoxicilline	227	98,2	0,5	1,3	221	98,2	0,5	1,3
amoxicilline + ac clav.	192	99,5	0,5		190	99,5		0,5
cefalotine	177	100			175	98,9	1,1	
oxacilline	100	93	1	6	102	92,2		7,8
cefotaxime	89	98,9	1,1		86	98,8	1,2	
céfuroxime	82	100			81	98,8	1,2	
ceftriaxone	44	100			44	97,7		2,3
gentamicine	247	96,8	3,2		239	96,7	2,5	0,8
tobramycine	63	100			62	100		
kanamycine	63	90,5	7,9	1,6	60	91,7	6,7	1,6
gentamicine HC	53	69,8	28,3	1,9	52	69,2	30,8	
amikacine	20	90	5	5	20	90	5	5
érythromycine	500	65,7	6,4	27,9	493	65,7	4,5	29,8
pristinamycine	191	100			188	100		
lincomycine	143	81,2	2,8	16	144	81,2	2,8	16
étracycline	344	99,7		0,3	340	99,7		0,3
minocycline	49	100			50	100		
cotrimoxazole	294	26,2	28,9	44,9	287	26,1	23,7	50,2
riméthoprime	38	39,4	10,6	50	36	38,9	8,3	52,8
péfloxacine	133	35,4	54,1	10,5	132	34,9	42,4	22,7
ciprofloxacine	72	91,6	5,6	2,8	71	91,6	5,6	2,8
ofloxacine	67	91	7,5	1,5	66	89,5	6	4,5
vancomycine	306	99,7	0,3		306	99,7	0,3	
teicoplanine	65	100			65	100		
ac fusidique	45	88,9	4,4	6,7	45	86,7		13,3
rifampicine	294	100			293	100		
fosfomycine	108	10,2	0,9	88,9	108	11,1	0,9	88

Tableau IX – *Vibrio alginolyticus*

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
amoxicilline + ac clav.	326	79,4	8,9	11,7	323	78,7	6,1	15,2
amoxicilline	247	4,9	8,1	87	246	4,5	3,7	91,9
ticarcilline	190	5,3	5,8	88,9	190	5,3	3,7	91,1
cefalotine	159	64,8	8,8	26,4	157	60,5	8,3	31,2
cefotaxime	156	99,4	0,6		155	99,4	0,6	
ceftazidime	130	99,2		0,8	128	99,2		0,8
ampicilline	126	7,9	2,4	89,7	123	8,2	0,8	91
imipénème	106	97,2	0,9	1,9	105	98	1	1
ticarcilline + ac clav.	71	71,8	1,4	26,8	71	73,2	1,4	25,4
cefoxitine	64	96,8	1,6	1,6	64	95,3	1,6	3,1
céfépime	58	100			58	100		

ceftriaxone	47	100			45	100		
cefixime	46	95,7		4,3	46	95,7		4,3
pipéracilline	36	44,4	2,8	52,8	36	44,4	2,8	52,8
pipéracilline + tazo	37	100			37	100		
gentamicine	294	98	1,4	0,6	289	97,9	0,7	1,4
tobramycine	123	98,4	0,8	0,8	121	98,3		1,7
amikacine	121	100			118	100		
netilmicine	70	100			67	100		
gentamicine HC	33	97	3		33	97		3
tétracycline	96	99		1	93	99		1
cotrimoxazole	383	98,7	0,3	1	375	98,4	0,3	1,3
triméthopriime	30	96,7		3,3	30	83,3		16,7
ciprofloxacine	262	99,2	0,8		258	99,2	0,4	0,4
péfloxacine	179	99,4	0,6		178	99,4	0,6	
ofloxacine	111	100			110	100		
ac. nalidixique	73	95,9		4,1	72	95,8		4,2
norfloxacine	33	93,9		6,1	32	93,8		6,2
colistine	52	86,5		13,5	52	86,5		13,5
fosfomycine	43	100			43	100		

Tableau X – *Pasteurella dagmatis*

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
amoxicilline + ac clav.	489	98,8	0,6	0,6	483	98,6	0,4	1
amoxicilline	379	96,3	1,8	1,8	369	95,7	1,1	3,3
cefalotine	339	98,5	0,6	0,9	330	97	0,9	2,1
ampicilline	292	95,9	0,7	3,4	288	93,8	0,7	5,6
cefotaxime	286	99,7		0,3	280	99,6		0,4
ticarcilline	96	99	1		96	99	1	
ceftazidime	76	99,7		0,3	76	99,7		0,3
pénicilline G	75	84	8	8	75	82,7	6,6	10,7
ceftriaxone	67	100			67	100		
imipénème	62	100			62	100		
cefoxitine	53	100			53	100		
cefixime	51	94,1	3,9	2	51	94,1	3,9	2
céfuroxime	40	100			40	100		
gentamicine	254	74,8	8,7	16,5	251	72,1	8,4	19,5
tobramycine	79	65,8	5,1	29,1	77	66,2	3,9	29,8
amikacine	71	81,7	4,2	14,1	71	76	8,5	14,5
netilmicine	39	89,8		10,2	39	89,8		10,2
gentamicine HC	38	73,7	13,2	13,2	35	71,4	11,4	11,4
érythromycine	130	79,2	15,4	5,4	129	76,7	15,5	7,8
pristinamycine	29	93,2	3,4	3,4	28	92,9		7,1
lincomycine	24	8,3	4,2	87,5	24	8,3	4,2	87,5
tétracycline	351	99,1	0,3	0,6	351	99,1	0,3	0,6
minocycline	50	100			50	100		
cotrimoxazole	447	95,3	1,3	3,4	439	95,4	0,5	4,1
triméthopriime	47	93,6	4,3	2,1	46	95,8	2,1	2,1
péfloxacine	229	99,6		0,4	229	99,6		0,4
ciprofloxacine	224	98,2	0,9	0,9	219	98,2	0,9	0,9
ofloxacine	203	100			203	100		
ac. nalidixique	49	89,8		10,2	47	91,5		8,5
norfloxacine	43	100			43	100		
fosfomycine	27	100			27	100		

chloramphénicol	102	100			102	100		
rifampicine	116	96,6	3,4		112	98,2	1,8	

Tableau XI – *Streptococcus oralis*

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
oxacilline	97	5,2	2,1	92,8	91	4,4	1,1	94,5
pénicilline G	578	2,6	77,3	20,1	566	2,7	62,5	34,8
ampicilline	443	39,1	56,2	4,7	430	38,3	49,1	12,6
cefalotine	162	35,2	54,3	10,5	160	26,9	53,1	20
amoxicilline	160	35,6	48,8	15,6	161	27,3	46	26,7
céfuroxime	149	4,7	4	91,3	148	4	3,4	92,6
cefotaxime	75	40	41,3	18,7	73	34,2	42,5	23,3
amoxicilline+ac clav.	48	72,9	22,9	4,2	47	72,4	19,1	8,5
gentamicine HC	405	38,4	55,1	4	381	28,6	50,7	13,1
gentamicine	112	9,8	60,7	27,7	106	5,6	53,8	36,8
kanamycine HC	111	33,3	62,2	2,7	103	22,3	59,2	8,7
streptomycine	62	20,9	69,4	9,7	61	14,8	65,6	18
kanamycine	37	24,3	62,2	10,8	35	22,8	48,6	22,9
érythromycine	603	2,2	1	96,8	593	2	0,8	97,1
lincomycine	173	4	2,9	93,1	169	3,6	1,8	94,7
pristinamycine	88	73,9	18,2	8	87	73,6	11,5	13,8
tétracycline	304	59,2	4,3	36,5	297	58,9	3,7	37,4
cotrimoxazole	244	42,3	43,4	14,3	243	42	39,9	18,1
vancomycine	691	99,6	0,1	0,3	682	99,6	0,1	0,3
teicoplanine	410	99,8	0,2		404	99,8		0,2
nitrofuranes	94	89,4	1,1	9,6	92	90,2	1,1	8,7
rifampicine	506	99,6	0,4		497	99,6	0,4	

Commentaires

Les quatre espèces bactériennes étudiées (*Turicella otitidis*, *Vibrio alginolyticus*, *Pasteurella dagmatis*, *Streptococcus oralis*) présentent au moins deux particularités : d'une part, elles sont rarement isolées en pratique médicale, à l'exception de *Streptococcus oralis* et d'autre part, elles sont plus ou moins exigeantes quant à leurs besoins nutritifs d'où des croissances plus ou moins rapides (à noter la présence d'une espèce halophile : *V. alginolyticus*). Sur un plan technique, à l'exception du streptocoque, aucune recommandation particulière n'a été proposée par le CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme - Société Française de Microbiologie) pour la réalisation et l'interprétation de l'antibiogramme de ces 4 espèces, même dans le dernier communiqué de 2006 téléchargeable à partir du site de la Société Française de Microbiologie (<http://www.sfm.asso.fr/>). De plus, une recherche bibliographique sur le site américain (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) a généré peu de références bibliographiques soit en nombre total, soit en sensibilité *in vitro* («nom d'espèce» AND «in vitro susceptibility») :

Espèce	Total	"In vitro susceptibility"
<i>Pasteurella dagmatis</i>	19	1
<i>Streptococcus oralis</i>	314	2
<i>Turicella otitidis</i>	27	1
<i>Vibrio alginolyticus</i>	35	2

Aussi, peu de commentaires apparaissent utiles à communiquer aux biologistes à cause de la grande sensibilité à de nombreux antibiotiques des espèces examinées, en particulier *T. otitidis* et *P. dagmatis*.

1 - *Turicella otitidis*

La souche *T. otitidis* distribuée présentait le phénotype habituellement rapporté avec sa résistance naturelle à l'égard de la fosfomycine détectée par près de 90% des participants et une sensibilité modérée vis-à-vis des sulfamides et de l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole). Pour cette dernière, les résultats des participants sont discordants (26,2% « S », 28,9% « I » et 44,9% « R ») et un effet lié à la méthode utilisée est observé ($p=0,02$, Chi-2), notamment entre la méthode de diffusion sur gélose et les galeries semi-liquides ATB API bioMérieux (tableau XII). Il faut rappeler que le disque de cotrimoxazole doit être testé sur une gélose au sang laqué (lysé) et non sur sang frais, sinon la souche apparaît faussement résistante à cet antibiotique.

Tableau XII- Cotrimoxazole / pourcentages de réponses par catégorie clinique selon la méthode utilisée

Méthode (effectif)	S (%)	I (%)	R (%)
Diffusion (68)	14,7	11,7	73,5
ATB API (205)	28,3	36,6	35,1

En ce qui concerne l'érythromycine, on observe de l'ordre de 66% de réponses correctes "S" et 28% de réponses "R". Toutefois, il n'y a pas d'effet lié à la méthode comme rapporté ci-dessus pour les deux méthodes les plus utilisées (diffusion sur gélose et galerie) (tableau XIII). La seule hypothèse pour expliquer la résistance serait liée à une incubation non conforme (macrolide altéré sous CO₂) :

Tableau XIII- Erythromycine / pourcentages de réponses par catégorie clinique selon la méthode utilisée

Méthode (effectif)	S (%)	I (%)	R (%)
Diffusion (150)	68,6	8,7	22,7
ATB API (306)	63,1	4,6	32,4

En conclusion, peu de travaux sont actuellement rapportés concernant la sensibilité de cette espèce aux antibiotiques. Néanmoins, le travail de Funke G. et coll en 1996 (1) sur la sensibilité de 146 souches de *T. otitidis* (CMI, mg/L) déterminée par la méthode de diffusion en milieu solide (Mueller-Hinton supplémenté avec 5% de sang de mouton) et lecture après 24 h d'incubation en atmosphère ambiante reste primordial et peut être consulté à l'adresse suivante : <http://aac.asm.org/cgi/content/abstract/40/12/2874>. Le tableau regroupant les CMI 50 et 90% de 16 antibiotiques vis-à-vis de cette espèce, extrait de cette publication est reproduit ci-dessous :

Antimicrobial agent	µMIC Range	MIC 50%	MIC90%
Amoxicillin-clavulanic acid	≤0.03	≤0.03	≤0.03
Ampicillin	≤0.03	≤0.03	≤0.03
Ceftriaxone	≤0.03–0.25	0.125	0.25
Cefuroxime sodium	≤0.03–0.125	0.06	0.125
Cephalothin	≤0.03	≤0.03	≤0.03
Chloramphenicol	0.25–2	1	2
Ciprofloxacin	0.06–0.25	0.125	0.125
Clindamycin	≤0.03–>64	0.125	32
Erythromycin	≤0.03–>64	≤0.03	>64
Gentamicin	≤0.03	≤0.03	≤0.03
Imipenem	≤0.03	≤0.03	≤0.03
Oxacillin	≤0.03–0.5	0.125	0.25
Penicillin G	≤0.03	≤0.03	≤0.03
Rifampin	≤0.03	≤0.03	≤0.03
Teicoplanin	0.125–1	0.25	0.5
Tetracycline	≤0.03–1	0.25	0.25
Vancomycin	0.125–0.5	0.25	0.5

2 - *Pasteurella dagmatis*

Cette souche était très sensible (phénotype sauvage) à divers antibiotiques, en particulier aux β -lactamines dont la pénicilline G, *a posteriori* aux aminopénicillines associées ou non à l'acide clavulanique, aux céphalosporines, aux tétracyclines, aux fluoroquinolones ou encore aux sulfamides et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole). L'étude des fréquences de sensibilité rendues par les biologistes en fonction de la méthode utilisée (diffusion, semi-automatisée, automatisée) ont été majoritairement en conformité avec la réponse proposée par les experts (tableau X). Aucune différence significative n'est apparue liée à la méthode utilisée (test du Chi 2). On notera une dispersion un peu plus grande des résultats pour les aminosides et les macrolides (tableau XIV), peu actifs vis-à-vis des *Pasteurella*, au moins de *P. multocida*.

Tableau XIV- Aminosides et érythromycine : pourcentages de réponses pour l'ensemble des méthodes utilisées

Antibiotique (effectif)	S (%)	I (%)	R (%)
Gentamicine (254)	74,8	8,7	16,5
Amikacine (71)	81,7	4,2	14,1
Tobramycine (77)	65,8	5,1	29,1
Erythromycine (130)	79,2	15,4	5,4

Peu de travaux scientifiques rapportent la sensibilité de cette espèce, rarement isolée il est vrai, contrairement à *P. multocida*. Cependant, les deux articles suivants peuvent être consultés (2) (3) : <http://jcp.bmjournals.com/cgi/content/full/57/2/210>
<http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/full/48/5/641>

Le tableau regroupant les CMI 50 et 90% de 12 antibiotiques vis-à-vis de cette espèce, extrait de cette dernière publication est reproduit ci-dessous :

Antimicrobial agent	MIC Range	MIC 50%	MIC90%
<i>Pasteurella canis</i> – <i>Pasteurella dagmatis</i> group (15) ^g			
ertapenem	≤0.015–≤0.015	≤0.015	≤0.015
ticarcillin/clavulanate	≤0.015–0.125	0.06	0.06
piperacillin/tazobactam	≤0.015–≤0.015	≤0.015	≤0.015
co-amoxiclav	≤0.06–0.25	0.125	0.25
ampicillin/sulbactam	≤0.06–0.25	0.125	0.125
ceftriaxone	≤0.015–≤0.015	≤0.015	≤0.015
cefepime	≤0.015–0.125	0.03	0.03
cefotetan	≤0.06–0.25	0.125	0.125
levofloxacin	≤0.015–0.03	≤0.015	0.03
ciprofloxacin	≤0.015–≤0.015	≤0.015	≤0.015
oxacillin	0.5–4	2	4
doxycycline	0.125–0.25	0.125	0.125

3 - *Streptococcus oralis*

La troisième souche à étudier appartenait au genre *Streptococcus* et à l'espèce *S. oralis*, anciennement streptocoque du groupe *viridans*. Cette souche présentait un phénotype de résistance acquise vis-à-vis des β -lactamines et des macrolides.

La sensibilité des streptocoques à la pénicilline G est évaluée, comme pour les pneumocoques, avec un disque d'oxacilline à 5 μ g (OXA-5) par la méthode de diffusion. Selon le CA-SFM, Les critères à appliquer pour les streptocoques sont les suivants :

- diamètre OXA-5 \geq 21 mm : souche sensible à la pénicilline G. Cette interprétation est valable pour les autres β -lactamines qui incluent les streptocoques dans leur spectre d'activité.

- diamètre OXA-5 < 21 mm : souche « I » ou « R » (sensibilité diminuée) à la pénicilline G. Dans ce cas, il y a lieu de déterminer la CMI de l'ampicilline, de l'amoxicilline ou du céfotaxime.

Il s'agissait ici d'une souche de sensibilité diminuée à la pénicilline G (diamètre OXA-5 = 11 mm donc < 21 mm), catégorisée "Intermédiaire" pour cet antibiotique avec une CMI = 8 mg/l. Le mécanisme de résistance est similaire à celui, bien connu, du pneumocoque (modification d'affinité de cibles dénommées PBP ou PLP). Par conséquent, il y a modification de la sensibilité aux autres β -lactamines dont les CMI doivent être précisées. Avec des CMI respectivement égales à 8 mg/l pour l'ampicilline et l'amoxicilline et 6 mg/l pour le céfotaxime, la souche testée est également catégorisée « intermédiaire » pour ces trois β -lactamines.

La sensibilité diminuée de cette souche à la pénicilline G a été bien détectée par les laboratoires participants quelle que soit la méthode utilisée (97,3% de réponses transmises « I » ou « R ») (tableau XI). En revanche, de 27 à 38% des participants n'ont pas signalé de diminution de la sensibilité aux trois autres β -lactamines.

La résistance acquise aux β -lactamines est souvent associée à d'autres antibiotiques. D'où une attention particulière à l'égard des autres antibiotiques comme les macrolides par exemple. Ainsi, le pourcentage de bonnes réponses "R" est excellent : 96,8 % pour l'érythromycine et 93,1 % pour la lincomycine et la sensibilité limite de la pristinamycine est bien détectée (73,9 % de réponses "S" et 18,2 % de réponses "I").

Un problème de non détection de résistance acquise pouvait se poser pour les tétracyclines. Chez cette espèce, lors de résistances acquises aux β -lactamines et aux macrolides, il convient d'évoquer une résistance aux tétracyclines de type TET M dont l'expression phénotypique est souvent faible. Seule la recherche du gène de résistance correspondant par PCR permettrait de trancher. Comme cette famille d'antibiotiques avait un intérêt thérapeutique limité, nous avons préféré indiquer « sensibilité limite » et ne pas transmettre de résultats.

Comme tous les streptocoques, la souche testée présentait une résistance naturelle de bas niveau (BNR) aux aminosides. Il convenait de tester des disques fortement chargés en kanamycine (kanamycine HC, 1000 μ g) et en gentamicine (gentamicine HC, 500 μ g) afin de détecter une éventuelle résistance acquise de haut niveau (HNR). Plus d'une centaine de laboratoires (149/665) ont testé la résistance à cette famille d'antibiotiques avec des disques de concentrations insuffisantes. La réponse brute attendue "S" a été rapportée par seulement 33,3 et 38,4 % des biologistes, respectivement pour la kanamycine HC et la gentamicine HC tandis que le pourcentage de fausses réponses "R" a été faible : 2,7 % pour la kanamycine HC et 4 % pour la gentamicine HC (tableau XI). Il convient d'ajouter que l'association d'un aminoside avec un glycopeptide ou une pénicilline permettait d'obtenir une synergie bactéricide.

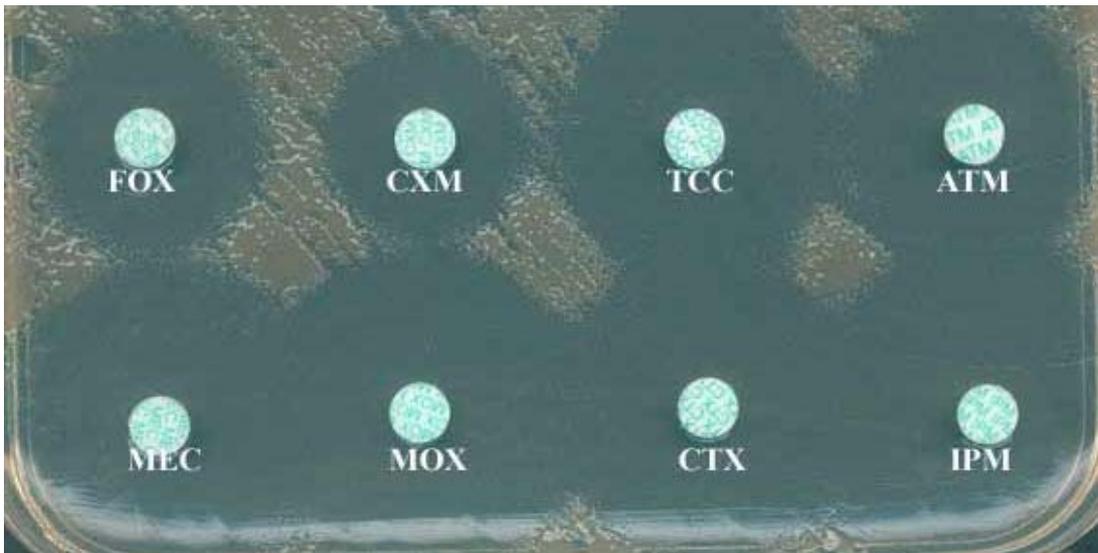
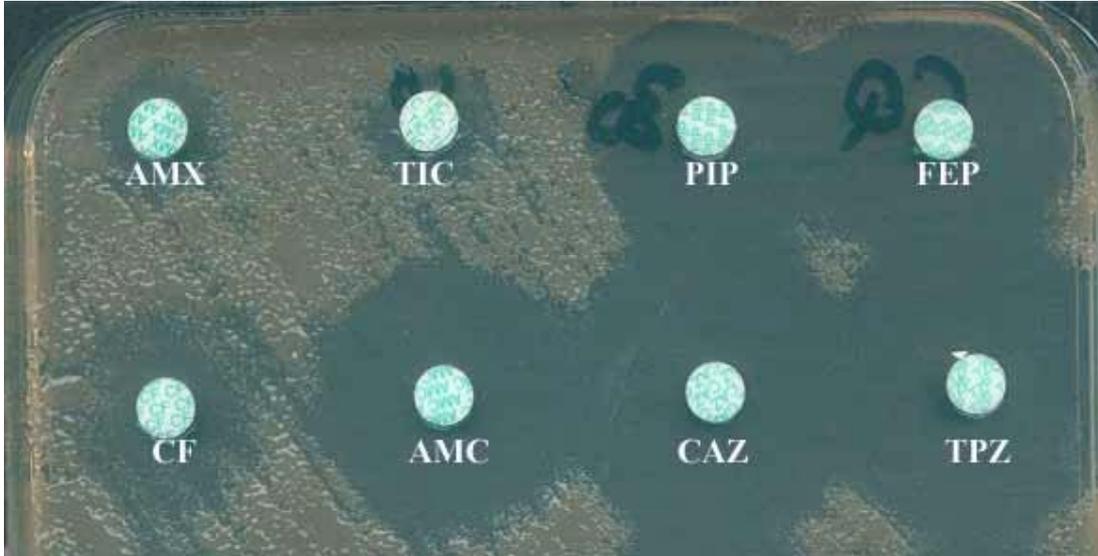
Enfin, pour l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole), dont l'intérêt thérapeutique est limité, la dispersion globale des réponses a été importante : 42,3 % « S », 43,4% « I » et 14,3 % « R ». La souche peut apparaître « I » ou « R » lorsque l'antibiogramme est réalisé par diffusion sur un milieu gélosé inapproprié (Mueller-Hinton au sang frais) au lieu d'une gélose au sang laqué. Cet effet lié à la méthode a déjà été rapporté à plusieurs reprises pour les streptocoques.

4 - *Vibrio alginolyticus*

La quatrième souche étudiée, *Vibrio alginolyticus*, présentait peu de difficulté, car sensible à de nombreux antibiotiques, même pour un bacille à Gram-négatif tellurique. La seule difficulté pouvait être la détection d'un phénotype "pénicillinase de bas niveau" ainsi que l'interprétation qui en découle, en l'absence de recommandations précises du CA-SFM. Ce phénotype est aisément détectable par la résistance aux β -lactamines suivantes : amoxicilline (AMX) (87% « R »), ampicilline (89,7% « R »), ticarcilline (TIC) (88,9 % « R ») et la synergie nette avec l'acide clavulanique illustrée par des réponses majoritairement « sensible » pour l'amoxicilline + acide clavulanique (AMC) (79,4% « S ») et la ticarcilline + acide clavulanique (TCC) (71,8% « S »). On note des résultats discordants pour la pipéracilline (PIP) (44,4% « S » et 52,8% « R ») mais 100% de réponses « S » pour l'association pipéracilline-tazobactam (PTZ). L'antibiogramme par diffusion (photo 1) montre clairement la synergie entre AMX et AMC, TIC et TCC, PIP et TZP ainsi que la sensibilité de la souche vis-à-vis de la pipéracilline. En l'absence de recommandations spécifiques du CA-SFM pour cette espèce bactérienne, il convient de répondre ce que l'on voit, ou mieux d'interpréter « I » pour la PIP ou encore la céfalotine. La présence d'une β -lactamase, non identifiée génomiquement, a déjà été rapportée pour cette espèce (4) : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed&cmd>

Pour les antibiotiques testés autres que les β -lactamines, l'interprétation était aisée en raison d'une grande sensibilité observée (photo 2). Les pourcentages de bonnes réponses "S" sont donc très élevés, quelle que soit la méthode utilisée : gentamicine (GM) (98 %), tobramycine (TM) (98,4 %), amikacine (AN) (100 %), cotrimoxazole (SXT) (98,7%), péfloxacine(PEF) (99,4 %), ciprofloxacine (CIP) (99,2 %), fosfomycine (FOS) (100%), etc.....

Photo 1 : *Vibrio alginolyticus* et β -lactamines



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 ; MEC, mécillinam ; MOX, moxalactam ; CTX, céfotaxime ; IPM, imipénème.

Photo 2 : *Vibrio alginolyticus* et antibiotiques autres que les β -lactamines



K, kanamycine ; GM, gentamicine ; TM, tobramycine ; NET, nétilmicine ; AN, amikacine ; NA, acide nalidixique ; PEF, péfloxacine ; CIP, ciprofloxacine ; TPM, triméthoprime ; SSS, sulfamides ; SXT, triméthoprime + sulfaméthoxazole ; CS, colistine ; FOS, fofomycine ; RA, rifampicine ; C, chloramphénicol ; FT, nitrofuranes.

Bibliographie

- (1) Funke G., Punter V. and A. Von Graevenitz. Antimicrobial susceptibility patterns of some recently established coryneform bacteria. AAC, 1996 ; 40 : 2874-78.
- (2) BD Ashley, M Noone, AD Dwarakanath, H. Malnick. Fatal *Pasteurella dagmatis* peritonitis and septicaemia in a patient with cirrhosis : a case report and review of the literature. J Clin Pathol. 2004; 57 : 210-212.
- (3) Ellie JC Goldstein, Diane M. Citron, C. Vreni Merriam et al. Comparative in vitro activity of ertapenem and 11 other antimicrobial agents against aerobic and anaerobic pathogens isolated from skin and soft tissue animal and human bite wound infections. J Antimicrob Chemother. 2001; 48 : 641-651.
- (4) Zanetti S., Spanu T., Deriu A., Romano L., Sechi LA., Fadda G. In vitro susceptibility of *Vibrio* spp isolated from environment. Int J Antimicrob Agents. 2001 ; 17 : 407-409.

Sérologie de la syphilis

Définition des échantillons

Un échantillon (pool de plasmas défibrinés lyophilisé) a été adressé à chacun des 2952 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 des experts Dr M. KERVELLA (Afssaps) et Dr N. BENHADDOU (Cochin, Paris) sont présentés en inverse de dilution dans le tableau XV.

Tableau XV - Sérologie de la syphilis : résultats des experts

	VDRL ^(a)			TPHA ^(b)			FTA-abs ^(c)	
	dépistage	titrage (seuil = 1)		dépistage	titrage (seuil = 80)		titrage (seuil = 200)	
		expert 1	expert 2		expert 1	expert 2	expert 1	expert 2
S1	négatif	-	-	positif	320	160	Non Testé	200
S2	négatif	-	-	négatif	-	-	Non Testé	Non Testé
S3	positif	4	16	positif	1280	1280	Non Testé	800
S4	positif	16	32	positif	1280	2560	Non Testé	1600

(a) : réactifs utilisés (expert 1 : RPR Nosticon biomérieux / expert 2 : RPR Biorad)

(b) : réactifs utilisés (expert 1 : TPHA 200 Biorad / expert 2 : test TPHA Eurobio)

(c) : Trepo-spot IF bioMérieux

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». 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 XVI. Les résultats obtenus en dépistage VDRL pour les quatre échantillons sont rassemblés dans le tableau XVII. Enfin, en ce qui concerne les deux échantillons (S3 et S4) positifs en VDRL, 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 respectivement dans les tableaux XVIII et XIX.

Tableau XVI - Réactifs utilisés en VDRL

Réactif	distributeur	Nombre utilisateurs
VDRL Charbon antigen	Abbott	35
Syfacard-R	Abbott	27
VDRL Check Charbon	All Diag	117
RPR Slide Test	Biomérieux	328
RPR Nosticon	Biomérieux	110
VDRL Charbon	Biomérieux	60
VDRL Charbon	Biomérieux(ex Biotrol)	23

Biotrolame RPR	Biomérieux(ex Biotrol)	1
RPR 100 ou 500	Bio-Rad	369
VDRL Latex	Bio-Rad	66
Syphilia VDRL	Bio-Rad	8
Antigen VDRL	Dade Behring	8
RPR Syphilis	Dako	25
Sypal CB	Diagast	199
Sypal	Diagast	132
Systemic	Diagast	1
Gast (Groupamatic)	Diagast	1
Sypaline	Diagast	1
Visualine Syphréa	Diagnosphère Biocontrol	91
VDRL Charbon	Eurobio	16
RPR Reditest	Instr.Laboratory(Biokit)	349
RPR Charbon	Elitech Diagnostic	62
RPR Carbon (Biosystems)	Mast Diagnostic	2
VDRL charbon	Oxoid	38
RPR Charbon	PBS Orgenics	8
Syphilis RPR Card Test	Randox	7
Servitex RPR 125	Servibio	158
Test Syphilis RPR	Servibio	83
Syphilis RPR	Sobioda	9
Réagine lame	Technique biologique	163
VDRL Charbon Tb	Technique biologique	158
réactif non précisé		32
TOTAL		2687

Tableau XVII - Sérologie de la syphilis : dépistage VDRL

	S1	S2	S3	S4
Nombre participants	677	677	668	661
Réponse attendue	négatif	négatif	positif	positif
Dépistage «négatif»	589 (87%)	670 (99%)	13 (1,9%)	3 (0,5%)
Dépistage «positif»	86 (12,7%)	7 (1%)	655 (98,1%)	658 (99,5%)
Dépistage «douteux»	2 (0,3%)	-	-	-

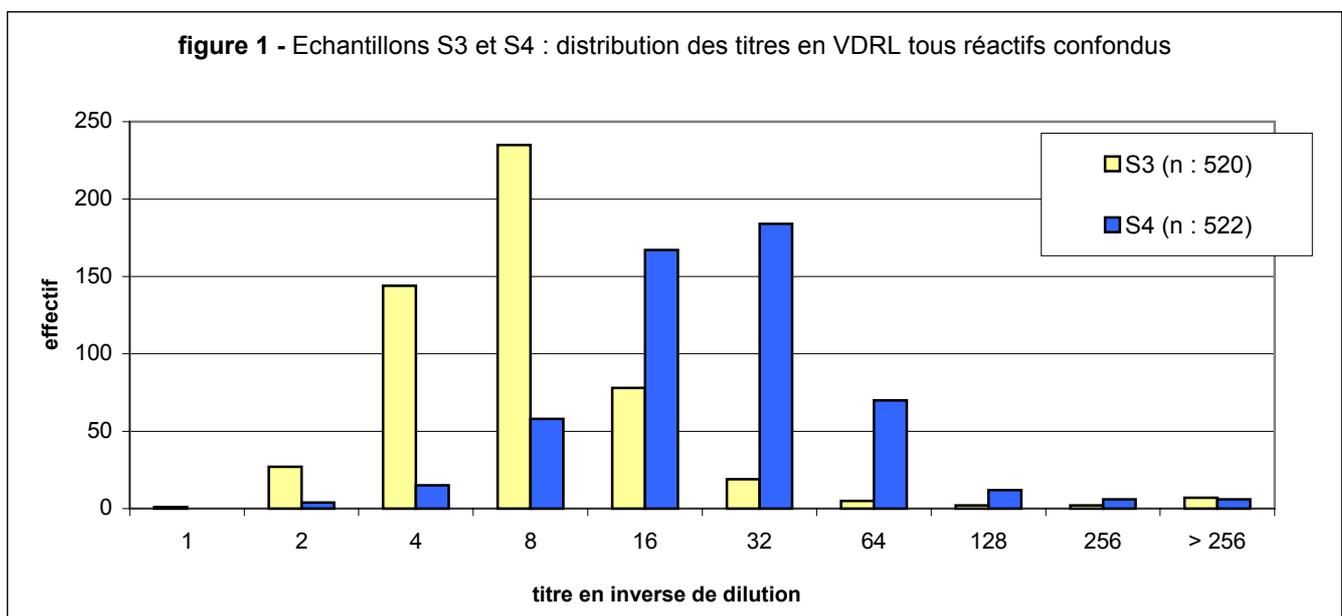


Tableau XVIII - Echantillon S3 : titres obtenus en VDRL selon le réactif utilisé (effectif > 10)

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)								% titres conformes*	
			1	2	4	8	16	32	64	> 64		
RPR Reditest	Instr.Laboratory(Biokit)	73			13	45	14				1	98,6
RPR 100 ou 500	Biorad	67	1	2	17	32	11	4				89,6
RPR Slide Test	Biomérieux	59		3	23	28	2	2			1	94,9
Réagine lame	Technique biologique	43		2	20	13	6	1			1	95,3
Servitex RPR 125	Servibio	35		5	13	13		3			1	88,6
Sypal CB	Diagast	32		1	4	17	7		1	2		87,5
VDRL Charbon Tb	Technique biologique	31		3	8	12	7				1	87,1
Sypal	Diagast	22		2	1	9	7	2			1	86,4
Visualine Syphréa	Diag. Biocontrol	17		1	3	8	4		1			88,2
Test Syphilis RPR	Servibio	17		2	5	8	1	1				94,1
RPR Nosticon	Biomérieux	16			6	4	6					**
VDRL Check Charbon	All Diag	16		2	6	7					1	93,8
VDRL Charbon	Biomérieux	16		1	3	9	1	1			1	81,3
RPR Charbon	J2L Elitech	15			6	7	2					100
VDRL Latex	Biorad	14			4	3	2	4	1			**
VDRL charbon	Oxoid	11		1	1	5	3		1			81,8
VDRL carbon Antigen	Abbott	11			2	9						100
tous réactifs confondus		520	1	27	144	235	78	19	5	11		87,9

* : titre égal au titre modal ± 1 dilution.

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

 : zone correspondant au titre modal

   : zone de conformité

Tableau XIX - Echantillon S4 : titres obtenus en VDRL selon le réactif utilisé (effectif > 10)

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)								% titres conformes*
			2	4	8	16	32	64	128	> 128	
RPR 100 ou 500	Biorad	87	1		6	40	34	4	1	1	96,6
RPR Slide Test	Biomérieux	74	2	4	8	25	29	3	1	2	87,8
RPR Reditest	Instr.Laboratory(Biokit)	59		1	5	18	22	6	5	2	86,4
Sypal CB	Diagast	44			1	6	14	22	1		97,7
Réagine lame	Technique biologique	35			2	18	10	2	2	1	91,4
Servitex RPR 125	Servibio	33		2	10	11	9	1			90,9
VDRL Charbon Tb	Technique biologique	27		1	2	4	8	10		2	81,5
Sypal	Diagast	27				4	14	9			100
Visualine Syphréa	Diagn. Biocontrol	21		1	2	7	8	1		2	85,7
RPR Nosticon	Biomérieux	17			3	3	8	3			100
VDRL Check Charbon	All Diag	12			3	4	3	2			100
Test Syphilis RPR	Servibio	11		2	3	3	2			1	90,9
RPR Charbon	J2L Elitech	11		1	1	4	5				90,9
tous réactifs confondus		522	4	15	58	167	184	70	12	12	91,8

* : titre égal au titre modal (en gras) ± 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 XX. Les résultats obtenus en dépistage TPHA pour les quatre échantillons sont rassemblés dans le tableau XXI. De plus, le pourcentage de dépistages positifs obtenus avec l'échantillon S1 en fonction du réactif employé est détaillé dans le tableau XXII. Enfin, en ce qui concerne les trois échantillons (S1, S3 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 XXIII, XXIV et XXV.

Tableau XX - Réactifs du groupe 2

Techniques / réactifs	distributeur	Nombre utilisateurs (%)
TPHA (82,9%)		
Wellcosyph-HA	Abbott	59
Sera-tek MHA-TP	Bayer Diagnostics	1
TPHA Kit	Biomérieux	29
TPHA biotrol	BioMérieux (ex Biotrol)	4
TPHA Nosticon	BioMérieux (ex Organon)	6
TPHA 200 ou 500	Bio-Rad	346
Syphilia TPHA 200	Bio-Rad	63
Cellognost TPHA	Dade Behring	17
Enzygnost syphilis	Dade Behring	1
Kit TPHA Syphilis	Dako	24
Phasyl	Diagast	270
Visualine Syphréa TP	Diagnosphère Biocontrol	97
TPHA	Elitech Diagnostic	64
Test TPHA	Eurobio	41
TPHA 200T	Eurobio	3
TPHA 200	Immunochem	2
Syphagen TPHA	Inst. Laboratory (Biokit)	355
TPHA Reditest	Inst. Laboratory (Biokit)	41
Mast TPHA	Mast Diagnostic	6
TPHA	Oxoid	39
Syphilis TPHA	Randox	12
Servitex TPHA 200	Servibio	259
Test Syphilis TPHA	Servibio	62
Syphilis TPHA	Sobioda	14
Coffret TPHA TB	Technique biologique	432
ELISA / immunochromatographie (12,1%)		
Ice Syphilis Pack	Abbott	2
Syphilitop	All Diag	274
Syphilis total Antibody EIA	Bio-rad	5
Syphicheck	Servibio	48
Agglutination sur particule (TPPA) (4,1%)		
Serodia-TP.PA	Bayer Diagnostics	11
FTA-abs (< 0,1%)		
Trepo-spot IF	Biomérieux	1
Syphix-Gam	Diagast	1
réactif non précisé (0,8%)		
	total	2712

Tableau XXI - Sérologie de la syphilis : dépistage TPHA

	S1	S2	S3	S4
Nombre participants	684	681	671	668
Réponse attendue	positif	négatif	positif	positif
Dépistage «négatif»	64 (9,3%)	679 (99,7%)	19 (2,8%)	17 (2,5%)
Dépistage «positif»	616 (90,1%)	2 (0,3%)	650 (96,9%)	647 (96,9%)
Dépistage «douteux»	4 (0,6%)	-	2 (0,3%)	4 (0,6%)

Tableau XXII - dépistage du groupe 2 / échantillon S1 : pourcentage de dépistages positifs en fonction du réactif utilisé (effectif ≥ 5)

Réactif	Distributeur	effectif	% positif
Coffret TPHA TB	Technique biologique	108	88,0
TPHA 200 ou 500	Biorad	102	96,1
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	101	98,0
Syphilitop	All Diag	70	78,6
Servitex TPHA 200	Servibio	68	92,5
Phasyl	Diagast	64	82,8
Serodia-TP-Pa	Bayer Diagnostics	28	100,0
Test Syphilis TPHA	Servibio	16	87,5
Visualine Syphréa TP	Diag. Biocontrol	15	46,7
Syphilia TPHA 200	Biorad	13	84,6
TPHA	J2L Elitech	13	92,3
Wellcosyph-HA	Abbott	13	100,0
TPHA Reditest	Instr.Laboratory(Biokit)	11	90,9
Test TPHA	Eurobio	10	100,0
Syphichек	Servibio	10	100,0
TPHA	Oxoid	9	77,8
TPHA Kit	Biomérieux	8	100,0
Syphilis TPHA	Sobioda	5	80,0
tous réactifs confondus		686	90,1

figure 2 - Echantillons S1, S3 et S4 : distribution des titres en TPHA tous réactifs confondus

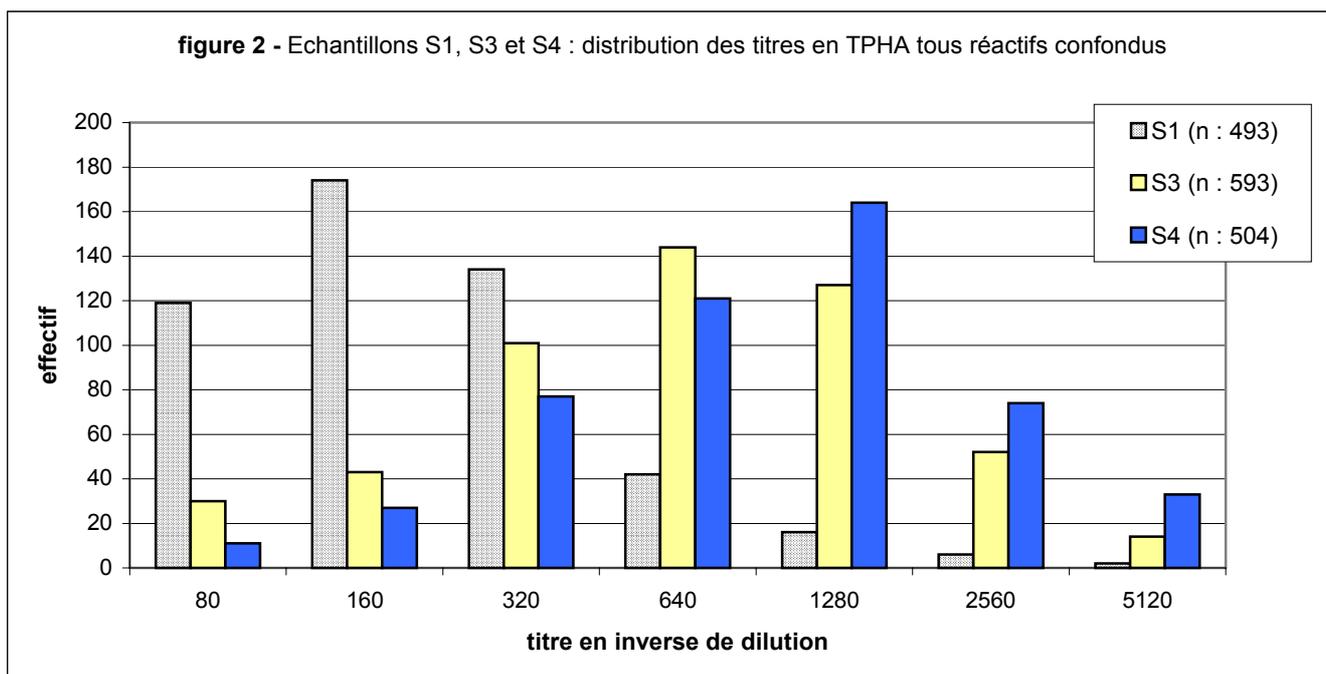


Tableau XXIII - Echantillon S1 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif ≥ 10)

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	5120	
TPHA 200 ou 500	Biorad	93	15	35	33	9			1	98,9
Coffret TPHA TB	Technique biologique	87	22	33	25	4	2		1	86,4
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	85	10	37	21	8	5	4		89,4
Servitex TPHA 200	Servibio	58	26	21	7	2	2			93,1
Phasyl	Diagast	41	16	10	11	3		1		90,2
Serodia-TP-Pa	Bayer Diagnostics	26	1	4	7	8	5	1		92,3
Test Syphilis TPHA	Servibio	10	2	3	3	1	1			90,0
Syphilia TPHA 200	Biorad	10	3	3	4					100
TPHA	J2L Elitech	10	1	4	5					100
Wellcosyph-HA	Abbott	10	2	3	4					100
tous réactifs confondus		493	119	174	134	42	16	6	2	95,1

* : titre égal au titre modal ± 1 dilution

 : zone correspondant au titre modal

   : zone de conformité

Tableau XXIV - Echantillon S3 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif ≥ 10)

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	5120	
Coffret TPHA TB	Technique biologique	111	6	4	10	34	35	18	4	87,4
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	75	1	3	19	23	19	8	2	92,0
TPHA 200 ou 500	Biorad	61	3	4	14	20	13	6	1	77,0
Servitex TPHA 200	Servibio	48	4	7	9	18	8	2		87,5
Phasyl	Diagast	40	1	10	14	6	5	4		87,5
Serodia-TP-Pa	Bayer Diagnostics	32		1	5	4	9	10	3	71,9
Visualine Syphréa TP	Diag. Biocontrol	27	6	5	3	8	5			**
Test Syphilis TPHA	Servibio	17	1	1	8	3	4			94,1
TPHA	J2L Elitech	17	4	1	3	6	2		1	**
Syphilia TPHA 200	Biorad	16	1	1	5	4	3	2		81,3
Wellcosyph-HA	Abbott	16		2	2	5	6		1	81,3
TPHA	Oxoid	10	1	1	1	1	4	1	1	70,0
TPHA Reditest	Instr.Laboratory(Biokit)	10			4	5	1			100,0
tous réactifs confondus		511	30	43	101	144	127	52	14	72,3

* : titre égal au titre modal ± 1 dilution

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

 : zone correspondant au titre modal

   : zone de conformité

Tableau XXV - Echantillon S4 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif ≥ 10)

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	5120	
Coffret TPHA TB	Technique biologique	91		7	9	18	37	12	8	83,6
TPHA 200 ou 500	Biorad	85		1	10	21	29	15	9	88,2
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	73			10	18	28	15	2	97,3
Servitex TPHA 200	Servibio	56	2	3	15	18	13	2	3	82,1
Phasyl	Diagast	53	4	10	17	11	7	2	2	92,5
Visualine Syphréa TP	Diag. Biocontrol	23	3	2	2	5	7	3	1	60,9
Serodia-TP-Pa	Bayer Diagnostics	20			1	2	7	5	5	95,0
Wellcosyph-HA	Abbott	13			2	2	6	3		100
Syphilia TPHA 200	Biorad	12	1			6	3	2		91,7
TPHA	J2L Elitech	11				6	5			100
tous réactifs confondus		507	11	27	77	121	164	74	33	96,0

* : titre égal au titre modal ± 1 dilution

 : zone correspondant au titre modal

   : zone de conformité

Commentaires

1 - Réactions du groupe 1 : antigènes cardiolipidiques non spécifiques

En ce qui concerne les échantillons S1 et S2, tous deux négatifs en VDRL, on obtient respectivement 87% de bonnes réponses pour S1 et 99% de bonnes réponses pour S2 (tableau XVII). Pourquoi cette différence ?

S2 est « VDRL négatif / TPHA négatif » et pour ce type d'échantillon les résultats sont toujours excellents ($\geq 99\%$) ; tandis que S1 est « VDRL négatif / TPHA positif », dans ce cas, on note de façon récurrente une proportion non négligeable (environ 15%) de faux positifs en VDRL. Certains laboratoires hésitent-ils à rendre un VDRL négatif lorsque le TPHA est positif ? L'analyse des pourcentages de dépistages corrects en VDRL en fonction du réactif utilisé semble confirmer cette hypothèse car elle ne permet pas de mettre en évidence un éventuel défaut de spécificité d'un réactif particulier.

En ce qui concerne les échantillons positifs S3 et S4, le titre modal de S3 (égal à 8) est légèrement inférieur à celui de S4 (égal à 16-32). Cela se traduit par un pourcentage légèrement supérieur de faux négatifs pour S3 (1,9%) par rapport à S4 (0,5%) (tableau XVII).

Le titre modal observé avec chaque réactif est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal tous réactifs confondus, ce qui conduit à un pourcentage global élevé de titres conformes : 87,9% pour S3 et 91,8% pour S4 (tableaux XVIII et XIX).

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. On note en 2004, par rapport à l'opération de contrôle précédente en 2001, une percée de l'ELISA (+ 11,9%) au détriment du TPHA plus classique (- 11,2%). Ceci est dû, en particulier, à l'apparition sur le marché du réactif Syphilitop distribué par All Diag, technique immunochromatographique de type « savonnette » simple et rapide d'emploi (tableau XX).

L'échantillon négatif S2 et les deux échantillons franchement positifs S3 et S4, avec respectivement 99,7% et 96,9% de dépistages corrects n'ont pas posé de problème (tableau XXI).

En revanche, pour l'échantillon S1 de titre plus faible, on note seulement 90,1% de dépistages corrects avec pour trois réactifs un pourcentage de dépistages positifs inférieur à 80%. Il s'agit du Syphilitop/All Diag (78,6%), du TPHA/Oxoid (77,8%) et du Visualine Syphrea/Diagnosphere Biocontrol (46,6%) dont la sensibilité semble ici mise en défaut comparativement aux autres réactifs (tableau XXII).

Quel que soit l'échantillon positif considéré, le titre modal observé avec chaque réactif est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal tous réactifs confondus, ce qui conduit à un pourcentage global élevé de titres conformes : 95,1%, 72,3% et 96% respectivement pour S1, S3 et S4 (tableaux XXIII, XXIV, XXV).

L'analyse de la distribution de fréquence des titres en fonction du réactif utilisé, pour les échantillons S1 et S4, fait apparaître une fois encore une sensibilité plus importante du TP-Pa /Bayer. En effet les titres obtenus avec ce réactif sont supérieurs d'une dilution par rapport aux TPHA classiques.