

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

**Bactériologie**

**15BAC2**

**octobre 2015**

**Identification bactérienne et antibiogramme :  
*Enterococcus faecium* VanD et *Enterococcus gallinarum*  
Sérologie de la syphilis**

**septembre 2016**

Vincent CATTOIR (Caen)  
Christophe de CHAMPS (Reims)  
Muriel FROMAGE (Ansm)  
Gérard LINA (Lyon)

Expédition : 28 octobre 2015

Clôture : 23 novembre 2015

Edition des compte-rendus individuels : 10 mars 2016

Paramètres contrôlés :

**Identification bactérienne et antibiogramme :** *Enterococcus faecium* VanD et *Enterococcus gallinarum*

**Sérologie de la syphilis**

Nombre de laboratoires concernés\* : 1078

Nombre de laboratoires participants\*\* : 1032

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

\*\* Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération

## Résumé de l'opération

Cette opération de contrôle comportait deux entérocoques pour identification et antibiogramme : *E. faecium* VanD et *E. gallinarum*.

En ce qui concerne l'identification, les résultats sont satisfaisants puisqu'on observe une nette amélioration de l'identification de l'espèce *E. faecium* avec 89% de réponses exactes, soit 25% de plus qu'en 2007. Quant à l'espèce *E. gallinarum*, moins fréquemment isolée chez l'Homme et proposée pour la 1<sup>ère</sup> fois dans le cadre du CNQ, le pourcentage de réponses correctes (87%) est très proche de celui obtenu pour *E. faecium*.

Le traitement des infections systémiques dues à ces bactéries repose sur l'association d'un antibiotique actif sur la paroi (bêta-lactamine ou glycopeptide) avec un aminoside.

Un des points importants de l'antibiogramme concernait la sensibilité aux glycopeptides. En effet, les deux souches choisies présentaient un bas niveau de résistance à la vancomycine, tout en demeurant sensibles à la teicoplanine : *E. faecium* par l'acquisition d'une résistance de type VanD (plus rare que les types VanA et VanB) et *E. gallinarum* du fait de la résistance intrinsèque de type VanC présente chez cette espèce.

Pour la souche *E. faecium*, la CMI de la vancomycine était égale à 12 mg/L et 93% des participants ont rendu la réponse attendue « R ». Pour *E. gallinarum*, la sensibilité diminuée à la vancomycine (CMI = 6-8 mg/L) était plus délicate à mettre en évidence, notamment par la méthode des disques. Néanmoins, 90% des participants ont répondu « R » car l'identification de l'espèce fait déduire la résistance naturelle à la vancomycine.

Par ailleurs, la résistance d'*E. faecium* à l'ampicilline a bien été détectée par 99,6% des LBM. Cette souche présentait également une résistance acquise de haut niveau à la gentamicine et à la kanamycine relevée par respectivement 97% et 90% des répondants.

Enfin, *E. gallinarum*, contrairement à *E. faecium* ne présentait pas de résistance acquise à l'ampicilline (97% de réponses correctes « S »), ni aux aminosides (97% et 96% de réponses correctes « RBN » respectivement pour la gentamicine et l'amikacine).

Cette opération comportait également deux échantillons lyophilisés (S1 et S2) destinés au sérodiagnostic de la syphilis. L'échantillon S1 négatif en VDRL et TPHA n'a pas posé de problème avec respectivement 99,7% et 99,6% de bonnes réponses. L'échantillon S2, attendu « positif » ou « douteux » en VDRL avec un titre égal à 1 (seuil de la technique) a conduit à 50% de dépistages négatifs, tandis que le test tréponémique (TT) attendu positif (titre en TPHA = 160-320) a conduit à 93,5% de bonnes réponses « dépistage positif », soit 2% de plus qu'en 2008 pour un échantillon identique. On note que les TT de type ELISA, TPLA et TPPA (100% positifs) sont plus sensibles, en particulier vis-à-vis des réactifs immunochromatographiques utilisés par 7% des LBM.

# Identification bactérienne

## Définition des échantillons

Bactérie (origine)	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<i>Enterococcus faecium</i> (CHU Caen, V. Cattoir)	110, 264, 281, 322, 375, 503, 637, 856.	Cette souche a été isolée à partir d'une hémoculture d'un patient de 69 ans porteur d'une bioprothèse valvulaire aortique, chez qui une endocardite infectieuse a été diagnostiquée. La porte d'entrée digestive est suspectée.
<i>Enterococcus gallinarum</i> (CHU Caen, V. Cattoir)	135, 390, 411, 528, 702, 763, 849, 994.	

## Résultats des participants

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants ainsi que les techniques d'identification utilisées pour l'identification d'un entérocoque en 2015 sont présentés dans les tableaux I et II. Les résultats obtenus lors des trois envois précédents d'une souche *E. faecium* sont rapportés dans le tableau III.

tableau I - identification des souches bactériennes : fréquence des résultats

Réponse attendue	Genre exact				Genre faux	Total identifications
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée *	Total		
<i>E. faecium</i>	409 (88,9%)	33 (7,2%) <sup>(a)</sup>	7 (1,5%)	449 (97,6%)	11 (2,4%)	460
<i>E. gallinarum</i>	402 (87,2%)	34 (7,3%) <sup>(b)</sup>	15 (3,3%)	451 (97,8%)	10 (2,2%)	461

\* : *Enterococcus sp.* ou streptocoque groupe D

(a) : dont 29 *E. gallinarum*, (b) : dont 27 *E. faecium*

tableau II - techniques utilisées (seules ou combinées) pour l'identification d'un entérocoque

<b>MALDI-TOF seul (n : 170)</b>	
Bruker	106
Vitek MS BioMérieux	49
Andromas	7
Non précisé (NP)	8
<b>MALDI-TOF + automate (n : 36)</b>	
Bruker + Vitek	13
Vitek MS + Vitek	18
Brucker + Phoenix BD	3
Bruker + Microscan Beckman Coulter	1
NP + Vitek	1
<b>MALDI-TOF + galerie biochimique (n : 6)</b>	
Bruker + API 20 Strep ou Rapid ID32 Strep	5
NP + NP	1
<b>MALDI-TOF + automate + galerie (n : 2)</b>	
Bruker + Vitek + Rapid ID32 Strep	1
Vitek MS + Vitek + API 20 Strep	1

<b>Automate seul (n : 524)</b>	
Vitek 2 Compact bioMérieux	478
Phoenix Becton Dickinson	23
MicroScan WalkAway Beckman Coulter	22
Non précisé	1
<b>Galerie biochimique seule (n : 123)</b>	
API 20 Strep BioMérieux	80
Rapid ID32 Strep BioMérieux	36
autres	7
<b>Automate + galerie (n : 34)</b>	
Vitek + Rapid ID32 Strep	13
Vitek + API 20 Strep	12
Vitek + galerie NP	2
MicroScan + API 20 Strep	4
MicroScan + Rapid ID32 Strep	2
Phoenix + API 20 Strep	1
<b>Autre * (n : 36)</b>	

\* : identification traditionnelle dichotomique avec choix personnel des caractères étudiés (ni MALDI-TOF, ni automate, ni galerie).

**tableau III** - bilan des quatre opérations de contrôle « *E. faecium* ».

Année	Effectif	Espèce exacte (%)	Espèce fausse (%)	Espèce non précisée (%)	Total genre exact (%)
2015	460	88,9	7,2	1,5	97,6
2011 (lot 1)	993	81	2	15	98
2011 (lot 2)	1010	74	8	16	98
2007	1749	64	7	23	94
1999	1797	35	10	45	90

## Commentaires

Historiquement, les streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe D étaient séparés en deux groupes : les « entérocoques » capables de croître dans des conditions hostiles (hautes et basses températures, milieux acides ou alcalins, à teneur élevée en NaCl, en sels biliaires) et les « streptocoques du groupe D non-entérocoques » incapables de se multiplier dans des conditions hostiles mais pouvant se multiplier en présence de sels biliaires. L'analyse des séquences des ARNr 16S a confirmé l'individualisation du genre *Enterococcus*. Ce genre regroupe actuellement 54 espèces.

La majorité des infections sont dues à *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* qui représentaient, en 2010, respectivement 73% et 27% des espèces rencontrées en pathologie humaine (cette répartition était de 90%/10% à la fin des années 90). Ces deux espèces occupent une place importante du fait de leur résistance naturelle et acquise aux antibiotiques, du caractère le plus souvent nosocomial des infections et de la propension qu'ont certains clones multirésistants à disséminer.

Germes commensaux de la flore digestive humaine et animale, ils colonisent également la peau et l'appareil génito-urinaire et peuvent persister plusieurs semaines sur des surfaces inertes. On les trouve le plus souvent dans les urines (infections urinaires basses et hautes), les pus d'origine digestive (péritonite, pelvi-péritonite, cholécystite) et les hémocultures (endocardites, septicémies).

Les autres espèces susceptibles d'être isolées chez l'homme sont *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus durans* et *Enterococcus hirae*.

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif, légèrement ovoïdes, groupés par deux ou en courte chaînette. Anaérobies facultatifs, ils cultivent en 24h sur milieux usuels en atmosphère aérobie ou enrichie en CO<sub>2</sub>. Sur

gélose TS au sang de mouton, les colonies sont opaques, blanchâtres,  $\alpha$ - ou non hémolytiques, de 0,5 à 1 mm de diamètre.

Ils sont, comme les streptocoques, catalase négative et ils fermentent les sucres sans production de gaz. En revanche, ils se distinguent des streptocoques par plusieurs caractères :

- croissance à 10 et 45°C, en bouillon hypersalé (6,5% NaCl), en présence de bile (40%)
- hydrolyse de l'esculine (noircissement du milieu bile-esculine),
- production de pyrrolidonyl-arylamidase (PYR +).

La plupart des entérocoques expriment l'antigène du groupe D de Lancefield et sont donc agglutinables.

La croissance sur milieu au tellurite de potassium et la fermentation du mannitol, du sorbitol et du saccharose permet d'identifier *E. faecalis* qui représente la grande majorité des entérocoques.

Quand un entérocoque est impliqué dans un processus infectieux, il est absolument nécessaire de l'identifier jusqu'à l'espèce. De plus, pour le contrôle et la prévention de la transmission croisée des souches épidémiques d'*E. faecium* résistant à la vancomycine (VRE), cette espèce doit être distinguée de façon rapide et fiable d'*E. gallinarum* et *E. casseliflavus* naturellement résistants à la vancomycine mais qui, du fait de leur faible capacité à disséminer, ne nécessitent pas les mesures d'hygiène drastiques mises en place lors de l'isolement d'un VRE. Ces deux espèces sont mobiles et les colonies d'*E. casseliflavus* sont pigmentées en jaune citron. Cependant, la mobilité n'est pas constamment mise en évidence. Dans ce cas, le test de fermentation du MDG (méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside) positif pour ces deux espèces et négatif pour *E. faecium* et *E. faecalis* (sensibilité et spécificité entre 95 et 100% selon les publications) est un bon test différentiel. Le test de fermentation rapide (2h) du D-xylose positif pour ces deux espèces est également cité.

En pratique, l'antibiogramme peut aussi aider à les distinguer car les VRE sont résistants à l'ampicilline et à l'imipénème, tandis que tous les *E. gallinarum* sont sensibles à ces deux antibiotiques. De façon simplifiée : un *E. gallinarum* ampi-R est un *E. faecium*. Un *E. faecium* ampi-S et vanco I/R est *a priori* un *E. gallinarum*.

Enfin, la biologie moléculaire et la spectrométrie de masse Maldi-Tof permettent une identification des différentes espèces d'entérocoques.

En ce qui concerne les résultats de cette opération de contrôle, on note pour *E. faecium* une nette augmentation du diagnostic exact d'espèce qui passe de 64% en 2007 à 89% en 2015 (tableau III). Parallèlement, le pourcentage d'identifications imprécises du type « *Enterococcus sp.* » ou « streptocoque du groupe D » passe de 23% à 1,5%. En revanche, la proportion d'identifications fausses au niveau de l'espèce reste stable, aux environs de 7%. Elles sont dues en majorité aux galeries API 20 Strep et rapid ID32 Strep bioMérieux.

L'espèce *E. gallinarum*, proposée pour la 1<sup>ère</sup> fois dans le cadre du CNQ a conduit à de bons scores, proches de ceux obtenus avec *E. faecium* : 87% de diagnostic exact d'espèce, 3% d'identification imprécises et 7% d'identifications erronées au niveau de l'espèce, en majorité « *E. faecium* » rendu par la galerie API 20 Strep bioMérieux. On note que les quatre réponses « *E. raffinosus* » ont été rendues par des utilisateurs de la plaque Walkaway Microscan pour GP de Beckman et les deux réponses « *E. casseliflavus* » par le Phoenix de Becton Dickinson.

## Antibiogramme

En ce qui concerne l'antibiogramme, les deux souches testées présentaient une résistance à la vancomycine. Chez les entérocoques, neuf types de résistance aux glycopeptides sont individualisés : huit résultent de l'acquisition d'un élément mobile de résistance (VanA, B, D, E, G, L, M et N) et un (VanC) est une résistance naturelle à la vancomycine présente chez *E. gallinarum* et *E. casseliflavus*. Les résistances les plus courantes sont VanA, VanB et dans une moindre mesure VanD essentiellement retrouvées chez *E. faecium* et parfois chez *E. faecalis* ainsi que la résistance naturelle VanC.

## Définition des échantillons

Les deux souches testées présentaient une résistance à la vancomycine. Pour *E. faecium*, il s'agissait d'une résistance acquise de type VanD et pour *E. gallinarum*, d'une résistance intrinsèque de type VanC.

Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 16 antibiotiques définis. Pour chaque antibiotique testé, le résultat « lu » 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.

Pour la gentamicine et la kanamycine, les laboratoires devaient également préciser le niveau de résistance de la souche testée et si une synergie bactéricide avec les glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) était possible.

En complément des résultats (S, I ou R) de l'antibiogramme, les laboratoires qui utilisent la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques) devaient rapporter les diamètres d'inhibition obtenus pour sept antibiotiques (ampicilline, imipénème, norfloxacine, vancomycine, teicoplanine, gentamicine, kanamycine), tandis que ceux qui déterminent les CMI par la méthode des bandelettes ou dilution en gélose ou micro-dilution en milieu liquide devaient préciser celles obtenues pour quatre antibiotiques (ampicilline, gentamicine, vancomycine, teicoplanine).

Les résultats des experts - Pr V. CATTOIR, Caen, Pr C. de CHAMPS, Reims et Pr G. LINA, Lyon - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans les tableaux IV et V.

**tableau IV** - antibiogramme : résultats des experts

Antibiotiques	<i>E. faecium</i> VanD		<i>E. gallinarum</i>	
	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Ampicilline	R	R	S	S
Amoxicilline	R	R	S	S
Imipénème	R	R	S	S
Erythromycine	R	R	S	S
Clindamycine	R	R	R	R *
Pristinamycine	S	S	-	-
Quinupristine+dalfopristine	S	S *	-	R *
Tétracycline	S	S	R	R
Tigécycline	S	S	S	S
Vancomycine	R	R **	I / R	R **
Teicoplanine	S	S **	S	S
Norfloxacine <sup>(a)</sup>	R	R	S	S
Lévofloxacine	R	R	S / I	S / I ***
Cotrimoxazole	R	R	S / I	I ****
Linézolide	S	S	S	S
Chloramphénicol	S	S	S	S

(a) : un disque de norfloxacine (10 µg) peut être utilisé pour le dépistage de la résistance aux fluoroquinolones

***E. faecium* :**

\* CMI quinupristine/dalfopristine (E-test) 0,5-0,75 mg/L

\*\* : génotype *vanD*

***E. gallinarum* :**

\* *E. gallinarum* est naturellement résistant aux lincosamides et à l'association quinupristine-dalfopristine (absence de concentrations et de diamètres critiques pour la pristinamycine et l'association quinupristine-dalfopristine)

\*\* : l'espèce *E. gallinarum* présente une résistance de bas niveau à la vancomycine (VanC)

\*\*\* : CMI = 2mg/L => catégorisée « I » selon le CA SFM 2013 et « S » selon le CA SFM 2015

\*\*\*\* : mauvaise activité in vivo

**tableau V** - antibiogramme / concentrations minimales inhibitrices (CMI) : résultats des experts

Antibiotiques	c-C*	<i>E. faecium</i> (CMI mg/L)	<i>E. gallinarum</i> (CMI mg/L)
Ampicilline <sup>(b)</sup>	4-8	≥ 256	0,5
Gentamicine <sup>(b)</sup>	128-128	≥ 256	4
Vancomycine (CASFM 2014 et 2015)	4-4	12	6-8
Vancomycine CASFM 2013	4-8		
Teicoplanine (CASFM 2014 et 2015)	2-2	0,5-0,75	0,25
Teicoplanine CASFM 2013	4-8		

c-C\* : concentrations critiques

(b) : tous référentiels (CASFM 2013, 2014, 2015) confondus

## Résultats des participants

Les réactifs utilisés dans les laboratoires pour la réalisation de l'antibiogramme d'un entérocoque en 2015 sont détaillés dans le tableau VI. On remarque que la part des automates, en particulier le Vitek de BioMérieux est prépondérante, devant la méthode de diffusion (disques) utilisée par près d'un quart des laboratoires.

tableau VI - antibiogramme entérocoques : réactifs utilisés

Techniques / Réactifs	15BAC2
<b>Galleries</b>	<b>7,8%</b>
ATB STREP EU bioMérieux	72
<b>Automates</b>	<b>68,5%</b>
Vitek 2 bioMérieux :	
carte AST-P606	554
carte AST-ST01	5
autres cartes	7
Microscan walkaway Siemens	31
Phoenix Becton Dickinson	37
<b>Disques</b>	<b>23,4%</b>
BioRad	129
I2a	57
Oxoid	30
<b>Réactif non précisé</b>	<b>3 (0,3%)</b>
Total	925

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

tableau VII - antibiogramme de la souche *E. faecium* : résultats des participants

Antibiotiques	Lus				Transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Ampicilline	436	0,2	0,2	<b>99,6</b>	432	0,2	0,2	<b>99,6</b>
Amoxicilline	126	1,6	0,8	<b>97,6</b>	173	1,2	0,0	<b>98,8</b>
Imipénème	120	2,5	0,0	<b>97,5</b>	149	1,3	0,0	<b>98,7</b>
Erythromycine	448	0,0	0,7	<b>99,3</b>	438	0,2	0,7	<b>99,1</b>
Clindamycine	179	1,1	0,0	<b>98,9</b>	177	1,1	0,0	<b>98,9</b>
Pristinamycine	130	<b>96,2</b>	1,5	2,3	138	<b>91,3</b>	5,1	3,6
Quinupristine+dalfopristine	269	<b>89,2</b>	8,2	2,6	267	<b>88,1</b>	8,2	3,7
Tétracycline	209	<b>98,6</b>	0,0	1,4	200	<b>98,5</b>	0,0	1,5
Tigécycline	39	<b>97,4</b>	0,0	2,6	41	<b>97,6</b>	0,0	2,4
Vancomycine	454	3,7	2,9	<b>93,4</b>	440	3,0	3,8	<b>93,2</b>
Teicoplanine	438	<b>97,7</b>	0,0	2,3	421	<b>95,0</b>	1,7	3,3
Norfloxacine	112	1,8	0,0	<b>98,2</b>	112	1,8	0,0	<b>98,2</b>
Lévofloxacine	362	0,6	0,0	<b>99,4</b>	357	0,6	0,0	<b>99,4</b>
Cotrimoxazole	417	2,2	0,7	<b>97,1</b>	411	1,4	1,0	<b>97,6</b>
Linézolide	402	<b>99,6</b>	0,2	0,2	395	<b>99,7</b>	0,3	0,0
Chloramphénicol	327	<b>98,8</b>	0,9	0,3	322	<b>98,8</b>	0,9	0,3

**tableau VIII** - antibiogramme de la souche *E. gallinarum* : résultats des participants

Antibiotiques	Lus				Transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Ampicilline	431	<b>97,5</b>	0,9	1,6	427	<b>97,2</b>	0,9	1,9
Amoxicilline	110	<b>95,5</b>	0,9	3,6	153	<b>94,8</b>	0,7	4,5
Imipénème	127	<b>94,5</b>	3,1	2,4	136	<b>94,9</b>	2,2	2,9
Erythromycine	437	<b>79,6</b>	1,4	19,0	432	<b>55,8</b>	1,4	42,8
Clindamycine	159	1,3	0,6	<b>98,1</b>	171	1,2	0,6	<b>98,2</b>
Pristinamycine	119	93,3	0,8	5,9	125	72,8	7,2	20,0
Quinupristine+dalfopristine	58	48,3	31,0	20,7	72	36,1	13,9	<b>50,0</b>
Tétracycline	197	2,0	2,0	<b>96,0</b>	194	2,1	1,5	<b>96,4</b>
Tigécycline	43	<b>90,7</b>	0,0	9,3	42	<b>92,9</b>	0,0	7,1
Vancomycine	454	22,9	<b>7,0</b>	<b>70,1</b>	455	7,0	3,3	<b>89,7</b>
Teicoplanine	444	<b>98,9</b>	0,2	0,9	440	<b>96,9</b>	1,1	2,0
Norfloxacin	93	<b>61,2</b>	2,2	36,6	90	<b>60,0</b>	3,3	36,7
Lévofloxacin	345	<b>86,4</b>	<b>11,9</b>	1,7	345	<b>86,1</b>	<b>11,6</b>	2,3
Cotrimoxazole	388	<b>62,9</b>	<b>20,9</b>	16,2	391	19,7	<b>40,4</b>	39,9
Linézolide	402	<b>98,8</b>	1,0	0,2	397	<b>98,7</b>	0,5	0,8
Chloramphénicol	327	<b>98,8</b>	0,9	0,3	325	<b>98,2</b>	1,2	0,6

**tableau IX** - Questionnaire aminosides / *E. faecium*

		Réponse attendue	Réponses des participants (%)		
			-	Oui	Non
Gentamicine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Oui	3,9	<b>86,6</b>	9,5
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Non *	6,0	9,5	<b>84,5</b>
Kanamycine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Oui	10,4	<b>86,8</b>	2,8
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Non *	12,7	3,5	<b>83,8</b>

\* : l'acquisition d'une résistance de haut niveau abolit l'effet bactéricide synergique entre un aminoglycoside et une pénicilline ou un glycopeptide.

**tableau X** - Questionnaire aminosides / *E. gallinarum*

		Réponse attendue	Réponses des participants (%)		
			-	Oui	Non
Gentamicine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Non	7,6	2,4	<b>90,0</b>
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Oui *	13,0	<b>65,1</b>	21,9
Kanamycine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Non	17,7	3,7	<b>78,6</b>
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Oui *	21,4	<b>57,8</b>	20,8

\* : synergie possible avec la teicoplanine.

En ce qui concerne les diamètres d'inhibition relevés par les participants qui utilisent la méthode des disques, les paramètres statistiques pour chaque antibiotique (effectif, moyenne et écart-type) ont été calculés à partir des données fournies. Ils ont ensuite été recalculés après une troncature à 2 écart-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écart-types de part et d'autre de la moyenne). Pour certains antibiotiques, lorsque cela était nécessaire, deux groupes de résultats ont été distingués et traités séparément :

ceux obtenus par les laboratoires ayant suivi comme référentiel le CA-SFM 2013 d'une part et ceux obtenus par les laboratoires ayant suivi le CA-SFM 2014 ou 2015 d'autre part.

L'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche *E. faecium* est rapporté dans le tableau XI. A l'exception de l'ampicilline, de l'imipénème, de la norfloxacine et de la kanamycine pour lesquels on observe une résistance « contact », la distribution des diamètres d'inhibition relevés tous réactifs confondus est représentée figures 1 à 6.

De la même façon, l'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche *E. gallinarum* est rapporté dans le tableau XII et les distributions des diamètres d'inhibition sur les figures 7 à 19.

**tableau XI - *E. faecium* : diamètres d'inhibition (mm) tous réactifs confondus**

Antibiotique	d-D *	effectif	effectif tr**	moyenne tr**	écart-type tr**
Ampicilline <sup>(a)</sup>	-	111	R contact		
Imipénème (CASFM 2014 et 2015)	18-21	60	R contact		
Norfloxacine (CASFM 2014 et 2015)	12-12	95	R contact		
Vancomycine (CASFM 2014 et 2015)	12-12	68	66	10,3	3,5
Vancomycine (CASFM 2013)	17	62	59	15,5	1,5
Teicoplanine (CASFM 2014 et 2015)	16-16	58	56	18,1	1,8
Teicoplanine (CASFM 2013)	17	53	52	18,9	1,7
Gentamicine (CASFM 2014 et 2015)	8-8	63	57	7,5	2,9
Gentamicine (CASFM 2013)	17-17	56	56	14,8	4,4
Kanamycine (CASFM 2013)	10-14	66	R contact		

<sup>(a)</sup> : tous référentiels (CASFM 2013, 2014, 2015) confondus

d-D\* : diamètres critiques, tr\*\* : après troncature à 2 écart-types

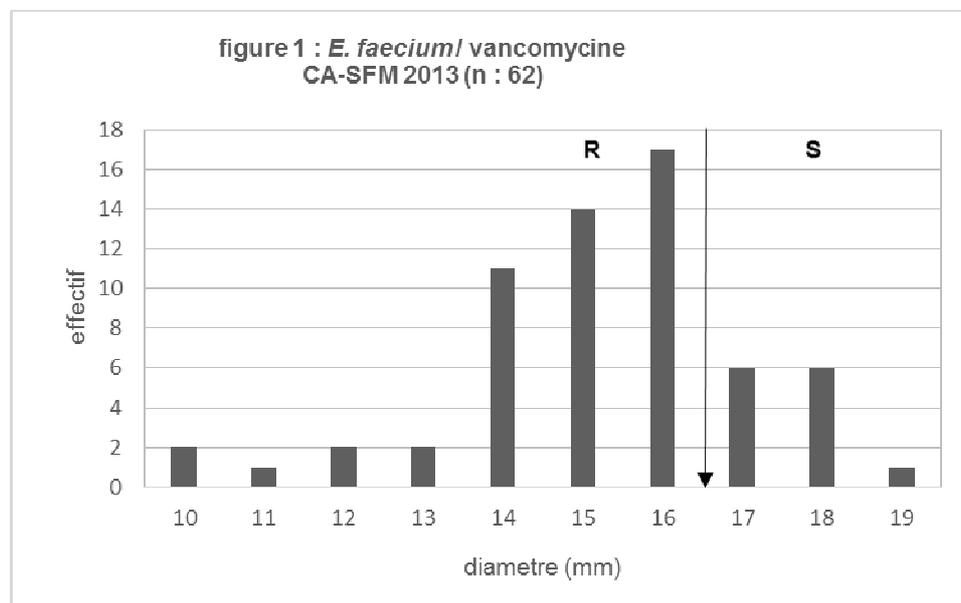


figure 2 : *E. faecium*/ vancomycine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 68)

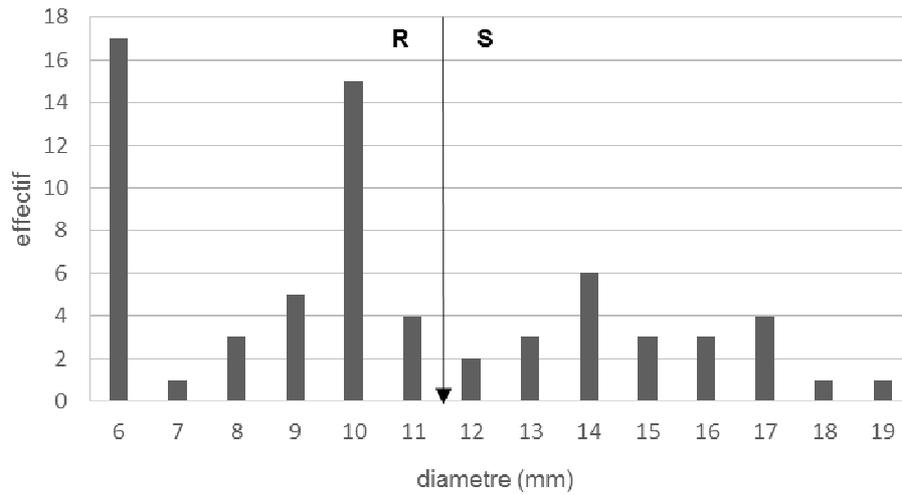


figure 3 : *E. faecium*/ teicoplanine  
CA-SFM 2013 (n : 53)

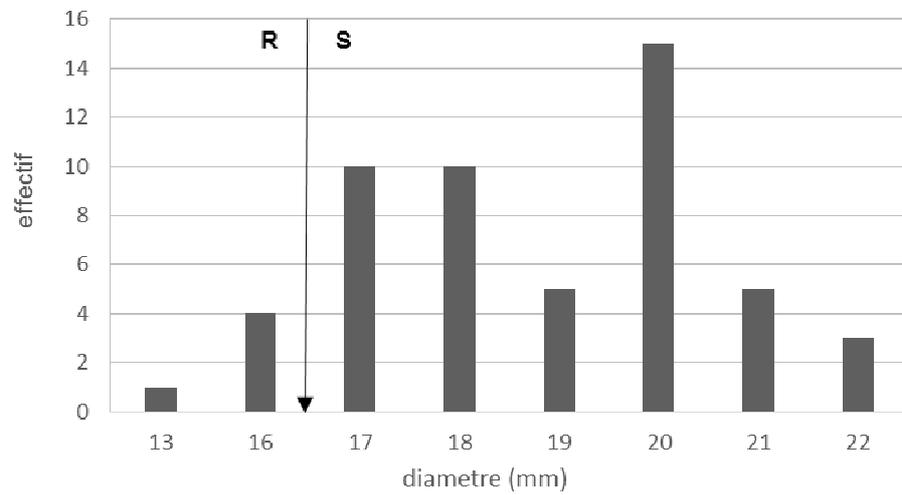
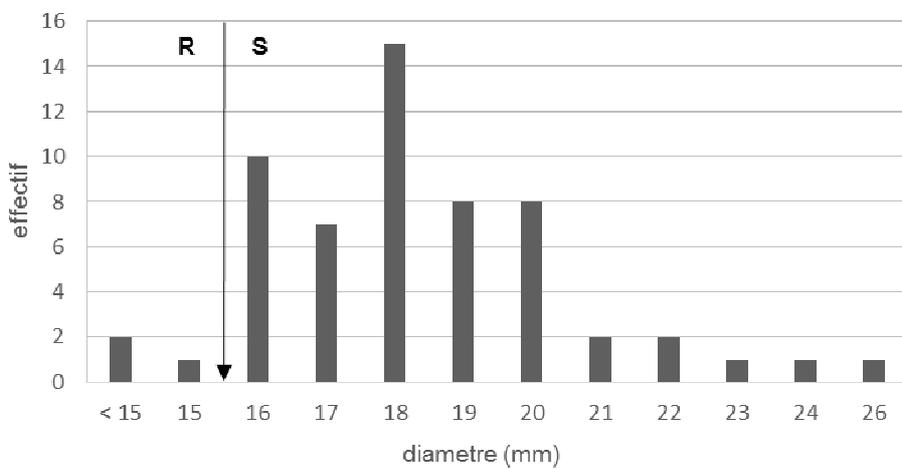


figure 4 : *E. faecium*/ teicoplanine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 58)



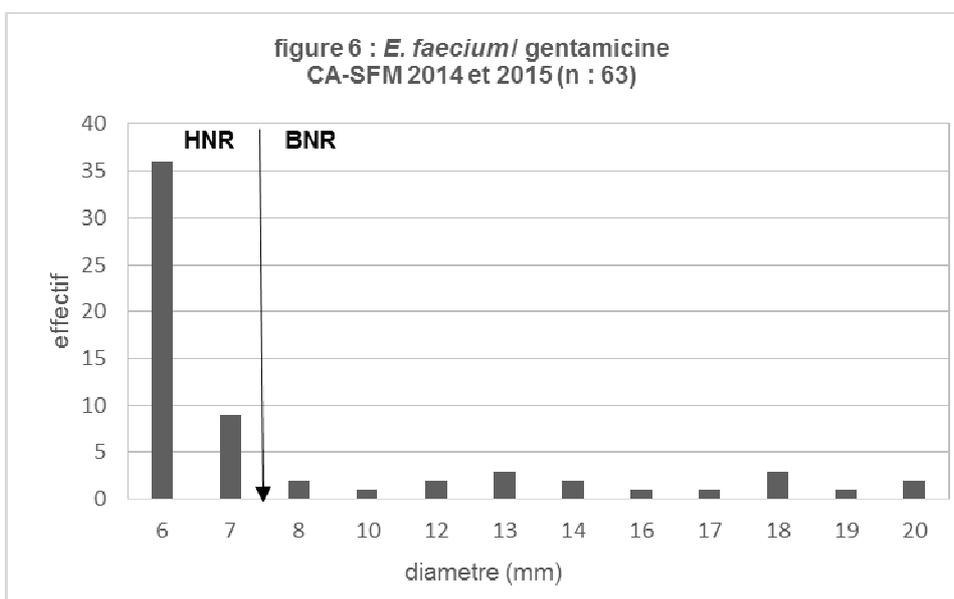
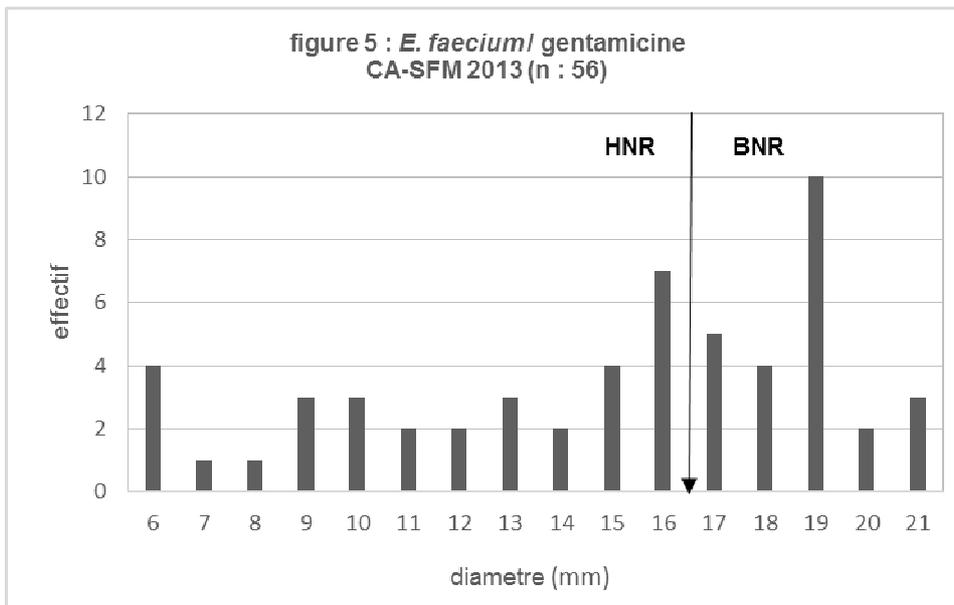


tableau XII - *E. gallinarum* : diamètres d'inhibition (mm) tous réactifs confondus

Antibiotique	d-D *	effectif	effectif tr**	moyenne tr**	écart-type tr**
Ampicilline (CASFM 2014 et 2015)	8-10	53	50	17,6	2,8
Ampicilline (CASFM 2013)	16-19	52	49	25,3	2,8
Imipénème (CASFM 2014 et 2015)	18-21	31	30	25,0	2,5
Imipénème (CASFM 2013)	-	32	31	25,9	2,1
Norfloxacine (CASFM 2014 et 2015)	12-12	58	54	18,1	2,3
Norfloxacine (CASFM 2013)	-	34	29	15,0	1,6
Vancomycine (CASFM 2014 et 2015)	12-12	62	59	12,7	2,9
Vancomycine (CASFM 2013)	17	70	70	17,2	1,6
Teicoplanine (CASFM 2014 et 2015)	16-16	54	52	20,1	1,7
Teicoplanine (CASFM 2013)	17	65	65	20,3	1,7
Gentamicine (CASFM 2014 et 2015)	8-8	63	61	22,1	4,7
Gentamicine (CASFM 2013)	17-17	75	72	28,2	3,0
Kanamycine (CASFM 2013)	10-14	59	55	24,8	2,5

d-D\* :diamètres critiques, tr\*\*:après troncature à 2ET

figure 7 : *E. gallinarum*/ ampicilline  
CA-SFM 2013 (n : 52)

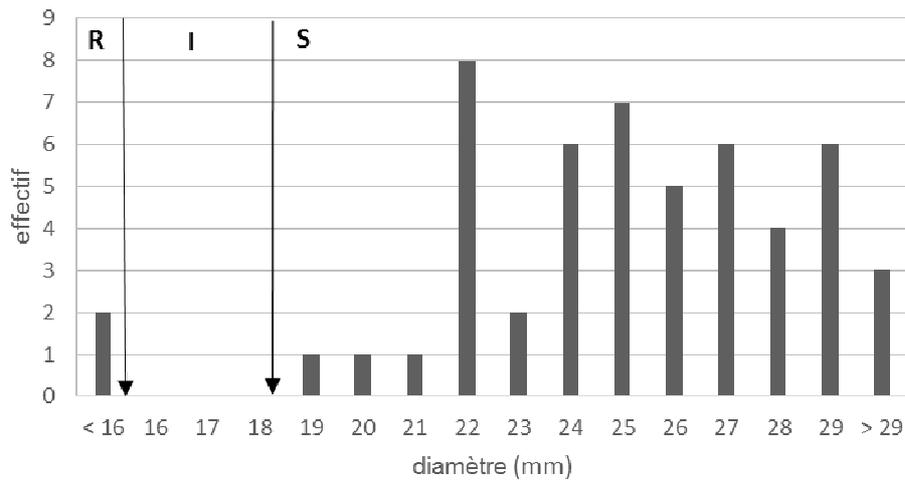


figure 8 : *E. gallinarum*/ ampicilline  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 53)

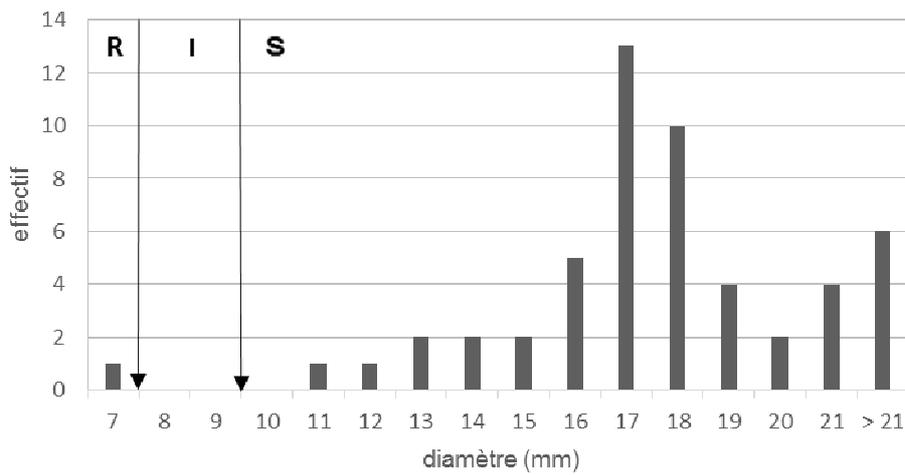


figure 9 : *E. gallinarum*/ imipénème  
CA-SFM 2013 (n : 32)

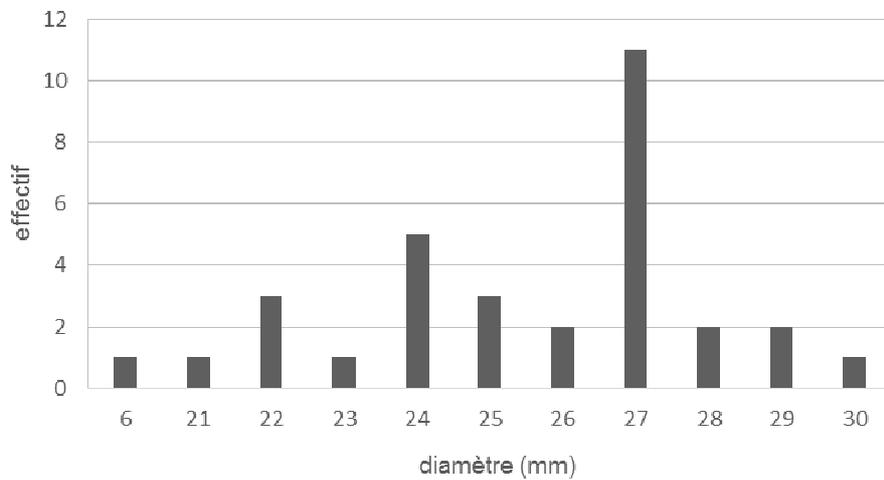


figure 10 : *E. gallinarum*/ imipénème  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 31)

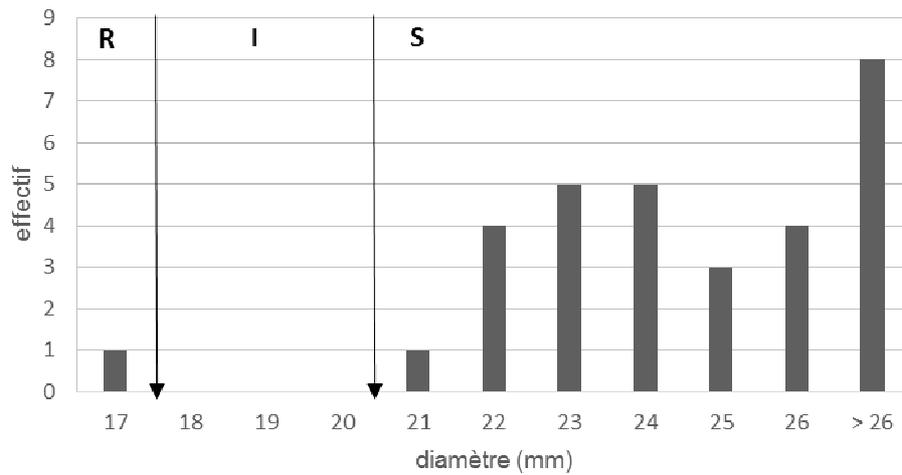


figure 11 : *E. gallinarum*/ norfloxacine  
CA-SFM 2013 (n : 34)

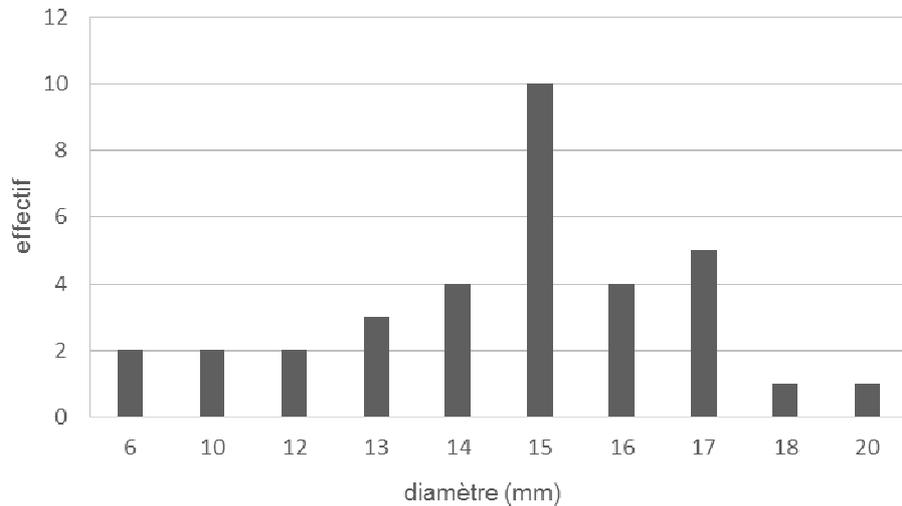


figure 12 : *E. gallinarum*/ norfloxacine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 58)

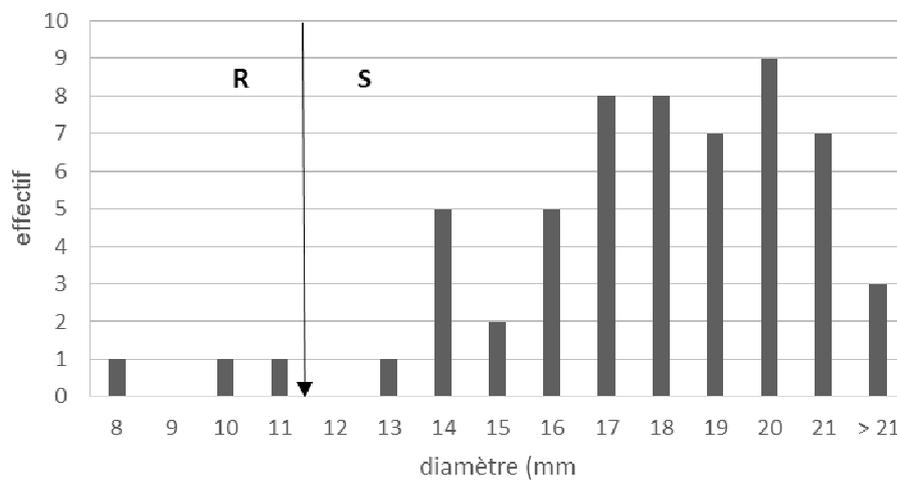


figure 13 : *E. gallinarum*/ vancomycine  
CA-SFM 2013 (n : 70)

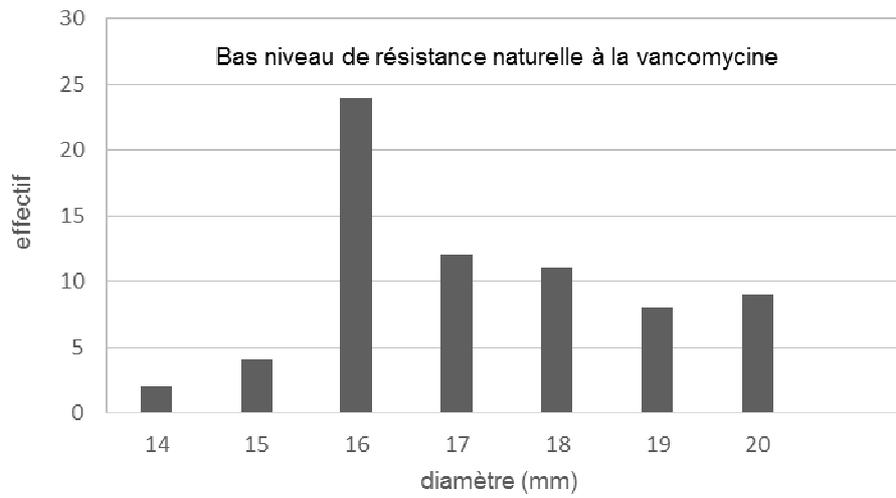


figure 14 : *E. gallinarum*/ vancomycine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 62)

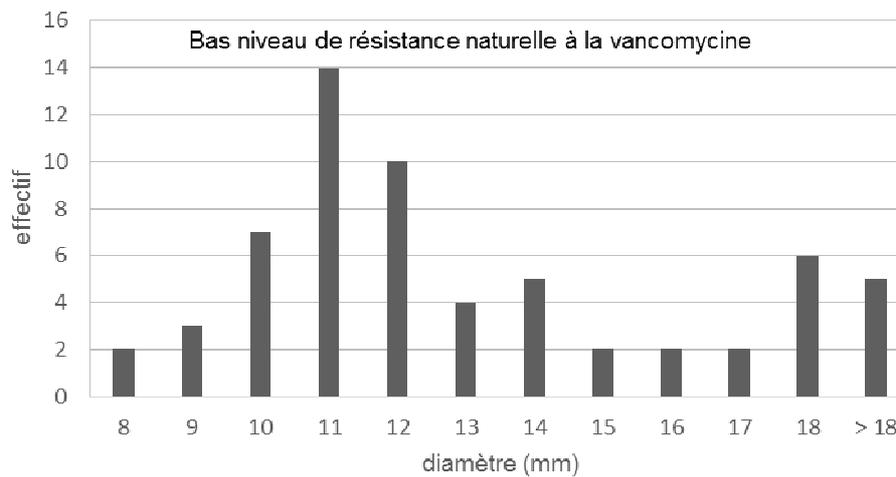


figure 15 : *E. gallinarum*/ teicoplanine  
CA-SFM 2013 (n : 65)

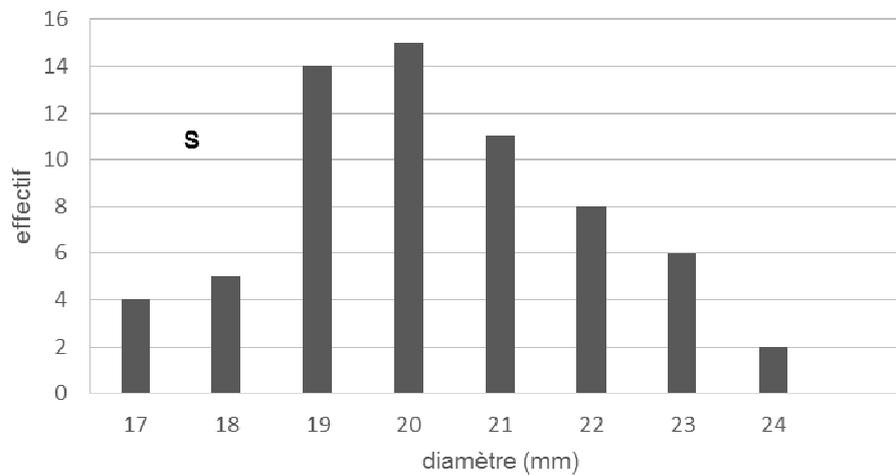


figure 16 : *E. gallinarum*/ teicoplanine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 54)

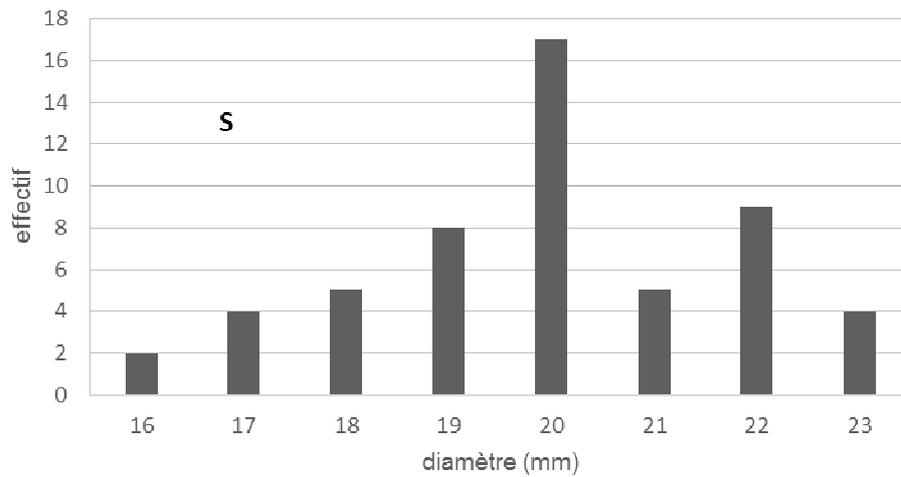


figure 17 : *E. gallinarum*/ gentamicine  
CA-SFM 2013 (n : 75)

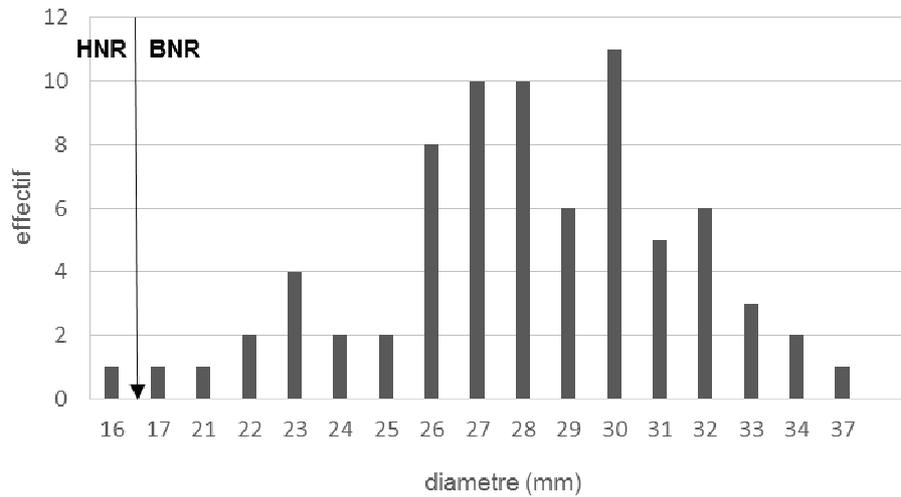
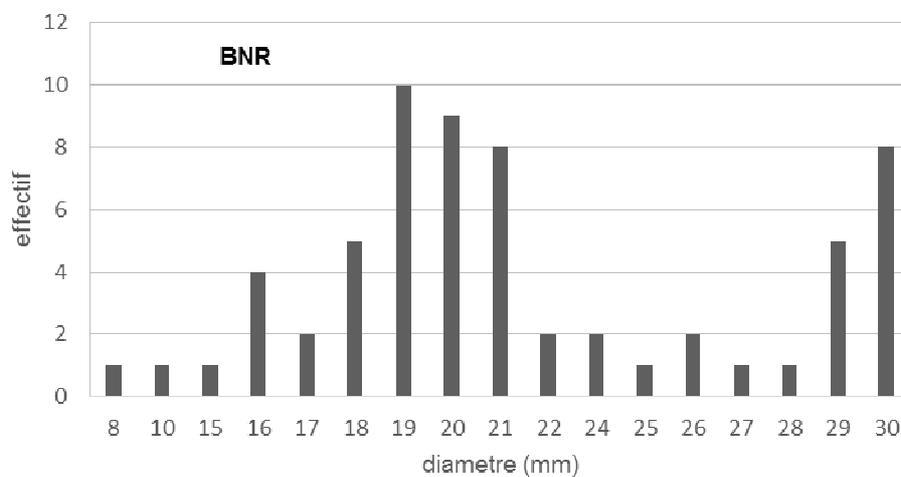


figure 18 : *E. gallinarum*/ gentamicine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 63)



Enfin, pour la souche *E. faecium*, les CMI de la vancomycine et de la teicoplanine rapportées par les participants, tous référentiels confondus, sont détaillées en fonction du réactif utilisé dans les tableaux XIII et XIV, tandis que les distributions des CMI en fonction du référentiel utilisé sont reportées sur les figures 20 et 21 pour la vancomycine et sur les figures 22 et 23 pour la teicoplanine.

De la même façon, pour la souche *E. gallinarum*, les CMI de l'ampicilline, de la vancomycine et de la teicoplanine rapportées par les participants, tous référentiels confondus sont détaillées en fonction du réactif utilisé dans les tableaux XV à XVII. En ce qui concerne les deux glycopeptides, les distributions des CMI en fonction du référentiel utilisé sont illustrées par les figures 24 et 25 pour la vancomycine et par les figures 26 et 27 pour la teicoplanine.

**tableau XIII - *E. faecium* / vancomycine : CMI tous référentiels confondus**

CMI (mg/L)	bioMérieux E test	i2a (liofilchem)	Oxoid M.I.C.E.
1	1		
4	3		1
6	12	6	3
8	47	4	15
12	34	6	2
16	29	2	13
24	10	1	
32	10	1	1
64	2		1
>256	4		
Total	152	20	36

**tableau XIV - *E. faecium* / teicoplanine : CMI tous référentiels confondus**

CMI (mg/L)	bioMérieux E test	i2a (liofilchem)	Oxoid M.I.C.E.
0,19	1		
0,38	6	1	
0,5	28	2	6
0,75	38	7	1
1	43	3	22
1,5	6	3	
2	4	1	3
4			1
>8	1		
Total	127	17	33

figure 20 : *E. faecium*/ CMI vancomycine  
CA-SFM 2013 (n : 63)

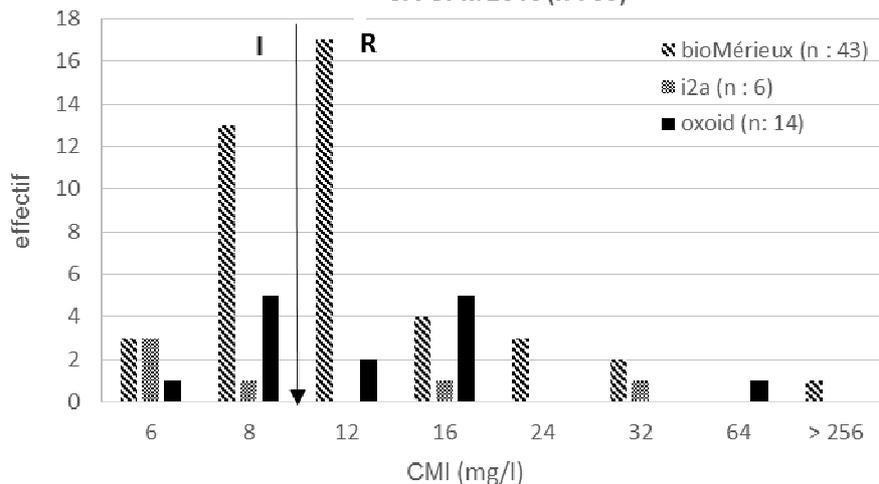


figure 21 : *E. faecium*/ CMI vancomycine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 127)

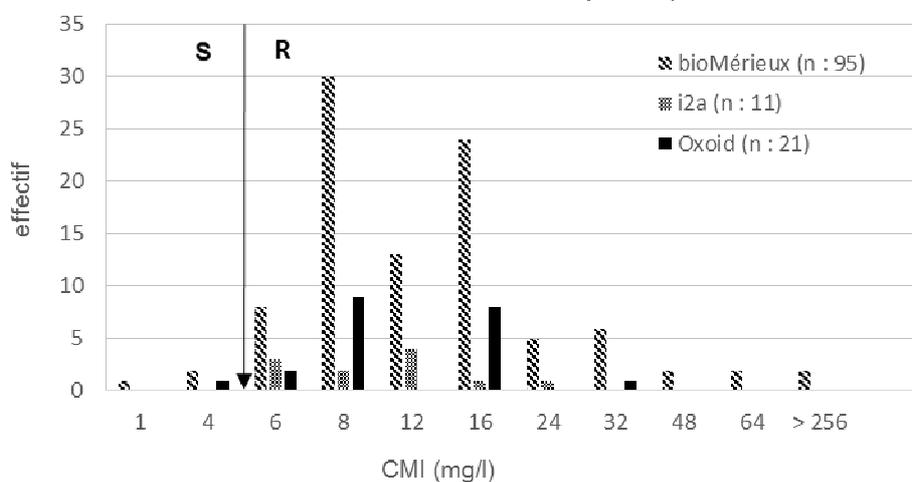
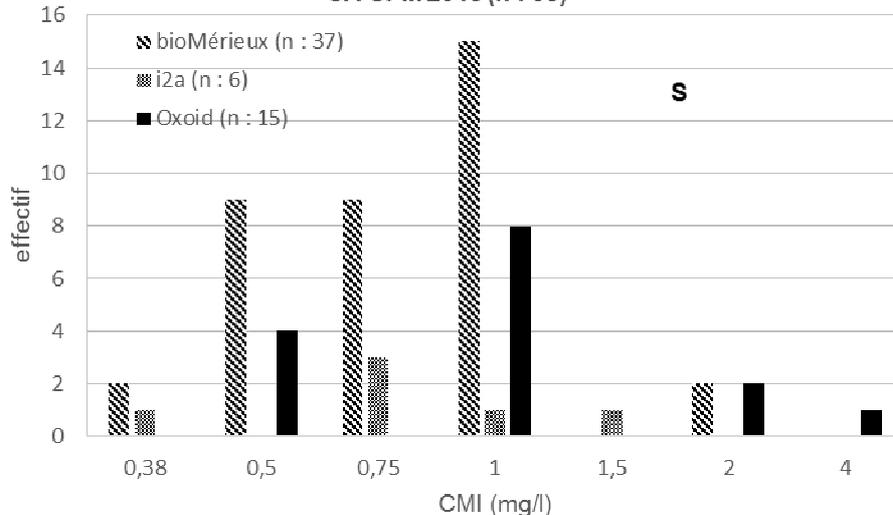
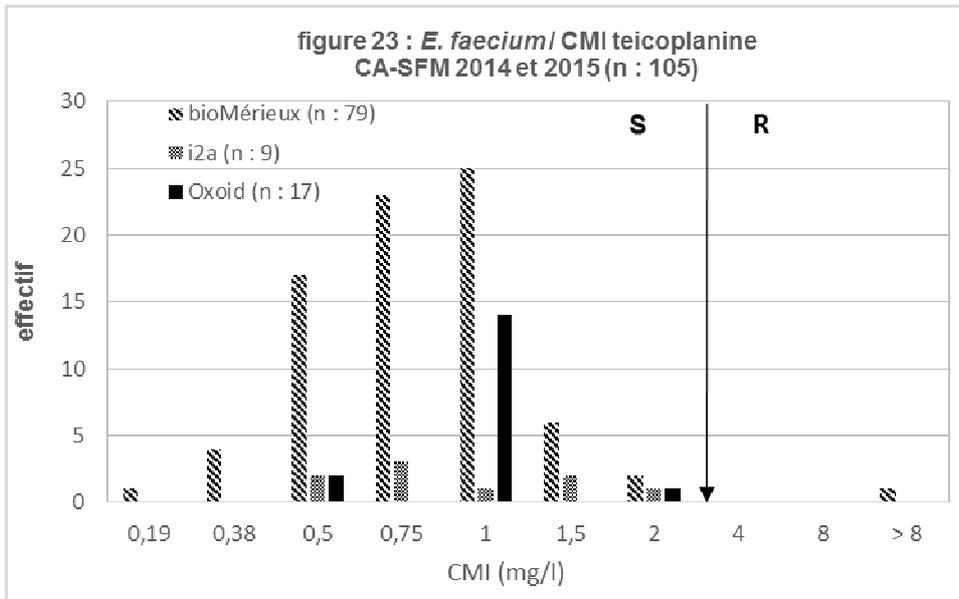


figure 22 : *E. faecium*/ CMI teicoplanine  
CA-SFM 2013 (n : 58)





**tableau XV - *E. gallinarum* / ampicilline : CMI tous référentiels confondus**

CMI (mg/L)	bioMérieux E test	i2a (liofilchem)	Oxoid M.I.C.E.
0,125		1	
0,19		1	
0,25	2		
0,38	8	1	
0,5	7	1	2
0,75	11	1	1
1	5		1
1,5	2		
Total	35	5	4

**tableau XVI - *E. gallinarum* / vancomycine : CMI tous référentiels confondus**

CMI (mg/L)	bioMérieux E test	i2a (liofilchem)	Oxoid M.I.C.E.
2	2		
3	1		
4	28	3	7
5	1		
6	47	5	5
8	26	3	7
12	2	2	
16	1		
Total	108	13	19

tableau XVII - *E. gallinarum* / teicoplanine : CMI tous référentiels confondus

CMI (mg/L)	bioMérieux E test	i2a (liofilchem)	Oxoid M.I.C.E.
<0,125	3		1
0,125	9		1
0,19	6		
0,25	21	1	2
0,38	22	4	1
0,5	21	4	9
0,75	7	4	3
1	6	1	1
1,5	1		
2	1		
Total	97	14	18

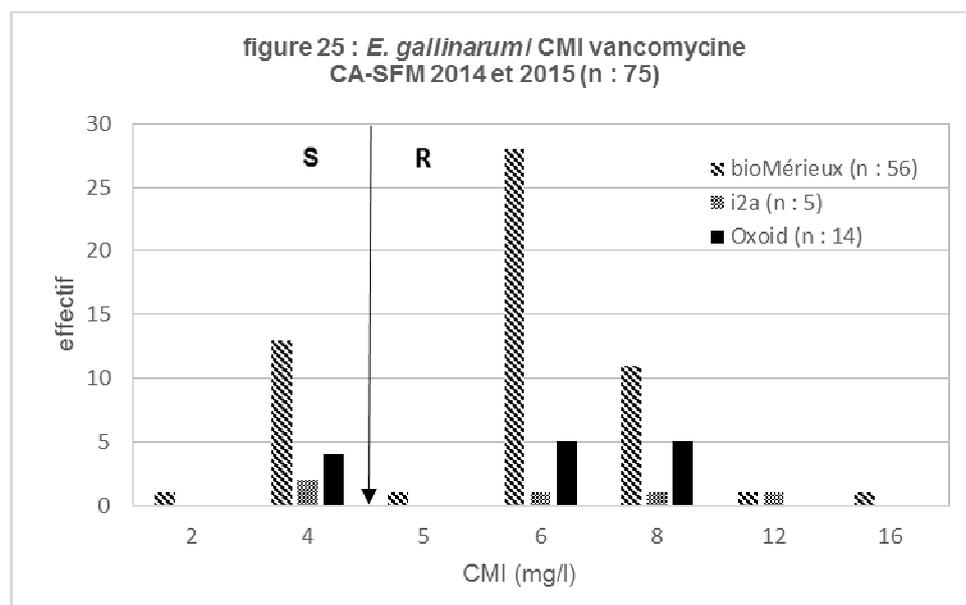
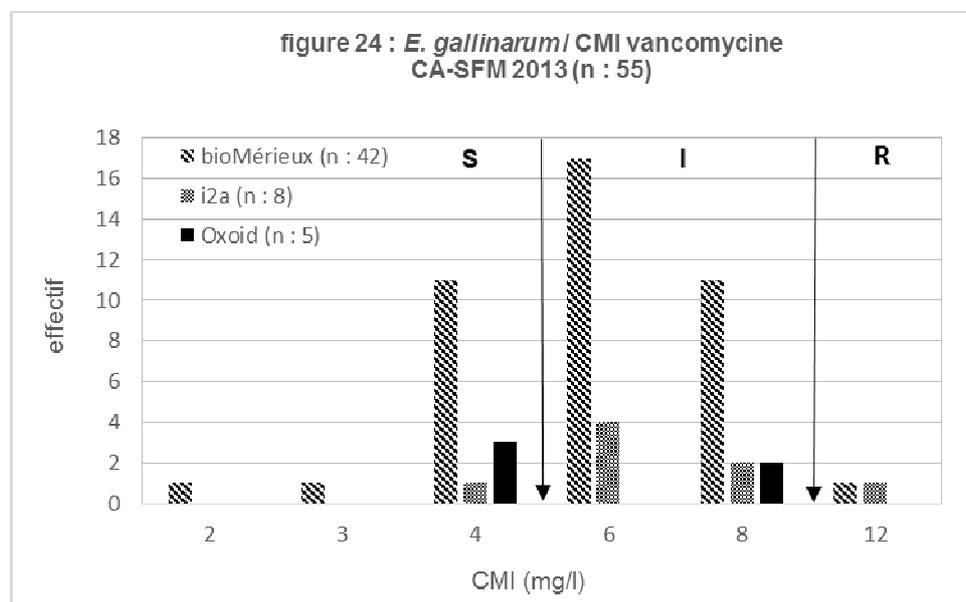


figure 26 : *E. gallinarum*/ CMI teicoplanine  
CA-SFM 2013 (n : 52)

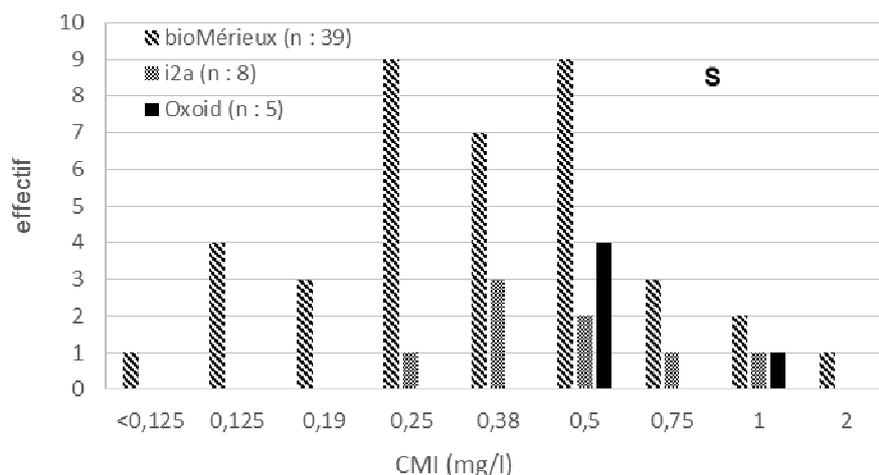
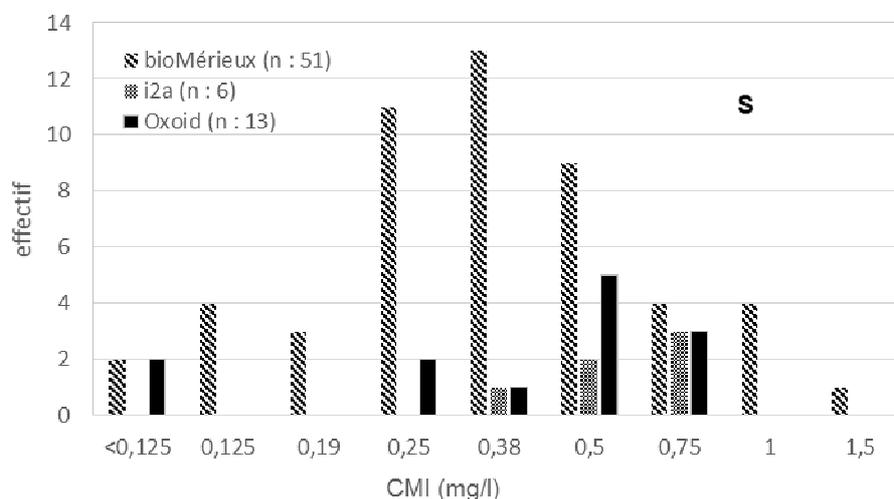


figure 27 : *E. gallinarum*/ CMI teicoplanine  
CA-SFM 2014 et 2015 (n : 70)



## Commentaires

### 1 - *E. faecium* VanD

#### 1-1 Bêta-lactamines

En ce qui concerne l'ampicilline et l'imipénème, on notait une résistance « contact » en diffusion sur gélose, ainsi qu'une CMI (Etest) supérieure ou égale à 256 mg/L pour l'ampicilline. La réponse attendue « R » pour ces deux antibiotiques a été rendue respectivement par 99,6% et 98,7% des participants.

#### 1-2 Glycopeptides

Il s'agissait d'une souche contenant le gène *vanD*, résistante à bas niveau à la vancomycine et sensible à la teicoplanine.

En ce qui concerne la vancomycine, on note 93,4% réponses « R » correspondant à la réponse attendue. Les fausses réponses « S » ont été rendues en majorité par les utilisateurs de la méthode des disques. Il faut noter que depuis 2014, le CA-SFM a modifié ses recommandations pour la vancomycine : la charge du disque passe de 30 µg à 5 µg et parallèlement, le diamètre critique passe de 17 à 12 mm. De plus, il est précisé que « les souches d'entérocoques sensibles à la vancomycine présentent des contours nets. L'examen des contours doit

être effectué sous lumière directe et une résistance est suspectée devant un contour flou ou la présence de colonies dans la zone d'inhibition. La lecture ne doit pas être effectuée avant 24H d'incubation ».

Les concentrations critiques ont également été modifiées et sont passées de 4 et 8 mg/L à une concentration critique unique égale à 4 mg/L. La CMI modale, égale à 12 mg/L pour cette souche, la catégorise « R ».

La sensibilité à la teicoplanine (CMI = 0,5-0,75 mg/L) a été relevé par 97,7% des participants. Il n'y a pas lieu d'interpréter le résultat lu « S » en « I » ou « R ». Les concentrations critiques de la teicoplanine ont, elles aussi, été modifiées en 2014 et sont passées de 4 et 8 mg/L à une concentration critique unique égale à 2 mg/L.

### 1-3 Aminoglycosides

Les entérocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau (BNR) aux aminosides liée à un transport inefficace de ces antibiotiques dans la bactérie. L'acquisition de gènes codant pour des enzymes inactivant les aminosides conduit à une résistance de haut niveau (HNR). La souche était résistante à la gentamicine et à la kanamycine haute concentration. Dans ce cas, la synergie entre les glycopeptides (GP) et les aminosides est abolie.

Les résultats sont très satisfaisants pour la kanamycine puisque près de 97% des LBM répondants ont indiqué un haut niveau de résistance de la souche et 96% ont précisé que cette résistance abolissait la synergie avec les GP (tableau IX).

Les résultats sont moins bons pour la gentamicine. En effet, 10% des répondants n'ont pas détecté l'acquisition d'une résistance de haut niveau. Parmi eux, près des trois quarts sont des utilisateurs de la méthode des disques qui selon le référentiel suivi, CA-SFM 2013 ou CA-SFM 2014/2015, ont lu un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 17 mm (figure 5) ou à 8 mm (figure 6). L'analyse des réponses en fonction de la méthode employée montre pour le MicroScan Walkaway, le Vitek2, l'ATB Strep EU, le Phoenix et la méthode des disques respectivement 100%, 97,4% , 94,2%, 91% et 68% de bonnes réponses « HNR ».

### 1-4 Macrolides, lincosamides, streptogramines

La souche était résistante à l'érythromycine et à la clindamycine (99% de bonnes réponses). En revanche, la souche était sensible à la pristnamycine et à l'association quinupristine/dalfopristine (CMI = 0,5-0,75 mg/L). On peut rappeler que *E. faecium*, contrairement à *E. faecalis*, ne présente pas de résistance naturelle vis-à-vis de ces deux antibiotiques. Il n'y a pas lieu de modifier le résultat lu « S » en « I ou R ».

Pour la quinupristine/dalfopristine, les réponses lues « I » (8,2%) et « R » (2,6%) ont été rendues par les utilisateurs du Phoenix (83% « I », 17% « S ») et des disques (56% « S », 17% « I », 27% « R »).

### 1-5 Autres antibiotiques

En ce qui concerne les fluoroquinolones, depuis 2014, le CA-SFM indique qu'un disque de norfloxacine 10 µg peut être utilisé pour le dépistage de la résistance. Si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égal à 12 mm, la souche est rendue « S » à la ciprofloxacine et à la lévofloxacine. Si le diamètre est inférieur à 12 mm, ce qui est le cas pour la souche testée (6 mm), alors il est nécessaire de déterminer individuellement les CMI des fluoroquinolones. Les résultats rendus sont bons avec respectivement 98,2% et 99,4% de réponses « R » pour la norfloxacine et la lévofloxacine.

La souche était par ailleurs sensible à la tétracycline, la tigécycline, le linézolide, le chloramphénicol et résistante au cotrimoxazole. On note de 97,6 à 99,7% de bonnes réponses selon la molécule considérée.

## 2 - *E. gallinarum*

### 2-1 Bêta-lactamines

Depuis 2014, le CA-SFM recommande de tester l'ampicilline avec un disque chargé à 2 µg pour les entérocoques. Les souches sont considérées comme sensibles lorsque le diamètre d'inhibition est ≥ 10 mm correspondant à des CMI ≤ 4 mg/L. La souche testée, sensible à l'ampicilline (CMI = 0,5 mg/L) et à l'imipénème n'a pas posé de problème.

### 2-2 Glycopeptides

La souche testée ne présentait aucune résistance acquise aux glycopeptides de type VanA ou VanB. En revanche, elle présentait comme toutes les souches de l'espèce *E. gallinarum* une résistance intrinsèque (chromosomique) de bas niveau à la vancomycine tout en demeurant sensible à la teicoplanine (type VanC).

La sensibilité diminuée à la vancomycine était difficile à mettre en évidence car la CMI égale à 6-8 mg/L était très proche de la concentration critique (4 mg/L). D'ailleurs, parmi les 140 LBM ayant déterminé la CMI de la vancomycine, 29% ont rendu une CMI ≤ 4 mg/L. A l'exception des automates (Phoenix, Vitek2, Microscan WalAway) qui rendaient « R » au vu de l'espèce identifiée, les résultats rendus par les disques et la galerie ATB

Strep EU étaient partagés entre « S » et « R ». Néanmoins, globalement, seuls 7% des participants ont transmis une réponse fautive « S ».

La téicoplanine (CMI = 0,25-0,5 mg/L) n'a pas posé de problème avec 98,9% de résultats lus « S ». Cependant, là encore, comme pour la souche *E. faecium* VanD, il n'y a pas lieu de la résistance à la vancomycine, d'interpréter le résultat lu « S » pour la téicoplanine en « I » ou « R ».

### 2-3 Aminoglycosides

La souche présentait un bas niveau de résistance à la gentamicine (CMI = 4 mg/L) et à la kanamycine relevé par respectivement 97,4% et 95,5% des répondants (tableau X). A la question : « une synergie bactéricide est-elle possible avec les glycopeptides ? », environ les trois quarts des participants ayant donné une réponse ont choisi « oui » qui était la réponse attendue. Toutefois, il pouvait sembler difficile de répondre à cette question car seule la synergie avec l'un des deux glycopeptides (la téicoplanine) est possible.

### 2-4 Macrolides, lincosamides, streptogramines

La souche était sensible à l'érythromycine. Les résultats « R » proviennent du Vitek2 (V7.01) dont le système expert effectue une correction thérapeutique inappropriée sur une CMI calculée  $\leq 0,25$  mg/L.

Le CA-SFM précise que les espèces *E. faecalis*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* et *E. avium* sont naturellement résistantes aux lincosamides et à l'association quinupristine-dalfopristine. La clindamycine a bien été rendue « R » par 98% des participants. En ce qui concerne les streptogramines, en l'absence de diamètres et de concentrations critiques pour l'espèce *E. gallinarum*, la souche a été rendue « I » ou « R » à la quinupristine-dalfopristine et à la pristinamycine par respectivement 64% et 27% des participants. Les réponses des participants pour ces deux antibiotiques (non testés sur les automates) n'ont pas été évaluées.

### 2-5 Autres antibiotiques

En ce qui concerne les fluoroquinolones, le dépistage de la résistance avec un disque de norfloxacine 10 µg selon les recommandations du CA-SFM 2014/2015 conduit à un diamètre moyen d'inhibition de 18 mm. Par conséquent, la réponse attendue pour la norfloxacine et la lévofloxacine était « S ». Cependant, comme la CMI de lévofloxacine était égale à 2 mg/L, la souche pouvait être catégorisée « S » selon le CA-SFM 2014/2015 ou bien « I » selon le CA-SFM 2013. C'est pourquoi, les deux réponses « S » et « I » étaient considérées comme acceptables pour la lévofloxacine.

La souche était par ailleurs résistante à la tétracycline (96,4% de bonnes réponses) et sensible à la tigécycline (93% de bonnes réponses). Pour cette dernière, testée uniquement par la méthode des disques par un petit nombre de LBM, les 3 fausses réponses « R » sont rendues par des utilisateurs du Vitek ou de la galerie ATB Strep EU qui ne testent pas cet antibiotique.

Enfin, concernant le cotrimoxazole, le CA-SFM a modifié en 2014 les diamètres critiques (21 et 50 mm) de façon à ce que les souches sauvages d'entérocoques soient comprises dans cet intervalle et catégorisées « intermédiaire » du fait d'une mauvaise activité *in vivo* de cet antibiotique sur les entérocoques. Les réponses des LBM participants (20% « S », 40% « I », 40% « R ») n'ont pas été évaluées.

## Bibliographie

- (1) Courvalin P. Glycopeptides et entérocoques dans Courvalin P. et Leclercq R. AntibioGramme 3<sup>ème</sup> édition ESKA 2012 ; Chapitre 24 : 327-337.
- (2) Leclercq R. Macrolides, Lincosamides et Streptogramines dans Courvalin P. et Leclercq R. AntibioGramme 3<sup>ème</sup> édition ESKA 2012 ; Chapitre 26 : 349-371.
- (3) Rapport du Haut Conseil de la Santé Publique. Prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe). Juillet 2013.  
Disponible sous <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=372>

# Sérologie de la syphilis

## Définition des échantillons

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 non tréponémique TNT (encore appelé test cardiolipidique de type VDRL, RPR,...) et test tréponémique TT (de type TPHA, ELISA, FTA abs). En cas de réaction positive ou dissociée, le dépistage doit être complété par un titrage.

L'Union Nationale des Caisses d'Assurance Maladie (UNCAM) et le CNR-Syphilis ont proposé une modification de l'algorithme en vigueur : remplacement de l'association systématique d'un TNT et d'un TT par un seul TT sur Ig totales (avec une méthode de type ELISA ou apparenté) confirmé par un TNT quantitatif en cas de positivité. La HAS a donné un avis favorable à cette proposition de modification de la NABM en mai 2015 (1). Les données issues du CNQ font partie des éléments ayant servi à l'élaboration de l'argumentaire de la HAS. Toutefois, aucune décision de modification n'a été publiée au Journal Officiel à ce jour (septembre 2016).

Un échantillon (pool de 2 poches de plasmas défibrinés) lyophilisé a été adressé à chacun des 933 laboratoires ayant déclaré réaliser la sérologie de la syphilis.

Deux lots identifiés S1 et S2 ont été proposés. Les résultats du CNR Syphilis, de l'ANSM et du CHU de Reims sont présentés en inverse de dilution dans le tableau XVIII.

tableau XVIII - Sérologie de la syphilis : résultats des 3 sites experts

	VDRL			TPHA / ELISA			
	dépistage	titrage (seuil = 1)		dépistage	titrage TPHA (seuil = 80)		
		site 1 (a)	site 2 (b)		site 1 (c)	site 2 (c)	site 3 (d)
<b>S1</b>	négatif	-	-	négatif	-	-	-
<b>S2</b>	positif/douteux	1 (faible)	1 (faible)	positif	160	320 (faible)	positif

(a) : VDRL Latex Biorad, (b) RPR BioMérieux, (c) : TPHA 200 Biorad, (d) : ELISA Biorad

## Méthode statistique et expression des résultats

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

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

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

## Résultats des participants

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

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

En ce qui concerne l'échantillon S2, la proportion de dépistages négatifs, douteux et positifs obtenus en fonction du réactif utilisé est détaillée dans le tableau XXI. La distribution de fréquence des titres obtenus par les laboratoires participants tous réactifs confondus est représentée figure 28, tandis que le détail des titres obtenus en fonction du réactif utilisé est rapporté dans le tableau XXII.

**tableau XIX – Réactifs du groupe 1**

Réactif	Distributeur	Nombre utilisateurs
RPR Carbon	Alere (Spinreact)	7
VDRL Check	All Diag	77
RPR Reditest	Biokit	53
RPR Carbon	Biolabo	1
RPR Test	Biolys	13
RPR Nosticon II	Biomérieux	58
RPR 100 ou 500	Biorad	122
VDRL Latex	Biorad	17
RPR Carbon	Biosystems	1
RPR kit	Biotec	14
RPR test kit	Cortez diagnostics	4
RPR Carbon	Cypress diagnostics	13
Sypal CB	Diagast	31
Sypal	Diagast	3
RPR Charbon	Elitech	55
VDRL Charbon	Eurobio	4
RPR Card Test	Fumouze (ASI)	108
RPR Carbon	Nadal (Nal von Minden)	1
Immutrep RPR	Omega diagnostics	6
VDRL charbon	Oxoid	1
RPR	Roche	2
Servitex RPR	Servibio	26
réactif non précisé		1
<b>TOTAL</b>		<b>800</b>

**tableau XX - Sérologie de la syphilis : dépistage méthodes du groupe 1**

	S1	S2
Réponse attendue	négatif	positif
Effectif	399	401
Dépistage « négatif »	<b>398 (99,7%)</b>	200 (49,9%)
Dépistage « positif »	-	<b>179 (44,6%)</b>
Dépistage « douteux »	1 (0,3%)	<b>22 (5,5%)</b>

**tableau XXI - échantillon S2 / réaction du groupe 1 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé**

		Douteux	Négatif	Positif	Total
RPR Carbon	ALERE	1	3	1	5
VDRL Check	ALL DIAG	1	24	10	35
RPR REDITEST	BIOKIT		17	12	29
RPR Carbon	BIOLABO		1		1
RPR TEST	BIOLYS		3	2	5
RPR NOSTICON II	BIOMERIEUX	3	32	23	58
VDRL LATEX	BIORAD		3	4	7
RPR 100 ou 500	BIORAD	6	68	48	122
RPR Kit	BIOTEC		3	1	4
RPR test Kit	CORTEZ DIAG		2	2	4

RPR Carbon	CYPRESS DIAG		3	4	7
SYPAL CB	DIAGAST	2	11	2	15
SYPAL	DIAGAST		1		1
RPR Charbon	ELITECH	2	9	16	27
VDRL Charbon	EUROBIO			4	4
RPR Card test	FUMOUIZE	6	9	42	57
RPR Carbon	NADAL			1	1
IMMUTREP RPR	OMEGA DIAG		2	2	4
VDRL Charbon	OXOID			1	1
SERVITEX RPR	SERVIBIO	1	9	4	14
Total		22	200	179	401

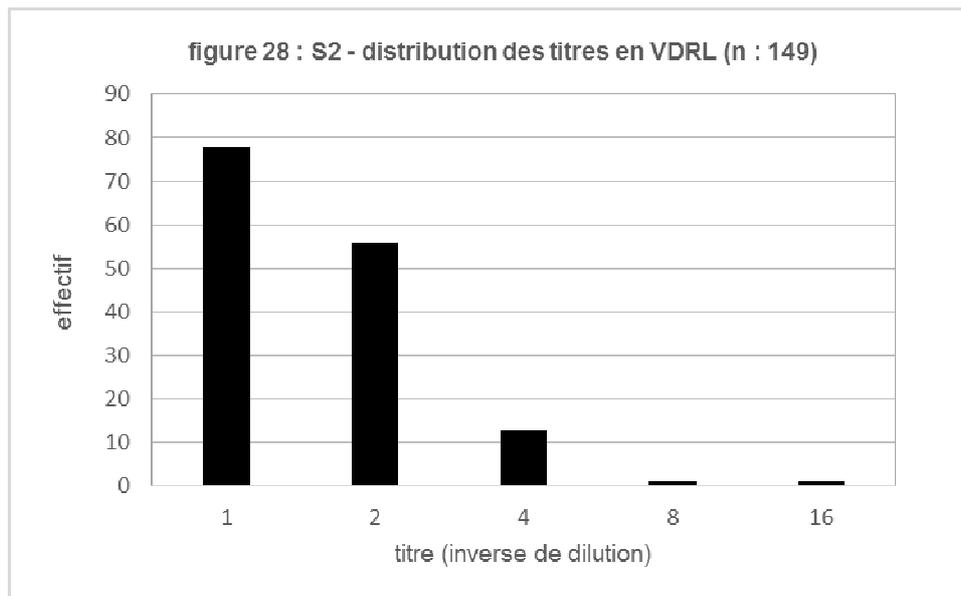


tableau XXII - Echantillon S2/ dépistages positifs en VDRL : titres obtenus selon le réactif utilisé

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)				
			1	2	4	8	16
RPR Carbon	ALERE	1		1			
VDRL Check	ALL DIAG	8	4	4			
RPR REDITEST	BIOKIT	12	4	5	3		
RPR TEST	BIOLYS	2			1	1	
RPR NOSTICON II	BIOMERIEUX	18	8	10			
VDRL LATEX	BIORAD	3	3				
RPR 100 ou 500	BIORAD	41	31	8	2		
RPR test Kit	CORTEZ DIAG	1	1				
RPR Carbon	CYPRESS DIAG	4		3	1		
SYPAL CB	DIAGAST	2		1	1		
RPR Charbon	ELITECH	13	6	5	1	1	
VDRL Charbon	EUROBIO	4	3	1			
RPR Card test	FUMOUIZE	33	16	13	4		
RPR Carbon	NADAL	1		1			
IMMUTREP RPR	OMEGA DIAG	2		2			
VDRL Charbon	OXOID	1	1				
SERVITEX RPR	SERVIBIO	3	1	2			
Total		149	78	56	13	1	1

## 2 - Réactions du groupe 2 : antigène tréponémique

Les techniques employées ainsi que le détail des réactifs correspondant à chaque technique sont rapportés dans le tableau XXIII. La place occupée par chacune de ces techniques en 2015 est comparée à celles des opérations de contrôle précédentes dans le tableau XXIV.

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

Enfin, pour S2, la distribution des titres obtenus en TPHA tous réactifs confondus est représentée figure 29, tandis que les titres obtenus en fonction du réactif utilisé sont rapportés dans le tableau XXVII.

tableau XXIII - Réactifs du groupe 2

Techniques / réactifs	Distributeur	Nombre utilisateurs
<b>TPHA (55,3%)</b>		
TPHA	Alere (spinreact)	5
TPHA Check	All Diag	33
Syphagen TPHA	Biokit	44
Syphagen TPHA auto	Biokit	3
TPHA	Biolys	9
Signal spirolipin	Biolys	1
TPHA 100	Biomérieux	32
TPHA 200 ou 500	Biorad	205
Syphilis TPHA OC 2000	Biorad	3
TPHA	Biotec	8
TPHA	Cypress diagnostics	13
TPHA	Elitech	32
TPHA 200T	Eurobio	6
Immutrep TPHA	Fumouze (Omega diagnostics)	35
TPHA Liquid	Fumouze (Human diagnostics)	4
TPHA	Nadal	1
TPHA	Oxoid	2
Servitex TPHA 200	Servibio	13
Cellognost TPHA	Siemens	1
<b>ELISA et apparentés : (33,2%)</b>		
Architect Syphilis TP	Abbott	108
Syphilis TP latex	Beckman Coulter	2
Syphilis EIA (G+M)	Bioadvance	1
Syphilis EIA (G)	Bioadvance	1
Syphilis Ac totaux EIA	Biorad	4
Chorus syphilis screen recombinant	BMD	2
LIAISON XL	Diasorin	1
LIAISON	Diasorin	67
ETI-TREPONEMA Plus	Diasorin	1
ICE Syphilis	Diasorin	3
Syphilis Screen Recomb	Ingen	2
Vitros TPA	Ortho Clinical diagnostics	5
Elecsys	Roche	30
Enzygnost syphilis	Siemens	2
Immulate 2000	Siemens	8
Advia Centaur	Siemens	33
<b>Immuno-chromatographie (7,0%)</b>		
Syphilitop Optima	All Diag	37
Syphilis test	Biolys	5
SD Biline Syphilis 3.0	Alere	3
Visitect	Elitech (Omega diagnostics)	5
Toyo syphilis	Servibio	7

<b>Immunoturbidimétrie (2,5%)</b>		
TPLA	Roche	20
<b>Agglutination sur particule (TPPA) (1,8%)</b>		
Serodia-TP.PA	Siemens	15
<b>réactif non précisé (0,2%)</b>		
<b>TOTAL</b>		<b>814</b>

**tableau XXIV** - Evolution de la place occupée par les différentes techniques entre 2004 et 2015 (réaction du groupe 2)

Technique	2004 (%)	2008 (%)	2009 (%)	2010 (%)	2013 (%)	2015 (%)
TPHA	82,9	77,1	76,7	73,8	68,4	55,3
Immunochromatographie	11,8	15,3	14,5	16,3	9,1	7,0
ELISA	0,3	4,1	6,0	7,3	17,2	33,2
TPLA	-	-	-	-	2,2	2,5
TPPA	4,1	2,7	2,3	2,1	1,9	1,8
FTA-abs	0,1	0,1	< 0,1	0	0,1	0
non précisée	0,8	0,7	0,5	0,5	1,1	0,2
Effectif	2712	2466	2146	1914	1047	814

**tableau XXV** - Sérologie de la syphilis : dépistage méthodes du groupe 2

	S1	S2
Réponse attendue	négatif	positif
Effectif	411	403
Dépistage « négatif »	<b>409 (99,6%)</b>	17 (4,2%)
Dépistage « positif »	1 (0,2%)	<b>377 (93,5%)</b>
Dépistage « douteux »	1 (0,2%)	9 (2,2%)

**tableau XXVI** - échantillon S2 / réaction du groupe 2 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé

		Douteux	Négatif	Positif	Total
<b>ELISA et apparentés :</b>					
ARCHITECT Syphilis TP	ABBOTT			<b>49</b>	49
SYPHILIS TP latex	BECKMAN			<b>1</b>	1
CHORUS SYPHILIS Screen Recomb	BMD			<b>1</b>	1
EIA Syphilis (G+M)	BIOADVANCE			<b>1</b>	1
EIA Syphilis (G)	BIOADVANCE			<b>1</b>	1
SYPHILIS Ac Totaux EIA	BIORAD			<b>3</b>	3
LIAISON	DIASORIN			<b>29</b>	29
ICE PACK Syphilis	DIASORIN			<b>2</b>	2
ETI TREPONEMA PLUS	DIASORIN			<b>1</b>	1
VITROS TPA	ORTHO CLIN. DIAG.			<b>2</b>	2
ELECSYS	ROCHE			<b>15</b>	15
ADVIA CENTAUR	SIEMENS			<b>14</b>	14
IMMULITE 2000	SIEMENS			<b>4</b>	4
ENZYGNOST Syphilis	SIEMENS			<b>2</b>	2
<b>IMMUNOCHROMATOGRAPHIE :</b>					
SYPHILITOP OPTIMA	ALL DIAG	4	4	<b>10</b>	18
SYPHILIS TEST	BIOLYS			<b>1</b>	1
VISITECT Syphilis	ELITECH		1	<b>2</b>	3
Toyo syphilis	SERVIBIO	1		<b>2</b>	3

<b>TPHA :</b>					
TPHA	ALERE			4	4
TPHA check	ALL DIAG		2	12	14
SYPHAGEN TPHA	BIOKIT	1	1	21	23
SYPHAGEN TPHA Auto	BIOKIT			2	2
TPHA	BIOLYS			6	6
TPHA 100	BIOMERIEUX	2		16	18
SYPHILIS TPHA 200 ou 500	BIORAD		2	105	107
SYPHILIS TPHA OC 2000	BIORAD			2	2
TPHA	BIOTEC			3	3
TPHA	CYPRESS DIAG.			7	7
TPHA	ELITECH		1	11	12
TPHA 200T	EUROBIO			4	4
TPHA Liquid	FUMOUIZE		1	2	3
IMMUTREP TPHA	FUMOUIZE		4	14	18
TPHA	NADAL			1	1
TPHA	OXOID			2	2
SERVITEX TPHA 200 ou 100	SERVIBIO	1		8	9
CELLOGNOST TPHA	SIEMENS		1		1
<b>TPLA :</b>					
TPLA	ROCHE			7	7
<b>TP.PA :</b>					
SERODIA-TP.PA	SIEMENS			9	9
<b>NON PRECISE :</b>					
				1	1
total		9	17	377	403

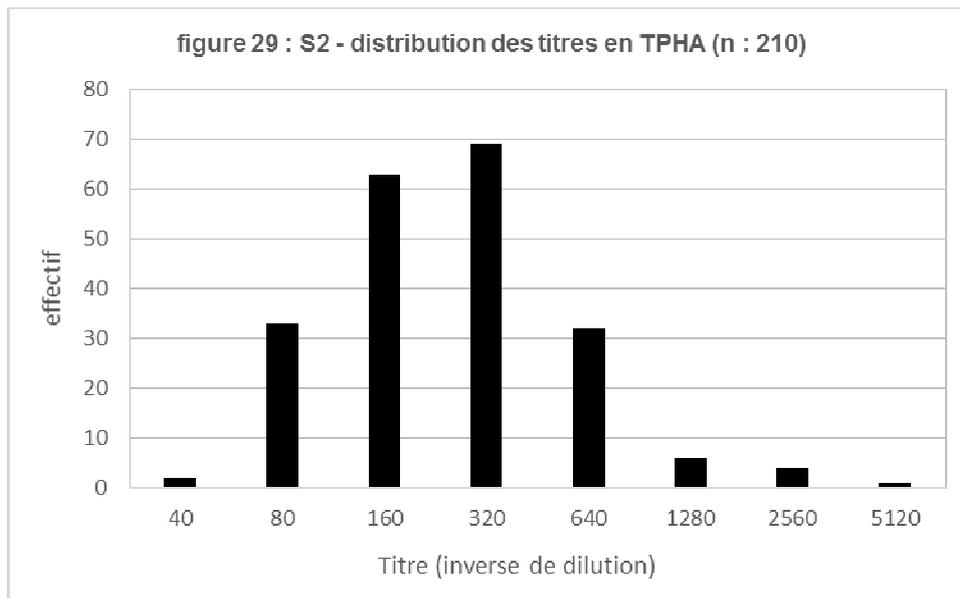


tableau XXVII - Echantillon S2/ dépistages positifs en TPHA : titres obtenus selon le réactif utilisé

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							
			40	80	160	320	640	1280	2560	5120
TPHA	ALERE	3		1	1			1		
TPHA check	ALL DIAG	12		5	7					
SYPHAGEN TPHA	BIOKIT	21		1	11	3	4	1	1	
SYPHAGEN TPHA Auto	BIOKIT	2				1	1			
TPHA	BIOLYS	6		1	2		3			

TPHA 100	BIOMERIEUX	13	1	3	7	2				
SYPHILIS TPHA 200 ou 500	BIORAD	101		13	27	44	15	1		1
SYPHILIS TPHA OC 2000	BIORAD	1		1						
TPHA	BIOTEC	3				3				
TPHA	CYPRESS DIAG.	7				4	3			
TPHA	ELITECH	9	1	4	2	2				
TPHA 200T	EUROBIO	3				3				
TPHA Liquid	FUMOUIZE	2		1	1					
IMMUTREP TPHA	FUMOUIZE	11		2	1	5	1	1	1	
TPHA	NADAL	1			1					
TPHA	OXOID	2		1	1					
SERVITEX TPHA 200 ou 100	SERVIBIO	5			2	2	1			
SERODIA-TP.PA	SIEMENS	8					4	2	2	
total		210	2	33	63	69	32	6	4	1

## Commentaires

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

En ce qui concerne l'échantillon S1 négatif en VDRL, on observe 99,7% de dépistages corrects (tableau XX).

Pour l'échantillon S2 qui a été détecté par les deux laboratoires experts comme « accrochant pur (titre = 1) et négatif au demi » en VDRL, la réponse attendue était dépistage « positif » ou « douteux ». Cet échantillon avec un titre faible correspondant au seuil de la technique a conduit à 50% de réponses « négatif », 45% « positif » et 5% « douteux ». L'analyse des réponses obtenues en fonction du réactif utilisé ne permet pas de mettre en évidence un éventuel défaut de sensibilité d'un réactif particulier (tableau XXI).

En ce qui concerne les dépistages positifs, 83% des laboratoires ont précisé le titre observé. Le titre modal tous réactifs confondus est égal à 1.

On note parmi les 22 LBM ayant répondu « douteux » que six ont indiqué un titre égal à 1 et auraient dû conclure à un dépistage « positif ».

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

Plusieurs techniques (TPHA, TPPA, ELISA, immunochromatographie) sont à la disposition des biologistes pour la réalisation d'un test tréponémique. Depuis 2004, on note une augmentation constante de l'utilisation des techniques ELISA (+30%) au détriment du TPPA (-2%) et surtout du TPHA (-28%) qui reste toutefois utilisé par plus de la moitié (55%) des participants. La baisse de fréquence de l'utilisation de l'immunochromatographie, constatée lors de l'opération de contrôle précédente en 2013 se confirme avec 7% d'utilisateurs (tableau XXIV). Elle est probablement due aux regroupements des LBM qui ont pour conséquence la nécessité d'utiliser des réactifs adaptés au traitement d'un grand volume d'échantillons.

L'échantillon négatif S1 avec 99,6% de dépistages corrects n'a pas posé de problème (tableau XXV).

Pour l'échantillon S2 de titre moyen (titrage des deux laboratoires experts en TPHA = 160-320), la réponse attendue était : dépistage positif.

Sur 403 réponses, on note 17 dépistages « négatif » et 9 « douteux ». L'analyse détaillée des résultats obtenus en fonction du réactif utilisé permet de distinguer d'une part les techniques ELISA, TP.PA et TPLA pour lesquelles on obtient 100% de dépistages « positif » et d'autre part, les techniques TPHA ou immunochromatographique dont les taux de dépistages « négatif » et « douteux » sont respectivement de 5% et 1,7% en TPHA et de 20% et 20% en immunochromatographie (tableau XXVI). La moindre sensibilité des tests de diagnostic rapide de la syphilis (immunochromatographie sur cassette ou bandelette) est régulièrement observée sur les échantillons proposés dans le cadre du CNQ. Néanmoins, les TDR sont de moins en moins utilisés comme test tréponémique (57 LBM sur 814 participants) et ne le seront plus lorsque la NABM concernant la sérologie de la syphilis sera modifiée et que l'association TNT + TT sera remplacée par un seul TT automatisable et reproductible en première ligne.

Par ailleurs, on note parmi les 4 LBM ayant répondu « douteux » en TPHA que deux ont indiqué un titre égal à 80 et auraient dû conclure à un dépistage « positif ».

Parmi les participants ayant rendu un dépistage positif ou douteux en TPHA, 93,8% ont précisé le titre trouvé. Le titre modal tous réactifs confondus est égal à 160-320.

A titre indicatif, les moyennes des valeurs rapportées par les participants utilisateurs de réactifs ELISA sont très supérieures aux cut-off (1 ou 1,1 selon le réactif) : Elecsys (49,5), Architect (15,8), Liaison (21,2), Advia Centaur (>45). Il en est de même avec le réactif TPLA de Roche : 197 Titer Units (cut-off = 10 TU).

## Bibliographie

- (1) Modification de la Nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de recherche du *Treponema pallidum* (bactérie responsable de la syphilis). Mai 2015.  
[http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-05/argumentaire\\_syphilis\\_vd.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-05/argumentaire_syphilis_vd.pdf)
- (2) Janier M, Hegyi V, Dupin N, Unemo M, Tiplica GS, Potočnik M, et al. 2014 European guideline on the management of syphilis. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014 Oct 27.  
[http://www.iusti.org/regions/europe/pdf/2014/JEADV\\_FINAL\\_28\\_10\\_2014.pdf](http://www.iusti.org/regions/europe/pdf/2014/JEADV_FINAL_28_10_2014.pdf)
- (3) Contrôle du marché des tests rapides d'orientation diagnostique de la syphilis. ANSM. janvier 2016  
<http://ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-du-marche-des-dispositifs-medicaux-et-dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro-DM-DMDIV/Dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro-Operations-d-evaluations-et-de-controle-du-marche/>