

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Identification bactérienne
Antibiogramme pneumocoque
Sérologie de la syphilis

Guillaume ARLET (Hôpital Tenon, Paris), Anne BIANCHI (Laboratoire Départemental, Conseil général 93),
Christophe de CHAMPS (CHU Robert Debré, Reims), Alexandre LECLERC (CNR Listeria, Paris), Emmanuelle
VARON (HEGP, Paris).
Muriel FROMAGE (Afssaps)

Expédition : 28 octobre 2009

Clôture : 23 novembre 2009

Edition des compte-rendus individuels : 02 mars 2010

Paramètres contrôlés : **Identification bactérienne** : *Listeria monocytogenes*

Antibiogramme : *Streptococcus pneumoniae* (PEN-I et PEN-R)

Sérologie de la syphilis

Nombre de laboratoires concernés* : 3699

Nombre de laboratoires participants** : 3557

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

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

Résumé de l'opération

Cette opération comportait une souche bactérienne lyophilisée à identifier : *Listeria monocytogenes*. On note 73% de diagnostics corrects, soit 4% de plus par rapport à l'envoi précédent en 2000.

En ce qui concerne l'antibiogramme, deux souches lyophilisées de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) ont été proposées : l'une présentait une résistance de bas niveau (PEN-I, CMI = 1 mg/l) associée à une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones, l'autre présentait une résistance de haut niveau (PEN-R, CMI = 4 mg/l) associée à une résistance aux fluoroquinolones.

Les résultats obtenus avec ces deux pneumocoques vis-à-vis de quatre bêta-lactamines (pénicilline, amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone), notamment l'interprétation des concentrations minimales inhibitrices en fonction du contexte clinique (infection respiratoire ou méningite), ont permis de mettre en évidence : d'une part que l'interprétation préconisée par le CA-SFM dans le cadre d'une méningite n'est pas adaptée à l'algorithme de décision thérapeutique (critères de choix de molécule et de posologie) proposé par la conférence de consensus sur la prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires ; d'autre part que l'interprétation « sensible à fortes doses » proposé par le CA-SFM dans le cadre d'une infection respiratoire est ambiguë et mériterait d'être clarifiée.

En ce qui concerne les fluoroquinolones, près de la moitié des participants ont testé la norfloxacine afin de détecter une éventuelle diminution de la sensibilité du pneumocoque. Si l'on exclut les laboratoires qui n'ont pas interprété le résultat du test (4,5%), on note respectivement 15% et 6% d'interprétation erronée « sensible aux fluoroquinolones » pour la souche de sensibilité diminuée d'une part et pour la souche résistante d'autre part.

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). Chaque laboratoire ayant déclaré réaliser cette sérologie a reçu un des quatre échantillons.

Avec près de 99% de dépistages corrects, les résultats obtenus en VDRL sont très satisfaisants pour les échantillons négatifs en VDRL et négatif ou douteux en TPHA (respectivement S2 et S3). En revanche, on note pour l'échantillon VDRL négatif et TPHA positif (S1), une proportion non négligeable (9%) de dépistages VDRL faussement positifs ou douteux. 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. Enfin, le seul échantillon positif en VDRL (S4) avec un titre modal égal à 2 n'a pas été dépisté « positif » par un laboratoire sur quatre.

Les résultats obtenus en dépistage TPHA sont excellents avec l'échantillon négatif et l'échantillon fortement positif (640). En revanche, l'échantillon de titre plus faible (160-320) a été dépisté négatif à tort par 7,4% 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 de l'échantillon

Bactérie	N° des échantillons	Renseignements cliniques
Listeria monocytogenes	123, 172, 200, 284, 309, 375, 401, 463, 511, 536, 610, 624, 741, 776, 851, 879	Bactérie isolée d'une hémoculture chez un patient de 73 ans présentant un diabète non insulino-dépendant et hospitalisé pour une hyperthermie avec des frissons apparus 3 jours auparavant. Dans le mois précédant son hospitalisation, il avait été noté la survenue progressive d'une altération de l'état général avec une asthénie.

Résultats des participants

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants ainsi que les diagnostics obtenus selon le système d'identification utilisé sont présentés dans les tableaux I et II. Les résultats obtenus, lors des cinq envois précédents d'une souche de *L. monocytogenes* sont rapportés dans le tableau III.

tableau I - identification bactérienne : fréquence des résultats

Réponse attendue	Genre exact				Autres	Total identifications
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée	Total		
Listeria monocytogenes	2109 (72,6%)	13 * (0,4%)	525 (18,1%)	2647 (91,1%)	258 ** (8,9%)	2905 (100%)

* : 7 « *L. innocua* », 5 « *L. grayi* » et 1 « *L. ivanovii* ».

** : dont 71 (2,4%) « *Corynebacterium sp.* » et 53 (1,8%) « bacille à Gram positif »

tableau II - identification selon la technique utilisée

Méthode utilisée (effectif > 10)	Total	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria sp.</i>	<i>Listeria</i> autre espèce	Autres
Galeries :					
API Coryne bioMérieux	731	663	58	7	3
API Listeria bioMérieux	74	72	1	1	-
API 20E bioMérieux	26	15	7	-	4
API 32E bioMérieux	12	4	3	1	4
API Strep 32 bioMérieux	103	7	93	-	3
API Strep 20 bioMérieux	74	14	59	-	1
API Strep non précisé	34	8	25	-	1
API non précisée	256	169	64	1	22
BBL Crystal Becton Dickinson	27	26	-	1	-
galerie non précisée	28	19	3	-	6
Automates :					
Vitek 2 Compact bioMérieux	602	590	4	2	6
Vitek 2 bioMérieux	252	244	5	-	3
Phoenix Becton Dickinson	34	31	3	-	-
Microscan Siemens	23	21	1	-	1
Autre méthode *	519	187	186	-	146

* : identification traditionnelle dichotomique avec choix personnel des caractères étudiés (pas de galerie, ni d'automate).

tableau III - bilan des six opérations de contrôle « *Listeria monocytogenes* ».

Année	Présentation *	Effectif	Espèce exacte (%)	Espèce non précisée (%)	Genre exact (%)
2009	M	2905	73	18	91
2000	M	998	69	24	94
1993	P	949	68	22	91
1988	M	915	68	18	87
1981	P	NC **	56	NC	71
1980	M	NC	62	NC	81

* : échantillon monomicrobien (M) ou plurimicrobien (P)

** : non communiqué

Commentaires

La définition d'un cas de listériose en Europe se fonde sur (i) l'isolement de *Listeria monocytogenes* à partir d'un site physiologiquement stérile ou (ii) l'isolement de *L. monocytogenes* à partir d'un site physiologiquement non stérile chez un fœtus, un enfant mort-né, un nouveau-né ou chez sa mère 24 heures après la naissance ou dans les 24 heures de la naissance (Annexe de la décision 2008/426/CE de la Commission Européenne). En France, la définition de l'Institut de Veille Sanitaire d'un cas confirmé de listériose se fonde sur l'isolement de *Listeria monocytogenes* dans un prélèvement clinique (sang, LCR, liquide amniotique, placenta, etc.). L'identification de la bactérie revêt donc une importance cruciale pour réaliser la déclaration obligatoire et l'envoi au CNR des *Listeria* (Institut Pasteur, Paris) qui procèdera à la confirmation de l'identification, au groupage PCR (sérotypage moléculaire) et au typage moléculaire standardisé par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) après digestion de l'ADN génomique par les enzymes *Ascl/Apal*.

Le genre *Listeria* comporte 8 espèces : *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* (*subsp. ivanovii* et *londoniensis*), *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* (*subsp. grayi* et *murrayi*), *L. marthii* et *L. rocourtiae*. En ce qui concerne ces deux dernières espèces et les sous-espèces, la majorité des galeries d'identification ne les identifient pas correctement. Les espèces pathogènes pour l'homme sont principalement *L. monocytogenes*, plus rarement *L. ivanovii subsp. ivanovii* (Guillet C. et al. 2010. Human listeriosis caused by *Listeria ivanovii*. *Emerg. Infect. Dis.* 16 :136-138).

Les *Listeria* sont des petits bacilles courts et réguliers à Gram positif aéro-anaérobie, non sporulants, poussant facilement entre 30°C et 37°C et donnant des petites colonies de 1 à 2 mm après 24 à 48h de culture sur gélose au sang de cheval de préférence (ou au sang de mouton). Les bacilles sont isolés ou regroupés en courtes chaînettes formant parfois un angle (V) entre eux. Dans le cas d'un stress lié à un traitement antibiotique ou une culture sur milieu à l'esculine ou lors d'infections sur prothèses, il peut être observé un dimorphisme des colonies qui se répartissent en grosses et petites colonies. Les deux types de colonies sont à envoyer au CNR car elles peuvent présenter des caractéristiques microbiologiques distinctes. Elles sont mobiles à 22-25°C, immobiles à 37°C, oxydase négative et sauf exception, elles sont catalase positive. Leur absence d'acido-alcool résistance les différencie notamment des *Nocardia*. Les colonies de 24h sur gélose nutritive ont un diamètre de 0,5-1,5 mm et sont arrondies à bords réguliers, translucides ainsi que faiblement convexes. Elles paraissent gris bleuté par illumination normale, sauf *L. grayi* qui peut présenter une pigmentation jaune.

Lors de cette opération de contrôle, la souche de *L. monocytogenes* a été correctement identifiée par 73% des laboratoires participants (+ 4% par rapport à l'envoi précédent). Néanmoins, on note que près d'un laboratoire sur cinq s'arrête encore au genre *Listeria*. Le caractère hémolytique d'une bactérie appartenant au genre *Listeria* est un argument en faveur de *L. monocytogenes*.

Une cause classique d'erreur, en particulier à partir des prélèvements des patients, est l'orientation prise à partir de l'examen direct après coloration de Gram, vers le genre *Corynebacterium* ou *Streptococcus* (tableau IV) voire d'un bacille à Gram négatif. Cette dernière hypothèse est rapidement corrigée par l'examen direct de la culture.

Sauf exception, les laboratoires qui ont rendu *Streptococcus* ou *Corynebacterium sp.* ne précisent pas le système d'identification utilisé.

Certains laboratoires rendent *L. grayi*, *L. innocua* ou *Listeria sp.* après utilisation de la galerie API CORYNE ou API STREP (bioMérieux). L'observation de la β -hémolyse aurait dû les orienter vers *L. monocytogenes*, même si, pour certaines galeries, cette identification n'est pas clairement proposée, en dehors d'un tableau récapitulatif comportant notamment la réalisation d'un CAMP-test et d'un test d'utilisation du rhamnose. L'utilisation de l'API CORYNE seule n'est pas recommandée par le CNR *Listeria* car elle présente un risque de confusion entre les espèces *grayi* et *monocytogenes*. Il faut absolument réaliser les tests complémentaires d'hémolyse et d'esculine. Moins de 1% des souches de *Listeria monocytogenes* sont non hémolytiques et/ou sont rhamnose positives. Devant un résultat douteux ou une identification de *L. grayi*, la souche doit être adressée dès que possible au CNR.

L. grayi est la seule espèce mannitol positive du genre *Listeria*.

Il faut faire attention de ne pas rendre trop facilement *Corynebacterium sp.*, qui sont immobiles. L'hydrolyse rapide de l'esculine (2 à 3h) par la β -glucosidase que l'on trouve dans certaines galeries est un élément important du diagnostic du genre *Listeria*. Cependant, il existe des *Listeria* qui hydrolysent lentement l'esculine ou dont l'esculétine inhibe la formation de colonies (Siragusa, G.R. et al. 1990. Petite colony formation by *Listeria monocytogenes* and *Listeria* species grown on esculin-containing agar. Can. J. Microbiol, 36, 697-703).

La β -hémolyse (24h, 37°C) qui peut apparaître parfois plus tardivement, en 48h, par piqûre d'une gélose au sang de cheval et de mouton est observée uniquement chez *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* et *L. seeligeri*. Une lecture en 48h accentue le risque de confusion entre *L. monocytogenes* et *L. ivanovii*.

L. ivanovii présente une hémolyse plus marquée que *Listeria monocytogenes*. Une réaction faible ou douteuse de β -hémolyse peut être résolue par le CAMP-test.

L'identification correcte de l'espèce *monocytogenes* se fonde sur les trois tests : β -hémolyse (Hly), rhamnose (Rha) et xylose (Xyl). L'espèce *monocytogenes* présente les réactions suivantes sur ces trois tests : Hly⁺, Rha⁺, Xyl⁻ comme biotype normal, et Hly⁺, Rha⁻, Xyl⁻ ou Hly⁻, Rha⁺, Xyl⁻ pour de rares biotypes (tableau V).

Le test de Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP test) est un test de référence pour identifier les espèces de *Listeria*. Il consiste à ensemencer une gélose au sang de mouton avec un inoculum de *Staphylococcus aureus* β -hémolytique (CIP 57.10) et un inoculum de *Rhodococcus equi* (CIP 58.69) en un seul trait en traçant des lignes parallèles. Les souches stipulées ne peuvent être remplacées par d'autres souches sans mettre en cause la fiabilité du résultat. Les ensemencements doivent être suffisamment séparés pour permettre la lecture des souches témoins (*L. ivanovii* et *L. monocytogenes*) qui seront ensemencées perpendiculairement entre les 2 microorganismes indicateurs, en prenant soin qu'elles ne se touchent pas (séparation de 1 à 2 mm). Après une incubation de 24 à 48h à 37°C, on observe avec *L. monocytogenes* une augmentation de la zone de β -hémolyse de la souche de *S. aureus* ; tandis qu'avec *L. ivanovii*, on observe une augmentation de la zone de β -hémolyse de *R. equi* (image en "pelle"). Notons cependant que de rares souches de *L. monocytogenes* ont une réaction de β -hémolyse positive avec *R. equi*. Quelques souches de *L. seeligeri* peuvent éventuellement donner le même résultat que *L. monocytogenes*.

Enfin, il serait possible d'utiliser des méthodes alternatives aux méthodes classiques d'identification bactérienne par les caractères phénotypiques telles que l'identification des *Listeria monocytogenes* au moyen du séquençage standard des gènes 16S rDNA, de la détection du gène de la listériolysine et de la spectrométrie de masse MALDI-TOF. L'évaluation fiable des critères de performance permettant de valider ces méthodes alternatives nécessite l'établissement d'un référentiel et d'études complémentaires aux données actuellement incluses dans la littérature.

tableau IV - diagnostic différentiel *L. monocytogenes*, streptocoques, corynebactéries.

	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Corynebacterium sp.</i>
Catalase	+	-	+
β -hémolyse	+	+/-	- ^a
Mobilité à 22°C	+	-	-
Esculine	+	+ ^b	-

^a *Arcanobacterium sp.* produit une hémolyse- β mais est retrouvé plutôt dans les prélèvements de gorge.

^b *Streptococcus sp.* du groupe D

tableau V - diagnostic différentiel des huit espèces du genre *Listeria*

Espèces	β-hémolyse	Production d'acide		Test CAMP	
		Rhamnose	Xylose	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+	-
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	+	-	+
<i>L. seeligeri</i>	(+)	-	+	(+)	-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-	-
<i>L. grayi</i> subsp. <i>grayi</i>	-	-	-	-	-
<i>L. grayi</i> subsp. <i>murrayi</i>	-	V	-	-	-
<i>L. marthii</i>	-	-	-	-	-
<i>L. rocourtiae</i>	-	-	-	-	-

V : variable ; (+) : réaction faible ; + : >90% réactions positives ; - : pas de réaction

Antibiogramme

Définition des échantillons

Deux souches de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) ont été proposées. L'une présentait une résistance de bas niveau (PEN-I, CMI = 1 mg/l) associée à une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones, l'autre présentait une résistance de haut niveau (PEN-R, CMI = 4 mg/l).

Les numéros d'échantillons correspondant à chacune des deux souches sont les suivants :

- Lot 1 (PEN-I) : 137, 321, 494, 520, 697, 764, 813, 956.
- Lot 2 (PEN-R) : 161, 298, 482, 542, 663, 727, 832, 995.

Il était demandé aux laboratoires participants de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de quatre bêta-lactamines (pénicilline [PEN], amoxicilline [AMX], céfotaxime [CTX], ceftriaxone [CRO]) puis d'interpréter les CMI obtenues en termes de catégorisation clinique (S, I ou R), dans le cas d'une infection respiratoire d'une part et dans le cas d'une méningite d'autre part.

Les laboratoires devaient également tester la sensibilité de la souche vis-à-vis de la norfloxacine afin de choisir une des deux interprétations proposées : « souche sensible aux fluoroquinolones » ou « souche de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones ».

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

Les résultats des experts - Pr G. ARLET, Paris, Pr C. de CHAMPS, Reims, Dr E. VARON, Paris - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans les tableaux VI à VIII. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée à l'aide des réactifs Etest (BioMérieux) ou MICE (Oxoid) et par la méthode de dilution en gélose.

tableau VI - détermination et interprétation des CMI de quatre bêta-lactamines : résultats des experts

Bêta-lactamines	CMI (mg/l)	Concentrations critiques (mg/l)		Interprétation en cas :	
				d'infection respiratoire	de méningite

Pneumocoque lot 1 (PEN-I)					
Pénicilline G	1	≤ 0,06	> 2	I	R ^(b)
Amoxicilline	1	≤ 0,5	> 2	I	R ^(b)
Céfotaxime	0,5 - 1	≤ 0,5	> 2	S / I ^(a)	S / R ^(b)
Ceftriaxone	0,5 - 1	≤ 0,5	> 2	S / I ^(a)	S / R ^(b)

Pneumocoque lot 2 (PEN-R)					
Pénicilline G	4	≤ 0,06	> 2	R	R
Amoxicilline	4	≤ 0,5	> 2	R	R
Céfotaxime	1 - 2	≤ 0,5	> 2	I	R ^(b)
Ceftriaxone	1	≤ 0,5	> 2	I	R ^(b)

(a) : en fonction de la CMI trouvée, la souche peut être catégorisée « S » (CMI = 0,5) ou « I » (CMI =1).

(b) : la souche catégorisée comme intermédiaire doit être considérée comme résistante en cas de méningite mais sensible à fortes doses en cas d'infection respiratoire (recommandations du CA-SFM).

tableau VII - sensibilité à la norfloxacine et interprétation : résultats des experts

	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (mg/l)	Interprétation
Pneumocoque lot 1 (PEN-I)	6 (R contact)	≥ 256	Sensibilité diminuée aux fluoroquinolones
Pneumocoque lot 2 (PEN-R)	6 (R contact)	≥ 256	

Le dépistage des pneumocoques de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est réalisé par la mesure de la sensibilité à la norfloxacine. Si le diamètre autour du disque (5µg) est inférieur à 10 mm et/ou si la CMI est > 16 mg/l, il existe un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique.

tableau VIII - antibiogramme : résultats des experts

Antibiotiques	Pneumocoque PEN-I		Pneumocoque PEN-R	
	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Erythromycine	R	R	R	R
Lincomycine	I / R	R	R	R
Pristinamycine	S	S	S	S
Télithromycine	S	S	S	S
Cotrimoxazole	R	R	R	R
Vancomycine	S	S	S	S
Chloramphénicol	S	S	S	S
Lévofloxacine	S	*	R	R
Moxifloxacine	S	*	R	R

* : risque de sélection de mutants résistants in vivo et d'échec clinique car souche de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones.

Résultats des participants

1 - Bêta-lactamines : CMI et interprétation

Sur 2136 laboratoires participants, 1688 soit 79% ont déterminé la CMI d'au moins une des quatre bêta-lactamines proposées. Les combinaisons le plus souvent testées sont rapportées dans le tableau IX.

Il s'agit de PEN + AMX + CTX (52,5%) suivie de PEN + AMX + CTX + CRO (38,9%). Le nombre de laboratoires ayant rendu des CMI pour les quatre bêta-lactamines est probablement légèrement surestimé car certains d'entre eux ont extrapolé, à tort, la CMI de la ceftriaxone à partir de la CMI du céfotaxime.

La distribution des CMI obtenues en fonction du réactif utilisé est détaillée pour chacune des quatre bêta-lactamines respectivement dans le tableau X pour le pneumocoque du lot 1 (PEN-I) et le tableau XI pour le pneumocoque du lot 2 (PEN-R). Seules les CMI correspondant à des réactifs précis et adéquats de type automates (Vitek 2, Vitek 2C, Phoenix, Microscan), galeries (ATB peumo) ou bandelettes (Etest, MICE) ont été prises en compte. Pour améliorer la lisibilité des tableaux, la réponse attendue apparaît en grisé et les limites des concentrations critiques sont marquées d'un trait gras.

En ce qui concerne la catégorisation clinique (S, I ou R) des deux pneumocoques vis-à-vis de chaque bêta-lactamine en fonction du contexte clinique d'isolement : infection respiratoire ou méningite, les résultats globaux sont rassemblés dans le tableau XII pour le pneumocoque du lot 1 (PEN-I) et dans le tableau XIII pour le pneumocoque du lot 2 (PEN-R). Les réponses attendues apparaissent en grisé.

Enfin, le détail des interprétations (S, I ou R) en fonction de la CMI trouvée est rapporté dans les tableaux XIV à XVII et XVIII à XXI, respectivement pour le lot 1 et le lot 2.

tableau IX - CMI : combinaisons de bêta-lactamines le plus souvent testées (effectif > 20)

Combinaisons	Effectif (%)
PEN + AMX + CTX	886 (52,5)
PEN + AMX + CTX + CRO *	656 (38,9)
PEN + AMX + CRO	38 (2,2)
AMX + CTX + CRO *	27 (1,6)
Autres combinaisons	81 (4,8)
Total	1688 (100,0)

* : les effectifs correspondant à ces 2 combinaisons sont à prendre avec précaution car certains laboratoires extrapolent à tort la CMI de CRO à partir de la CMI de CTX.

tableau X - Pneumocoque lot 1 : distribution des CMI des quatre bêta-lactamines en fonction du réactif utilisé

CMI (mg/l)	Pénicilline G															
	Vitek 2		Vitek 2C		ATB pneumo		E test		MICE		Phoenix		Microscan		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<ou= 0,06					1	0,3							2	18,2	3	0,4
0,12	3	4,8			2	0,6	4	2,2					1	9,1	10	1,3
0,25	4	6,3	25	15,8	6	1,9	7	3,8	1	2,6			2	18,2	45	5,7
0,5	9	14,3	14	8,9	30	9,7	50	26,9	5	12,8			2	18,2	110	14,0
1	8	12,7	21	13,3	108	35,0	92	49,5	10	25,6			3	27,3	242	30,7
2	8	12,7	22	13,9	143	46,3	25	13,4	20	51,3	2	9,5	1	9,1	221	28,1
4					15	4,9	6	3,2	3	7,7	19	90,5			43	5,5
> 4					3	1,0	2	1,1							5	0,6
> ou = 2 *	31	49,2	76	48,1	1	0,3									108	13,7
Total	63	100,0	158	100,0	309	100,0	186	100,0	39	100,0	21	100,0	11	100,0	787	100,0

* : changement de concentration critique haute de 1 à 2 mg/l en 2009, non prise en compte sur le Vitek2 et 2C

CMI (mg/l)	Amoxicilline															
	Vitek 2		Vitek 2C		ATB pneumo		E test		MICE		Phoenix		Microscan		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 0,5	7	11,1	16	9,8	6	1,9	15	7,9	3	7,7			2	50,0	49	6,2
0,5	5	7,9	7	4,3	14	4,6	76	40,0	12	30,8					114	14,4
1	36	57,2	106	64,6	175	56,8	82	43,2	19	48,7	1	4,8	2	50,0	421	53,4
2	6	9,5	26	15,9	106	34,4	15	7,9	5	12,8	20	95,2			178	22,6
> ou = 4	9	14,3	9	5,4	7	2,3	2	1,0							27	3,4
Total	63	100,0	164	100,0	308	100,0	190	100,0	39	100,0	21	100,0	4	100,0	789	100,0

CMI (mg/l)	Céfotaxime															
	Vitek 2		Vitek 2C		ATB pneumo		E test		MICE		Phoenix		Microscan		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 0,5	12	18,5	30	18,4	17	5,7	42	25,0	7	17,9	1	4,8	6	60,0	115	15,0
0,5	16	24,6	24	14,8	86	28,7	83	49,4	21	53,8	2	9,5	2	20,0	234	30,6
1	35	53,8	101	62,0	139	46,3	34	20,2	7	17,9	6	28,6	2	20,0	324	42,3
2	1	1,5	3	1,8	54	18,0	7	4,2	3	7,7	12	57,1			80	10,4
> ou = 4	1	1,5	5	3,0	4	1,3	2	1,2	1	2,6					13	1,7
Total	65	100,0	163	100,0	300	100,0	168	100,0	39	100,0	21	100,0	10	100,0	766	100,0

CMI (mg/l)	Ceftriaxone									
	Vitek 2		Vitek 2C		E test		MICE		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 0,5	11	15,6	24	14,6	17	21,8	1	33,3	53	16,7
0,5	27	38,0	42	25,5	33	42,3			102	32,2
1	25	35,2	89	53,9	21	26,9	1	33,3	136	42,9
2	6	8,5	1	0,6	6	7,7	1	33,3	14	4,4
> ou = 4	2	1,8	9	5,4	1	1,3			12	3,8
Total	71	100,0	165	100,0	78	100,0	3	100,0	317	100,0

tableau XI - Pneumocoque lot 2 : distribution des CMI des quatre bêta-lactamines en fonction du réactif utilisé

CMI (mg/l)	Pénicilline G															
	Vitek 2		Vitek 2C		ATB pneumo		E test		MICE		Phoenix		Microscan		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< ou = 0,06			3	2,3	4	1,2	1	0,6							8	1,1
0,12	1	2,2			5	1,5									6	0,8
0,25	5	11,4	16	12,3	5	1,5									26	3,6
0,5	5	11,4	8	6,2	15	4,5	3	1,9							31	4,2
1	5	11,4	16	12,3	31	9,4	4	2,5	1	2,1					57	7,8
2	5	11,4	13	10,0	73	22,1	34	21,5	4	8,3	2	13,3	3	60,0	134	18,3
4	3	6,7	4	3,1	153	46,2	84	53,1	12	25,1	9	60,0	2	40,0	267	36,5
8			1	0,8	3	0,9	26	16,5	14	29,2	4	26,7			48	6,6
> 4					39	11,8									39	5,3
> 8							6	3,8	17	35,4					23	3,2
> ou = 2 *	20	45,5	69	53,1	3	0,9									92	12,6
Total	44	100,0	130	100,0	331	100,0	158	100,0	48	100,0	15	100,0	5	100,0	731	100,0

* : changement de concentration critique haute de 1 à 2 mg/l en 2009, non prise en compte sur le Vitek2 et 2C

CMI (mg/l)	Amoxicilline															
	Vitek 2		Vitek 2C		ATB pneumo		E test		MICE		Phoenix		Microscan		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< ou = 0,5	11	25,6	12	9,1	23	7,1	1	0,6			1	6,7			48	6,6
1	4	9,3	16	12,1	16	4,9	7	4,3	2	3,8					45	6,1
2	14	32,6	47	35,6	52	16,0	53	32,9	16	30,8	1	6,7			183	25,0
4	9	20,9	12	9,1	158	48,5	95	59,0	30	57,7	12	80,0	2	50,0	318	43,4
8			4	3,0	1	0,3	5	3,1	4	7,7	1	6,7	2	50,0	17	2,3
> ou = 4	5	11,6	37	28,1											42	5,7
> 4					76	23,3									76	10,4
> 8			4	3,0											4	0,5
Total	43	100,0	132	100,0	326	100,0	161	100,0	52	100,0	15	100,0	4	100,0	733	100,0

CMI (mg/l)	Céfotaxime															
	Vitek 2		Vitek 2C		ATB pneumo		E test		MICE		Phoenix		Microscan		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 0,5	4	8,7	23	16,9	20	6,2	3	1,9	2	4,1					52	7,1
0,5	2	4,3	9	6,6	16	4,9	8	5,2	6	12,2	1	6,7	2	40,0	44	6,0
1	21	45,7	45	33,1	81	25,0	91	58,7	22	44,9	2	13,3	1	20,0	263	36,0
2	11	23,9	30	22,1	192	59,3	47	30,3	17	34,7	11	73,3			308	42,2
> ou = 4	8	17,4	29	21,3	15	4,6	6	3,9	2	4,1	1	6,7	2	40,0	63	8,7
Total	46	100,0	136	100,0	324	100,0	155	100,0	49	100,0	15	100,0	5	100,0	730	100,0

CMI (mg/l)	Ceftriaxone									
	Vitek 2		Vitek 2C		E test		MICE		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 0,5	1	2,0	23	16,8	1	1,4			25	9,6
0,5	13	27,1	28	20,4	9	12,7			50	19,2
1	16	33,3	46	33,6	46	64,8	4	100,0	112	43,1
2	7	14,6	4	2,9	15	21,1			26	10,0
> ou = 4	11	23,0	36	26,3					47	18,1
Total	48	100,0	137	100,0	71	100,0	4	100,0	260	100,0

tableau XII - Pneumocoque lot 1 : catégorisation clinique en fonction du type d'infection (résultats globaux)

Bêta-lactamines	Catégorisation clinique	Type d'infection	
		respiratoire	méningite
Pénicilline G	effectif	873	859
	S (%)	15,8	1,6
	I (%)	41,5	4,9
	R (%)	42,7	93,5
Amoxicilline	effectif	868	851
	S (%)	40,4	16,7
	I (%)	53,5	8,0
	R (%)	6,1	75,3
Céfotaxime	effectif	846	832
	S (%)	60,0	42,6
	I (%)	37,2	6,4
	R (%)	3,8	51,0
Ceftriaxone	effectif	419	409
	S (%)	56,8	42,3
	I (%)	38,7	7,8
	R (%)	4,5	49,9

tableau XIII - Pneumocoque lot 2 : catégorisation clinique en fonction du type d'infection (résultats globaux)

Bêta-lactamines	Catégorisation clinique	Type d'infection	
		respiratoire	méningite
Pénicilline G	effectif	832	821
	S (%)	8,5	1,9
	I (%)	14,4	1,1
	R (%)	77,1	97,0
Amoxicilline	effectif	829	821
	S (%)	15,1	6,2
	I (%)	23,4	3,5
	R (%)	61,5	90,3
Céfotaxime	effectif	819	807
	S (%)	38,0	13,0
	I (%)	52,2	9,3
	R (%)	9,8	77,7
Ceftriaxone	effectif	378	371
	S (%)	43,9	24,0
	I (%)	39,7	6,2
	R (%)	16,4	69,8

tableau XIV - Pneumocoque lot 1 / Pénicilline G : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,06	3	2	1			2			1
0,12	10		6	3	1		1		8
0,25	45		9	35	1		2		37
0,5	110		30	76	4	3	3	9	95
1	242	4	52	163	23	5	1	18	218
2	221	1	15	41	164	5		2	214
> ou = 2	108	2			106	4			104
> ou = 4	48		1	2	45				48
Total	787	9	114	320	344	19	7	36	725

tableau XV - Pneumocoque lot 1 / Amoxicilline : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,5	163	3	147	13		7	119	16	21
1	421	7	112	292	10	12	5	34	370
2	178	2	48	117	11	5		11	162
> 2	27	1			26	1			26
Total	789	13	307	422	47	25	124	61	579

tableau XVI - Pneumocoque lot 1 / Céfotaxime : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,5	349	2	328	19		11	301	5	32
1	324	3	93	223	5	7	11	36	270
2	80	4	24	45	7	4	3	5	68
> 2	13				13				13
Total	766	9	445	287	25	22	315	46	383

tableau XVII - Pneumocoque lot 1 / Ceftriaxone : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,5	155	2	145	7	1	4	130	4	17
1	136	3	25	105	3	5	4	20	107
2	14		1	13					14
> ou = 4	12	1			11	1			11
Total	317	4	173	125	15	10	134	24	149

tableau XVIII - Pneumocoque lot 2 / Pénicilline G : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,06	8	1	6	1		1	5		2
0,12	6		2	3	1				6
0,25	26	1	7	16	2		2		24
0,5	31		11	19	1		1	2	28
1	57		20	31	6		1		56
2	134	3	5	19	107	4			130
4	267		2	2	263	2		1	264
> ou = 2	92	1		1	90	5			87
> 4	110	1		3	106	1			109
Total	731	7	53	95	576	13	6	6	706

tableau XIX - Pneumocoque lot 2 / Amoxicilline : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,5	48	2	42	3	1	1	33	2	12
1	45		12	30	3	2		7	36
2	183	1	39	121	22	1	1	14	167
4	318	3	5	5	305	6	1		311
8	17				17				17
> ou = 4	42	1		2	39	1			41
> 4	76				76				76
> 8	4				4				4
Total	733	7	98	161	467	11	35	23	664

tableau XX - Pneumocoque lot 2 / Céfotaxime : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,5	96	4	89	3		5	77	5	9
1	263	2	73	186	2	6	8	36	213
2	308	3	104	190	11	4	1	21	282
> ou = 4	63	1	3	1	58	2	1		60
Total	730	10	269	380	71	17	87	62	564

tableau XXI - Pneumocoque lot 2 / Ceftriaxone : catégorisation clinique en fonction de la CMI et du contexte clinique

CMI (mg/l)	effectif	Infection respiratoire				méningite			
		vide	S	I	R	vide	S	I	R
< ou = 0,5	75	1	72	2		4	56	5	10
1	112		24	87	1	4	1	8	99
2	26		1	24	1			2	24
> ou = 4	47	2	1		44	1			46
Total	260	3	98	113	46	9	57	15	179

2 - Sensibilité aux fluoroquinolones

Sur les 2136 laboratoires participants, 999 soit (46,8%) ont testé la norfloxacine afin de détecter une éventuelle sensibilité diminuée du pneumocoque aux fluoroquinolones, comme le recommande le CA-SFM. Le pourcentage de laboratoires ayant conclu « souche sensible aux fluoroquinolones » ou « souche de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones » pour chacune des deux souches est rapporté dans le tableau XXII (la réponse attendue apparaît en gras).

tableau XXII - Interprétation de la sensibilité à la Norfloxacine

Interprétation	Pneumocoque lot 1 (%)	Pneumocoque lot 2 (%)
« Sensible aux fluoroquinolones »	71 (14,4)	30 (5,9)
« Sensibilité diminuée aux fluoroquinolones »	400 (81,0)	443 (87,7)
Absence d'interprétation *	23 (4,6)	22 (4,4)
total	494	505

* : pour chaque souche, environ 75% des laboratoires auraient du interpréter « sensibilité diminuée » au vu des résultats obtenus pour la norfloxacine.

3 - Antibiotiques autres que les bêta-lactamines

Les réactifs utilisés par les laboratoires participants pour réaliser l'antibiogramme d'un pneumocoque sont détaillés dans le tableau XXIII.

Les résultats obtenus, tous réactifs confondus, sont rassemblés pour chacune des deux souches dans les tableaux XXIV et XXV (la réponse attendue apparaît en gras).

tableau XXIII - Réactifs utilisés pour l'antibiogramme Pneumocoque

Réactif	Effectif (%)
Automates :	
Vitek 2 Compact BioMérieux	338 (15,9)
Vitek 2 BioMérieux	159 (7,4)
Phoenix Becton Dickinson	45 (2,1)
Microscan Siemens	19 (0,9)
Disques :	
Biorad	368 (17,2)
Oxoïd	38 (1,8)
I2a	32 (1,5)
BioMérieux	30 (1,4)
Sobioda	14 (0,7)
Eurobio	7 (0,3)
Mast	1 (< 0,05)
Galleries :	
ATB Pneumo BioMérieux	700 (32,8)
ATB STREP BioMérieux	215 (10,1)
Réactifs autres	3 (0,1)
Réactif non précisé	167 (7,8)
Total	2136 (100)

tableau XXIV - antibiogramme Pneumocoque lot 1 (PEN-I)

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Erythromycine	1079	9,4	6,9	83,7	1060	8,4	3,7	87,9
Lincomycine	358	19,8	6,7	73,5	367	16,4	3,5	80,1
Pristinamycine	1067	98,0	0,4	1,6	1043	96,8	1,2	2,0
Télithromycine	636	97,0	0,9	2,1	626	96,2	0,9	2,9
Cotrimoxazole	1011	3,6	3,9	92,5	992	3,6	3,3	93,1
Vancomycine	1068	99,2	0,1	0,7	1045	99,2	0,1	0,7
Chloramphénicol	530	98,1	0,6	1,3	520	97,7	0,6	1,7
Lévofloxacine	640	89,1	3,1	7,8	618	74,2	12,0	13,8
Moxifloxacine	774	96,4	1,3	2,3	757	84,9	8,6	6,5

tableau XXV - antibiogramme Pneumocoque lot 2 (PEN-R)

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Erythromycine	1021	5,1	1,5	93,4	1003	4,9	1,0	94,1
Lincomycine	331	10,6	1,2	88,2	346	10,7	0,9	88,4
Pristinamycine	1019	96,7	0,6	2,7	993	95,4	0,9	3,7
Télithromycine	643	88,5	7,0	4,5	630	88,1	5,9	6,0
Cotrimoxazole	987	10,1	3,7	86,2	967	10,4	3,3	86,3
Vancomycine	1003	98,5	0,3	1,2	981	98,6	0,1	1,3
Chloramphénicol	446	98,0	0,2	1,8	445	97,8	0,2	2,0
Lévofloxacine	571	17,5	6	76,5	563	16,8	5,1	78,1
Moxifloxacine	756	28,9	28,0	43,1	742	25,6	21,2	53,2

Commentaires

1- Bêta-lactamines : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et interprétation

Pour les deux souches de pneumocoque, le diamètre d'inhibition autour d'un disque d'oxacilline (5µg) est strictement inférieur à 26 mm. Par conséquent, selon la définition du CA-SFM (diamètre OXA-5 < 26 mm), il s'agit de deux pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G et la résistance acquise à la pénicilline G est croisée à des niveaux variables avec toutes les autres bêta-lactamines.

Pour apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G et aux autres bêta-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, céftriaxone), il est nécessaire de déterminer la CMI de chacune de ces bêta-lactamines.

1- 1 Pneumocoque lot 1

Pénicilline G

Pour cette souche, la CMI de la pénicilline G est égale à 1 mg/l. Sachant que les concentrations critiques basse et haute sont respectivement fixées à 0,06 mg/l et 2 mg/l, la souche est catégorisée « intermédiaire ». Selon le CA-SFM : « *Les souches catégorisées comme intermédiaires doivent être considérées comme résistantes en cas de méningites mais sensibles à fortes doses en cas d'infections respiratoires.* »

Globalement, 31% des participants ont rendu la CMI attendue et 28 % la CMI immédiatement supérieure (2 mg/l). Les trois quarts des laboratoires ayant trouvé une CMI égale à 2 mg/l ont catégorisé, à tort, la souche

« résistante » car ils n'ont pas tenu compte de la modification récente de la concentration critique haute qui est passée de 1 à 2 mg/l en 2009. Ce changement n'est pas non plus pris en compte par les automates Vitek 2 et 2C. En effet, près de la moitié des utilisateurs de ces automates ont rendu « CMI \geq 2 mg/l » et ont catégorisé la souche « résistante ».

Amoxicilline

Pour cette souche, la CMI de l'amoxicilline est égale à 1mg/l. Sachant que les concentrations critiques basse et haute sont respectivement fixées à 0,5 et 2 mg/l pour cet antibiotique, la souche est catégorisée « intermédiaire ».

Globalement, 53% des participants ont rendu la CMI attendue. En revanche, il est étonnant que 49 laboratoires (6,2%) aient trouvé une CMI < 0,5 mg/l (soit un écart de deux dilutions ou plus par rapport à la CMI attendue). Cette souche qui avait acquis plusieurs mécanismes de résistance (à l'érythromycine, au cotrimoxazole, à la kanamycine, aux fluoroquinolones) avait, en effet, une forte probabilité d'être de sensibilité diminuée à l'amoxicilline.

La règle d'interprétation de la CMI proposée par le CA-SFM en fonction du contexte clinique a été correctement appliquée par les biologistes, en cas de méningite. En effet, plus de 90% de ceux qui ont trouvé la CMI attendue (1 mg/l) ont interprété « souche résistante à l'amoxicilline en cas de méningite ». En revanche, en cas d'infection respiratoire, certains laboratoires interprètent « sensible », d'autres « intermédiaire » car l'interprétation « *sensible à fortes doses* » préconisée par le CA-SFM est ambiguë et mériterait d'être clarifiée sachant qu'il n'y a quasiment pas de risque d'échec thérapeutique avec le traitement recommandé en 1^{er} choix par l'AFSSAPS à savoir « amoxicilline 1g x 3 par jour » (1).

Céfotaxime et ceftriaxone

Tout d'abord, il faut noter que la CMI de la ceftriaxone ne doit pas être extrapolée à partir de la CMI du céfotaxime. En effet, si ces deux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ont des activités globalement comparables, pour certaines souches de sensibilité diminuée, il peut exister des écarts de CMI de une à deux dilutions en faveur de l'une ou de l'autre.

Pour cette souche, les CMI des deux C3G sont identiques, égales à 0,5-1 mg/l. Environ trois quarts des laboratoires ont rendu la CMI attendue.

Le fait que la CMI trouvée puisse être, soit égale 0,5 mg/l (c'est-à-dire égale à la concentration critique basse), soit égale à 1 mg/l (c'est-à-dire comprise entre la concentration critique basse et la concentration critique haute) a posé problème. En effet, si l'on suit les recommandations du CA-SFM, dans le premier cas (CMI = 0,5 mg/l) on interprétera « sensible » dans un contexte d'infection respiratoire ou de méningite ; alors que dans le deuxième cas (CMI = 1 mg/l), on interprétera « intermédiaire » pour une infection respiratoire et « résistant » pour une méningite.

En ce qui concerne le traitement antibiotique des méningites à pneumocoque, l'algorithme de décision thérapeutique décrit dans la conférence de consensus de 2008 sur la prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (2) et résumé ci-dessous, ne s'est pas appuyé sur la catégorisation clinique soit « sensible », soit « résistant » proposée par le CA-SFM pour la méningite.

En effet, prenons l'exemple d'une C3G comme le céfotaxime avec une CMI égale à 1mg/l : si on suit le CA-SFM, on rendra « résistant » au céfotaxime, alors que la souche sera considérée par le clinicien comme « intermédiaire » et sera traitée par le céfotaxime à fortes doses.

CMI amoxicilline	Proposition thérapeutique
< 0,1 mg/l	de préférence, amoxicilline (200 mg/kg/j, IV) ou C3G dose standard * si CMI C3G < 0,5 mg/l
\geq 0,1 mg/l	C3G dose élevée ** ou dose standard si CMI C3G < 0,5 mg/l

* : céfotaxime IV, 200 mg/kg/j ou ceftriaxone IV, 75 mg/kg/j

** : céfotaxime IV, 300 mg/kg/j ou ceftriaxone IV, 100mg/kg/j

1- 2 Pneumocoque lot 2

Pour cette souche, on observe une dispersion importante des résultats des CMI, peut-être due à des problèmes de croissance de la souche signalés, en particulier, par des utilisateurs du Vitek 2 et 2C.

Pénicilline G

La CMI de la pénicilline G est égale à 4 mg/l (strictement supérieure à la concentration critique haute). Par conséquent, la souche est catégorisée « résistante » quel que soit le type d'infection.

Pour cette souche hautement résistante, les CMI \leq 1 mg/l qui représentent 17% des résultats sont considérées comme incorrectes.

Comme pour la souche de pneumocoque du lot 1, on note que la majorité (82%) des laboratoires ayant trouvé une CMI égale à 2 mg/l n'ont pas tenu compte, pour l'interprétation de la CMI, de la modification récente de la concentration critique haute qui est passée de 1 à 2 mg/l pour la pénicilline G .

Amoxicilline

La CMI de l'amoxicilline est égale à 4 mg/l (strictement supérieure à la concentration critique haute). Par conséquent, la souche est catégorisée « résistante » quel que soit le type d'infection.

Environ 62% des participants ont trouvé une CMI ≥ 4 mg/l et ont correctement catégorisé la souche.

En revanche, un pourcentage non négligeable (6,5%) de participants ont rendu une CMI $\leq 0,5$ mg/l (problème de pousse, notamment sur le Vitek 2 et 2C ?) ce qui les a conduit à catégoriser à tort, la souche « sensible ».

Un quart des laboratoires a rendu une CMI égale à 2 mg/l (soit une dilution de moins que la CMI attendue ; ce qui est acceptable). Près de 92% d'entre eux ont correctement interprété « souche résistante à l'amoxicilline en cas de méningite ». En revanche, 21% et 66% ont interprété respectivement « sensible » ou « intermédiaire » dans un contexte d'infection respiratoire ; ce qui démontre encore l'ambiguïté de l'interprétation proposée par le CA-SFM (« intermédiaire » / « sensible à fortes doses »).

Céfotaxime et ceftriaxone

Pour cette souche, la CMI du céfotaxime égale à 1 - 2 mg/l est légèrement supérieure à la CMI de la ceftriaxone égale à 1 mg/l. Si l'on suit la règle du CA-SFM, l'interprétation des CMI en fonction du contexte clinique est identique pour les deux C3G : « intermédiaire » ou « sensible à fortes doses » en cas d'infection respiratoire et « résistante » en cas de méningite.

Là encore, peut-être lié à un défaut de croissance de la souche sur Vitek 2, on observe un pourcentage non négligeable (7,1 et 9,6% respectivement pour le céfotaxime et la ceftriaxone) de CMI $< 0,5$ mg/l. Cette sous estimation de la CMI conduit à catégoriser à tort la souche « sensible » en cas de méningite et à traiter par des doses standards de C3G.

2- Antibiotiques autres que les bêta-lactamines

2- 1 Macrolides - lincosamides - streptogramines - kétolidés

La résistance aux macrolides est la résistance la plus souvent associée à la résistance aux bêta-lactamines : parmi les souches de sensibilité diminuée à la pénicilline (CMI $> 0,06$ mg/l), 85% sont résistantes aux macrolides.

Les deux pneumocoques présentaient un haut niveau de résistance à l'érythromycine (CMI ≥ 256 mg/l). On note cependant un pourcentage non négligeable de résultats « sensible » pour chacune des souches (respectivement 9,4% et 5,1%) provenant du Vitek 2 et 2C et des galeries ATB Strep et ATB Pneumo.

Pour la souche PEN-I, on pouvait observer un antagonisme visible entre l'érythromycine et la lincomycine par la technique de diffusion en milieu gélosé. Le phénotype MLS_B entraîne une résistance à l'érythromycine croisée avec la famille des lincosamides et les streptogramines B. Par conséquent, la lincomycine doit être interprétée « R ». Seule la pristinamycine peut être rendue « S ».

La télithromycine a une activité conservée sur les souches MLS_B inductibles. Toutefois, ces souches peuvent apparaître faussement intermédiaires à cet antibiotique lorsqu'elles sont incubées sous CO₂. C'est pourquoi, selon le CA-SFM : « la résistance à la télithromycine doit être vérifiée par un test en l'absence de CO₂ qui permet la catégorisation clinique ».

La résistance de type MLS_B concerne 95% des souches résistantes à l'érythromycine, tandis que la résistance par efflux (phénotype M) qui n'affecte que les macrolides à 14 et 15 atomes ne concerne que 5% des souches. Chez les pneumocoques, la résistance de type MLS_B est dans la majorité des cas inductible.

Il faut savoir qu'actuellement, la résistance à la pristinamycine est rare (moins de 1% des souches ; aucune souche en 2008). Il en est de même pour la télithromycine (moins de 1% des souches).

2- 2 Cotrimoxazole

Les deux souches étaient résistantes au cotrimoxazole sur sang lysé de cheval ou de mouton, avec ou sans CO₂. On observe un pourcentage non négligeable de réponses erronées « sensible » pour la souche PEN-I (3,6%) et pour la souche PEN-R (10,1%) ; peut-être dû à un défaut de pousse de cette dernière.

2- 3 Vancomycine

A ce jour, aucune souche de pneumocoque résistante à la vancomycine n'a été isolée. La sensibilité à la vancomycine étant la règle, en cas de détection d'une résistance, il faut vérifier l'identification du germe et adresser la souche au CNR qui contrôlera l'antibiogramme. Les 24 laboratoires qui ont rendu un résultat « I » ou « R » à la vancomycine auraient dû se poser des questions. A noter que la catégorie « I » n'existe pas pour la vancomycine.

2- 4 Chloramphénicol

Cet antibiotique n'a pas posé de problème puisque 98% des laboratoires ont rendu la réponse attendue « Sensible » pour les deux souches.

3 - Sensibilité aux fluoroquinolones

Le rapport d'activité 2009 du CNR des pneumocoques indique que la fréquence des souches résistantes aux fluoroquinolones anti-pneumococciques reste faible en 2008, inférieure à 1%. Cependant, parmi les souches catégorisées sensibles (CMI lévofloxacine \leq 2 mg/l, CMI moxifloxacine \leq 0,5 mg/l), il existe des souches ayant acquis un mécanisme de résistance. Il s'agit soit d'un efflux actif, soit d'une mutation de la topoisomérase IV (une des deux cibles des fluoroquinolones). Ces mécanismes représentent une étape préalable à la sélection, en cours de traitement, de mutants de plus haut niveau de résistance. Ces mutants sont alors résistants à la lévofloxacine et à la moxifloxacine, la résistance devenant effective quand il existe une mutation dans la seconde cible, la gyrase.

C'est la raison pour laquelle il est indispensable de pouvoir détecter de telles souches à risque, appelées « souches de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones », afin de prévenir le clinicien du risque d'échec du traitement.

Dans ce but, le CA-SFM a établi depuis 2004 les recommandations suivantes : « Le dépistage des pneumocoques de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est réalisé par la mesure de la sensibilité à la norfloxacine. Si le diamètre autour du disque (chargé à 5 μ g) est inférieur à 10 mm et/ou si la CMI est $>$ 16 mg/l, il existe un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique ».

A peine la moitié (48,6%) des laboratoires participants a testé la norfloxacine qui ne fait pas partie des antibiotiques présents sur les deux réactifs les plus utilisés (ATB pneumo et Vitek2 ou 2C).

Le pneumocoque du lot 1 avec une CMI norfloxacine \geq 256 mg/l et une résistance contact en diffusion sur gélose était de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones. On note que 81% des 494 laboratoires ayant testé la norfloxacine ont rendu cette interprétation.

Ni la lévofloxacine, ni la moxifloxacine ne permettent le dépistage de ce type de souche. En effet, la souche est sensible à la lévofloxacine (diamètre = 19-20 mm et CMI = 2 mg/l) et à la moxifloxacine (diamètre = 24-25 mm et CMI = 0,25 mg/l).

Lorsqu'une souche de sensibilité diminuée est détectée grâce à la norfloxacine, il n'y a pas lieu d'interpréter « Intermédiaire » ou « Résistant », le résultat « Sensible » de la lévofloxacine et de la moxifloxacine, comme l'ont fait respectivement 25,8% et 15,1% des laboratoires. A noter que depuis 2008, la catégorie « Intermédiaire » n'existe plus pour ces deux fluoroquinolones.

Le pneumocoque du lot 2 présentait d'emblée un haut niveau de résistance aux fluoroquinolones. Sur les 505 laboratoires qui ont testé la norfloxacine, 88% ont conclu « sensibilité diminuée aux fluoroquinolones ». La souche était « résistante » à la lévofloxacine (diamètre = 8-9 mm et CMI = 8 mg/l) et à la moxifloxacine (diamètre = 14-15 mm et CMI = 2 mg/l). Toutefois, seuls 78% et 53% des laboratoires ont rendu la réponse attendue « Résistant », respectivement pour la lévofloxacine et la moxifloxacine. Les réponses erronées « sensible » ou « intermédiaire » proviennent de la galerie ATB STREP (lévofloxacine), de la galerie ATB pneumo (moxifloxacine) et du Vitek 2/2C (lévofloxacine et moxifloxacine).

En ce qui concerne la lévofloxacine, les réponses faussement « sensible » (17,5% des réponses) proviennent du Vitek2/2C (21% « S » et 79% « R ») et de la galerie ATB STREP (25% « S », 23% « I », 51% « R »). Cette fausse sensibilité pourrait être due à un problème de pousse de la souche car la société BioMérieux n'a pas reproduit ces résultats : sur Vitek2/2C, la souche est « R » avec une CMI \geq 8mg/l. Quant aux réponses erronées « intermédiaire » (6% des réponses alors que cette catégorie n'existe pas), elles sont dues à la galerie ATB STREP qui teste deux concentrations (2 et 4 mg/l) au lieu d'une concentration unique (2 mg/l) égale à la concentration critique. Par conséquent, sachant qu'à une dilution près, la CMI peut être égale à 4 mg/l, la souche peut apparaître « intermédiaire » sur cette galerie alors qu'elle est résistante.

En ce qui concerne la moxifloxacine, les réponses erronées « intermédiaire » (28% des réponses alors que cette catégorie n'existe pas) sont dues en majorité à la galerie ATB Pneumo qui teste deux concentrations (1 et 2 mg/l) au lieu d'une concentration unique (0,5 mg/l) égale à la concentration critique. La CMI de la moxifloxacine étant égale à 2 mg/l, la souche apparaît « intermédiaire » alors qu'elle est résistante. Les réponses erronées « sensible » (21,2% des réponses) sont dues, d'une part, à la galerie ATB pneumo car à une dilution près la CMI peut être égale à 1 mg/l et la souche apparaît « sensible » et, d'autre part, au Vitek2/2C.

Bibliographie

(1) Antibiothérapie par voie générale dans les infections respiratoires basses de l'adulte - Mise au point (21/07/2010).

http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/b33b6936699f3fefdd075316c40a0734.pdf

Conférences de consensus :

(2) 2008 : Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (nouveau-né exclu).
http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/2008-Meningites-court.pdf
http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/Meningites_consensus-long.pdf

(3) 2006 : Prise en charge des infections respiratoires basses de l'adulte immunocompétent.
http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/Inf_respir_court-2006.pdf
http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/inf_respir_long2006.pdf

Rapport d'activité CNR pneumocoque :

(4) http://www.invs.sante.fr/surveillance/cnr/rapport_cnrp_2009.pdf

Sérologie de la syphilis

Définition des échantillons

Un échantillon (pool de plasmas défibrinés lyophilisé) a été adressé à chacun des 2534 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 deux experts (Afssaps et CNR Syphilis) sont présentés en inverse de dilution dans le tableau XXVI.

tableau XXVI - sérologie de la syphilis : résultats des experts

	VDRL ^(a)			TPHA ^(b)			Western Blot ^(c)			
	dépistage	titrage (seuil = 1)		dépistage	titrage (seuil = 80)		P15	P17	TmpA	P47
		expert 1	expert 2		expert 1	expert 2				
S1	négatif	-	-	positif	640	320	+	++	(-)	+/-
S2	négatif	-	-	négatif	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)
S3	négatif	-	-	douteux/positif	160	80	(-)	+/-	(-)	(-)
S4	positif	4	4	positif	2560	1280	+	++	+	+

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

(b) : TPHA 200 Biorad

(c) : MASTABLOT TP IgG (expert 1)

Méthode statistique et expression des résultats

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

Si cette moyenne se situe entre deux inverses de dilution, la réponse attendue correspond aux deux dilutions.

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

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

Résultats des participants

Le nombre de laboratoires déclarant réaliser la sérologie de la syphilis est en constante diminution depuis une dizaine d'années. Il est passé de 3585 laboratoires en 1998 à 2286 en 2010 (soit une baisse de 36,2%).

1 - Réactions du groupe 1 : antigène cardiolipidique non spécifique

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

En ce qui concerne l'échantillon S4, positif en VDRL, la proportion de dépistages négatifs, douteux et positifs obtenus en fonction du réactif utilisé est détaillée dans le tableau XXIX. Enfin, la distribution de fréquence des titres obtenus par les laboratoires participants tous réactifs confondus est représentée figure 1, tandis que les titres obtenus en fonction du réactif utilisé sont rapportés dans le tableau XXX.

tableau XXVII - groupe 1 : réactifs utilisés

Réactif	Distributeur	Nombre utilisateurs
VDRL Carbon antigen	Abbott	22
Syphacard-R	Abbott	10
VDRL Check Charbon	All Diag	18
RPR Test	Biolys	23
RPR Nosticon	Biomérieux	435
RPR 100 ou 500	Bio-Rad	386
VDRL Latex	Bio-Rad	33
Antigen VDRL	Siemens	3
Sypal CB	Diagast	217
Sypal	Diagast	4
Visualine Syphréa	Diagnosphère Biocontrol	1
RPR Charbon	Elitech Diagnostic	81
VDRL Charbon	Eurobio	27
RPR Card Test	Fumouze	247
RPR Reditest	Instr.Laboratory (Biokit)	205
SPIN REAC RPR Carbon	Inverness	31
RPR Carbon	Mast Diagnostic (Biosystems)	5
VDRL charbon	Oxoid	18
RPR Charbon	PBS Orgenics (Sorachim)	1
Syphilis RPR Card Test	Randox	1
Servitex RPR	Servibio	157
Syphilis RPR	Sobioda	1
réactif non précisé		8
TOTAL		2130

tableau XXVIII - sérologie de la syphilis : dépistage VDRL

	S1	S2	S3	S4
Effectif	526	526	536	542
Réponse attendue	négatif	négatif	négatif	positif
Dépistage « négatif »	478 (90,9%)	517 (98,3%)	530 (99,0%)	136 (25,1%)
Dépistage « positif »	29 (5,5%)	5 (0,9%)	3 (0,5%)	368 (67,9%)
Dépistage « douteux »	19 (3,6%)	4 (0,8%)	3 (0,5%)	38 (7,0%)

tableau XXIX - échantillon S4/ réaction du groupe 1 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé (effectif ≥ 5)

Réactif	Distributeur	Douteux	%	Négatif	%	Positif	%	total
VDRL Check Charbon	All Diag	4	7,7	29	55,8	19	36,5	52
RPR Test	Biolys	1	20,0	2	40,0	2	40,0	5
RPR Nosticon II	Biomérieux	5	4,4	20	17,5	89	78,1	114
RPR 100 ou 500	Bio-Rad	6	6,1	25	25,5	67	68,4	98
Sypal CB	Diagast	1	5,0	9	45,0	10	50,0	20
RPR Charbon	Elitech Diagnostic	2	3,1	16	25,0	46	71,9	64
RPR Card Test	Fumouze	9	13,8	12	18,5	44	67,7	65
RPR Reditest	Instr.Laboratory (Biokit)	1	1,9	7	13,0	46	85,2	54
VDRL charbon	Oxoid	2	40,0	2	40,0	1	20,0	5
Servitex RPR	Servibio	4	10,0	8	20,0	28	70,0	40

figure 1 - Echantillon S4 : distribution des titres en VDRL tous réactifs confondus

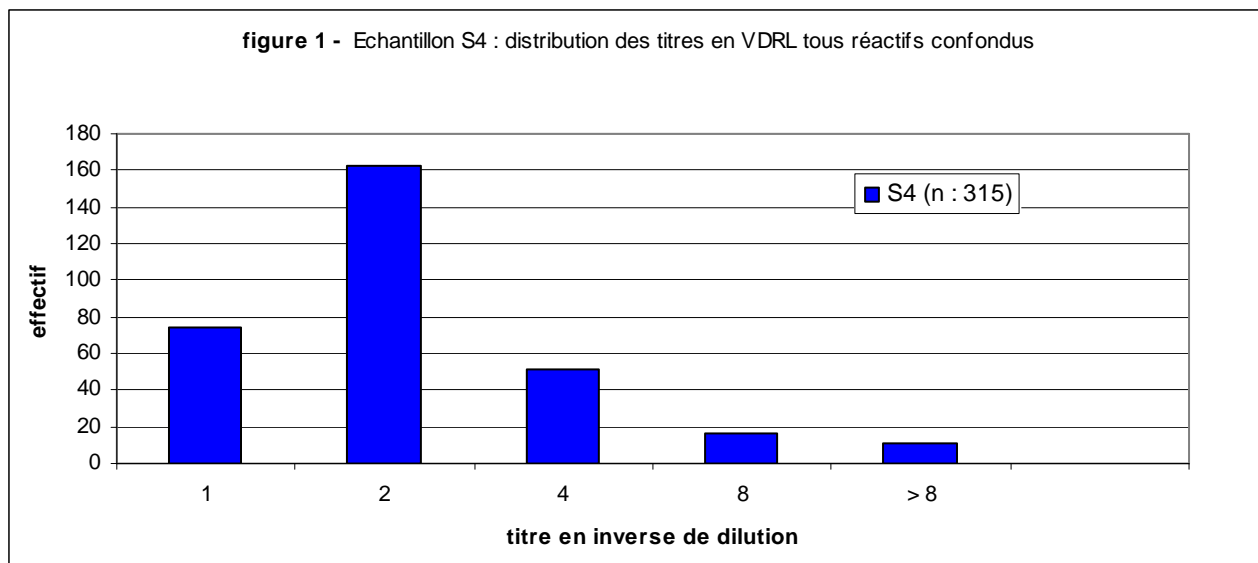


tableau XXX - échantillon S4 : titres obtenus en VDRL selon le réactif utilisé (effectif > 10)

Réactif	Distributeur	Effectif	Titre (inverse de dilution)					% titres conformes*
			1	2	4	8	> 8	
VDRL Check Charbon	All Diag	13	4	6	3			100
RPR Nosticon	Biomérieux	73	9	42	14	5	3	95,9
RPR 100 ou 500	Biorad	61	30	25	5		1	98,4
RPR Charbon	Elitech	40	3	22	10	4	1	97,5
RPR Card Test	Fumouze	40	10	19	5	2	4	90,0
RPR Reditest	Instr.Laboratory (Biokit)	41	7	24	8	1	1	95,1
Servitex RPR	Servibio	23	7	14	1	1		95,7
tous réactifs confondus		314	74	163	51	16	10	91,7

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

■ : zone correspondant au titre modal

■ : zone de conformité

2 - Réactions du groupe 2 : antigène tréponémique spécifique

Les techniques employées ainsi que le détail des réactifs correspondant à chaque technique sont rapportés dans le tableau XXXI. La place occupée par chacune de ces techniques en 2009 est comparée aux années 2004 et 2008 dans le tableau XXXII.

Les résultats obtenus en dépistage TPHA pour les quatre échantillons sont rassemblés dans le tableau XXXIII. De plus, la proportion de dépistages négatifs, douteux et positifs obtenus en fonction du réactif utilisé est détaillée pour l'échantillon S1 et l'échantillon S3 respectivement dans les tableaux XXXIV et XXXV.

Enfin, en ce qui concerne les deux échantillons (S1 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 XXXVI et XXXVII.

tableau XXXI - groupe 2 : réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Distributeur	Nombre utilisateurs
TPHA (76,7%)		
TPHA Check	All Diag	109
TPHA 100	Biomérieux	209
TPHA 200 ou 500	Bio-Rad	441
Syphilis OC 2000	Bio-Rad	4
Cellognost TPHA	Siemens	6
TPHA	Elitech	244
TPHA 200T	Eurobio	43
Immutrep TPHA	Fumouze	121
TPHA Liquid	Fumouze	37
TPHA 200	Immunochim	5
Syphagen TPHA	Inst. Laboratory (Biokit)	216
SPIN REAC TPHA	Inverness	25
Mast TPHA	Mast Diagnostic	2
TPHA	Oxoid	14
Syphilis TPHA	Randox	3
Servitex TPHA 200	Servibio	163
Syphilis TPHA	Sobioda	5
ELISA / immunochromatographie (19,5%)		
Ice Syphilis Pack	Abbott	2
Architect Syphilis TP	Abbott	46
Syphilitop Optima	All Diag	193
Syphilis EIA	Bioadvance	5
BIOELISA Syphilis	Biokit	3
Syphilis test	Biolys	30
Syphilis total Antibody EIA	Bio-rad	8
Enzygnost syphilis	Siemens	4
LIAISON	Diasorin	30
ETI-TREPONEMA Plus	Diasorin	7
Visitect	Elitech	6
EIAgen TMPA Screen Recomb	Ingen	2
Syphi check 3	Servibio	46
Test cassette syphilis	Servibio	36
Agglutination sur particule (TPPA) (2,3%)		
Serodia-TP.PA	Siemens	49
Agglutination en gel (1%)		
ID PaGIA Syphilis Antibody Test	Diamed	21
Immunofluorescence indirecte (< 0,1%)		
TREPO-SPOT IF	BioMérieux	1
réactif non précisé (0,5%)		
TOTAL		2146

tableau XXXII - évolution de la place occupée par les différentes techniques entre 2004 et 2009 (réaction du groupe 2)

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

tableau XXXIII - sérologie de la syphilis : dépistage TPHA

	S1	S2	S3	S4
Effectif	528	533	537	547
Réponse attendue	positif	négatif	Douteux/positif	positif
Dépistage « négatif »	39 (7,4%)	531 (99,6%)	380 (70,8%)	8 (1,5%)
Dépistage « positif »	471 (89,2%)	-	107 (19,9%)	535 (97,8%)
Dépistage « douteux »	18 (3,4%)	2 (0,4%)	50 (9,3%)	4 (0,7%)

tableau XXXIV - échantillon S1/ réaction du groupe 2 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé (effectif ≥ 5)

		Douteux	%	Négatif	%	Positif	%	Total
ARCHITECT Syphilis TP	Abbott					10	100,0	10
SYPHILITOP OPTIMA	All Diag	3	6,5	2	4,3	41	89,1	46
TPHA check	All Diag	1	4,5	3	13,6	18	81,8	22
TPHA 100	Biomérieux	1	1,9	4	7,4	49	90,7	54
SYPHILIS TPHA 200 ou 500	Biorad	2	1,8	2	1,8	107	96,4	111
ID PaGIA Syphilis AntibodyTest	Diamed					8	100,0	8
TPHA	Elitech	3	5,4	10	17,9	43	76,8	56
TPHA	Eurobio					13	100,0	13
IMMUTREP TPHA	Fumouze			5	14,7	29	85,3	34
TPHA liquid	Fumouze	1	10,0	3	30,0	6	60,0	10
SYPHAGEN TPHA	Instr. Laboratory	1	1,9	4	7,5	48	90,6	53
TPHA	Inverness			1	14,3	6	85,7	7
TPHA	Oxoid					5	100,0	5
SERVITEX TPHA 200 ou 100	Servibio	4	9,3	2	4,7	37	86,0	43
SYPHI CHEK 3	Servibio	2	20,0			8	80,0	10
Test cassette syphilis	Servibio			2	25,0	6	75,0	8
SERODIA-TP.PA	Siemens					12	100,0	12

tableau XXXV - échantillon S3/ réaction du groupe 2 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé (effectif ≥ 5)

		Douteux	%	Négatif	%	Positif	%	Total
ARCHITECT Syphilis TP	Abbott					10	100,0	10
SYPHILITOP OPTIMA	All Diag	1	2,0	48	96,0	1	2,0	50
TPHA check	All Diag			26	86,7	4	13,3	30
Syphilis test	Biolys	1	10,0	9	90,0			10
TPHA 100	Biomérieux	4	7,3	40	72,7	11	20,0	55
SYPHILIS TPHA 200 ou 500	Biorad	21	18,8	66	58,9	25	22,3	112
LIAISON	Diasorin	1	12,5			7	87,5	8
TPHA	Elitech	1	2,1	46	95,8	1	2,1	48
TPHA	Eurobio			6	66,7	3	33,3	9
IMMUTREP TPHA	Fumouze			18	81,8	4	18,2	22
TPHA liquid	Fumouze			7	100,0			7
SYPHAGEN TPHA	Instr. Laboratory	13	25,0	22	42,3	17	32,7	52
TPHA	Inverness			7	100,0			7
SERVITEX TPHA 200 ou 100	Servibio	5	10,2	40	81,6	4	8,2	49
SYPHI CHEK 3	Servibio			15	100,0			15
Test cassette syphilis	Servibio	1	7,7	12	92,3			13
SERODIA-TP.PA	Siemens			1	6,7	14	93,3	15

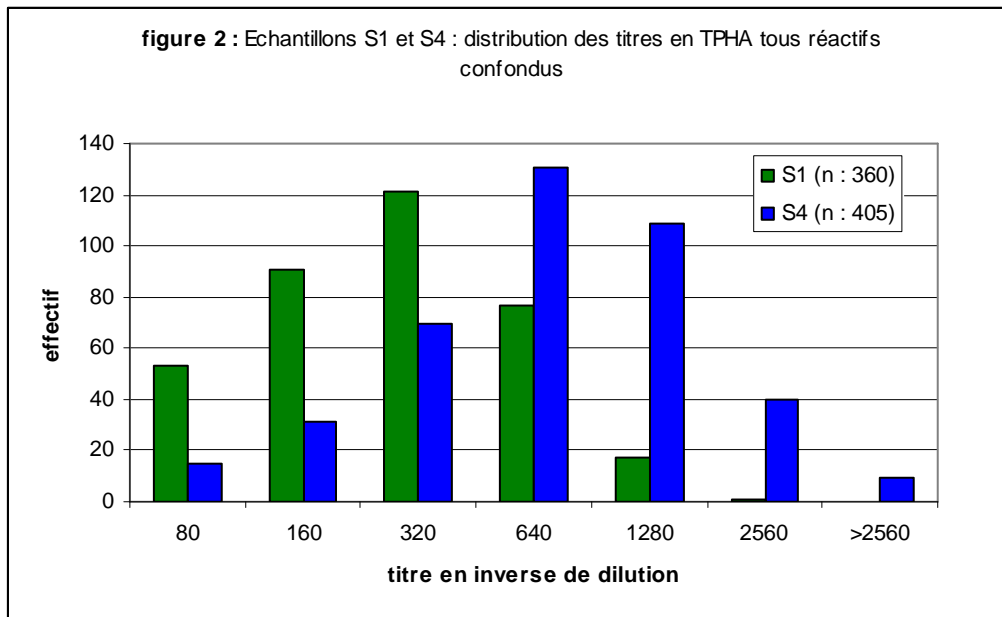


tableau XXXVI - échantillon S1 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif >5)

Réactif	Distributeur	Effectif	Titre (inverse de dilution)						% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	
TPHA Check	All Diag	15	3	3	7		2		86,7
TPHA 100	Biomérieux	46	6	12	18	10			100,0
TPHA 200 ou 500	Biorad	103	6	22	39	30	5	1	88,3
TPHA	Elitech	45	14	20	5	6			86,7
TPHA	Eurobio	13	1	2	6	4			92,3
Immutrep TPHA	Fumouze	25	4	9	5	6	1		96,0
TPHA liquid	Fumouze	7	1	3	2	1			100,0
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	46	4	15	23	4			100,0
Servitex TPHA 200	Servibio	34	7	4	11	9	3		70,6
Serodia-TP.PA	Siemens	11		1	3	3	4		90,9
tous réactifs confondus		360	53	91	121	77	17	1	95,0

* : titre égal au titre modal \pm 1 dilution

■ : zone correspondant au titre modal

■ ■ ■ : zone de conformité

tableau XXXVII - échantillon S4 : titres obtenus en TPHA selon le réactif utilisé (effectif >5)

Réactif	Distributeur	Effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	>2560	
TPHA Check	All Diag	24	2	1	7	10	3	1		87,5
TPHA 100	Biomérieux	46	1	4	4	22	13	1	1	84,8
TPHA 200 ou 500	Biorad	105		3	9	28	43	20	2	95,2
TPHA	Elitech	66	6	9	26	20	5			83,3
TPHA 200	Eurobio	8			1		5	2		87,5
Immutrep TPHA	Fumouze	34	2	3	4	12	10	2	1	76,5
TPHA liquid	Fumouze	7		2	1	3			1	**
Syphagen TPHA	Instr.Laboratory	51	2	4	13	17	10	3	2	86,3
Servitex TPHA 200	Servibio	40	2	3	4	13	10	7	1	67,5
Serodia-TP.PA	Siemens	6			1		2	3		83,3
tous réactifs confondus		405	15	31	70	131	109	40	9	76,5

* : titre égal au titre modal \pm 1 dilution

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

■ : zone correspondant au titre modal

■ ■ ■ : zone de conformité

Commentaires

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

En ce qui concerne les échantillons S1, S2 et S3, négatifs en VDRL, on observe pour S2 et S3 qui sont aussi négatifs ou douteux en TPHA plus de 98% de dépistages VDRL corrects ; tandis que l'échantillon S1 « VDRL négatif / TPHA positif » a été rendu à tort VDRL « positif » ou « douteux » par 9,1% des participants (tableau XXVIII). Pour ce type de sérum, un pourcentage non négligeable de faux positifs ou douteux en VDRL est relevé de façon récurrente à chaque opération de contrôle. Il semblerait que les biologistes hésitent 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.

Dans le cas d'un dépistage VDRL négatif et TPHA positif, le titre obtenu en TPHA permettra d'évoquer un faux positif ou une cicatrice sérologique ou une infection active. Dans tous les cas, il faut confirmer la positivité du TPHA par un FTA-abs.

Si le titre du TPHA est faible (80 - 160), non confirmé en FTA-abs, il peut s'agir d'un faux positif TPHA, rare mais possible lors de toute stimulation polyclonale.

Si le titre est moyen (160 - 640) confirmé par un FTA-abs, il peut s'agir d'une cicatrice sérologique d'une infection ancienne connue traitée tardivement, ou méconnue décapitée par un traitement antibiotique. Au moindre doute (sujet jeune, femme enceinte), il ne faut pas hésiter à rechercher les IgM spécifiques dont la présence impose un traitement.

Si le TPHA est élevé (> 640), il peut s'agir d'une syphilis latente ou d'une cicatrice sérologique récente. Cette positivité devra être confirmée par le FTA-abs et la recherche d'IgM spécifiques dont la présence signe le processus actif de l'infection et impose un traitement rapide.

En ce qui concerne l'échantillon S4, « VDRL positif », le pourcentage de dépistages corrects est d'environ 68% et varie de 20 à 85,2% selon le réactif considéré (tableau XXIX). Le fait qu'un quart des laboratoires aient rendu un résultat négatif n'est pas du tout satisfaisant même si le titre modal de ce sérum, égal à 2, n'est pas élevé. Ce résultat est à rapprocher de ceux obtenus en 2002 avec deux échantillons de titres proches : un de titre légèrement inférieur (titre modal = 1-2) qui avait conduit à 66,4% « positif », 33% « négatif » et 0,6% « douteux » d'une part ; un de titre légèrement supérieur (titre modal = 2-4) qui avait conduit à 94,5% « positif » et 5,5% « négatif ».

Le titre modal obtenu avec chaque réactif est le plus souvent identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal tous réactifs confondus, ce qui conduit à un pourcentage global élevé (91,7%) de titres conformes (tableau XXX).

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. Par rapport à l'opération de contrôle précédente de 2008, le nombre d'utilisateurs du TPHA et de l'immunochromatographie reste stable (respectivement 77% et 15 % des participants). On note une légère augmentation de l'utilisation de l'ELISA (+ 2%) (tableau XXXII).

L'échantillon négatif S2 et l'échantillon fortement positif S4 (titre modal = 640), avec respectivement 99,6 et 97,8% de dépistages corrects n'ont pas posé de problème (tableau XXXII).

En revanche, pour l'échantillon positif S1 de titre plus faible (titre modal = 160-320), on note seulement 89,2% de dépistages positifs, avec pour quatre réactifs, un pourcentage de dépistages corrects inférieurs à 85%. Il s'agit du SYPHI CHECK 3 (80%) et du test cassette (75%) de Servibio, du TPHA liquid / Fumouze (60%) et du TPHA / Elitech (76,8%) dont la sensibilité semble ici mise en défaut comparativement aux autres réactifs (tableau XXXIV).

En ce qui concerne S3 (titre modal = 80), la réponse attendue pour le dépistage était « douteux » ou « positif ». Néanmoins, pour cet échantillon au titre « limite » correspondant au seuil de la technique, un dépistage rendu « négatif » a été considéré comme une réponse acceptable. En effet, répondre « TPHA négatif » porte peu à conséquence, sauf s'il s'agit d'un tout début de syphilis avec un VDRL négatif. Cela est rare ; en général le VDRL se positive avant le TPHA. Dans ce cas, si le patient est à risque, la sérologie sera à nouveau contrôlée et trouvée cette fois-ci positive.

Quel que soit l'échantillon positif considéré (S1 ou S4), le titre modal observé avec chaque réactif est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal tous réactifs confondus. Selon le réactif utilisé, le pourcentage de titres conformes s'échelonne de 70,6 à 100% pour S1 et de 67,5 à 95,2% pour S4 (tableaux XXXVI et XXXVII).