

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

**Bactériologie**

**13BAC2**

**novembre 2013**

***Escherichia coli* : Antibiogramme et pathovars entériques**  
**Enquête sur les techniques utilisées dans les LBM pour la recherche des**  
**pathovars entériques de *E.coli***  
**Sérodiagnostic de la syphilis**

**septembre 2014**

Christophe de CHAMPS (Reims)  
Muriel FROMAGE (Ansm)  
Gérard LINA (Lyon)  
Malika GOUALI (CNR *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*)

---

Expédition : 16 octobre 2013

Clôture : 12 novembre 2013

Edition des compte-rendus individuels : 7 février 2014

Paramètres contrôlés :

**Antibiogramme et pathovar entérique** : *Escherichia coli*

**Enquête sur les techniques utilisées dans les LBM pour la recherche des pathovars entériques de *E. coli***  
**Sérologie de la syphilis**

Nombre de laboratoires concernés\* : 1486

Nombre de laboratoires participants\*\* : 1411

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

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

---

## Résumé de l'opération

Cette opération comportait deux souches lyophilisées d'*E.coli*, toutes deux productrices d'une pénicillinase acquise de type TEM-1. Les trois quarts des participants ayant réalisé un antibiogramme ont détecté la présence d'une pénicillinase et environ 15% ont évoqué une pénicillinase résistante aux inhibiteurs.

Il s'agissait de deux EPEC (*E. coli* entéropathogènes) dont les sérotypes précis sont les suivants :

*E. coli* O26 :H- (lot 1) et *E. coli* O55 :H2 (lot 2).

Interrogés sur l'appartenance de la souche testée à un des quatre pathovars entériques suivants de *E. coli* : EHEC/STEC (*E. coli* producteur de Shigatoxines), EPEC (*E. coli* entéropathogène), ETEC (*E. coli* entérotoxigène) ou EAEC (*E. coli* entéroaggrégant), les deux tiers des laboratoires (397/600) ayant inclus et/ou exclu au moins un pathovar ont identifié un EPEC. En ce qui concerne le sérotype O des deux souches, seuls 186 laboratoires l'ont déterminé précisément. On observe 97% de bonnes réponses *E. coli* O26 (lot 1) et 81% de bonnes réponses *E. coli* O55 (lot 2). Pour ce dernier lot, les erreurs (en majorité *E. coli* O157) viennent du fait que la souche était sorbitol négatif.

Dans le prolongement du diagnostic du pathovar entérique et du sérogroupage O des deux souches proposées, cette opération de contrôle a été l'occasion de réaliser en collaboration avec le CNR, une enquête plus générale sur les techniques utilisées dans les LBM pour la recherche des pathovars entériques de *E. coli*. Le questionnaire comportait quatre questions principales concernant la recherche des gènes de virulence par PCR, la recherche de Shiga-toxines par des tests immunologiques rapides, l'utilisation de milieux de culture chromogéniques ou de type Mac Conkey sorbitol pour la recherche des EHEC et enfin le sérogroupage (latex ou antisérums agglutinants).

Fin 2013, on note que 25 laboratoires (24 en métropole et 1 dans les DOM-TOM) réalisent la recherche des gènes de virulence (au minimum *stx1* et *stx2*) par PCR.

Cette opération comportait également deux échantillons lyophilisés (S1 et S2) destinés au sérodiagnostic de la syphilis par deux tests relevant chacun d'un des deux groupes réglementaires de techniques (groupe 1 : tests cardiolipidiques, groupe 2 : tests tréponémiques). Chacun des 1252 laboratoires ayant déclaré réaliser cette sérologie a reçu un des deux échantillons.

Les résultats obtenus avec les tests cardiolipidiques sont satisfaisants pour l'échantillon négatif S2 pour lequel on note 95% de dépistages corrects. En revanche, le pourcentage de faux négatifs (8,4%) obtenus avec l'échantillon positif S1 (VDRL = 2) est trop élevé mais n'est pas dû à un réactif particulier.

Les résultats des tests tréponémiques sont excellents (97,8% de réponses correctes) avec l'échantillon S1 fortement positif (TPHA = 320-640). En revanche, l'échantillon S2 de titre faible, égal au seuil (TPHA = 80) a été dépisté « négatif » à tort par 45% des laboratoires. Cet échantillon prouve l'intérêt qu'il y aurait à passer à des tests plus sensibles que le TPHA en dépistage.

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.

# Antibiogramme *Escherichia coli*

## Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche d'*Escherichia coli* lyophilisée ont été proposés. Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 17 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.

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires qui utilisent la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques) devaient préciser les diamètres d'inhibition obtenus pour les six antibiotiques suivants : amoxicilline / ac.clavulanique, ticarcilline / ac.clavulanique, céfalotine, gentamicine, tobramycine, amikacine.

Enfin, les laboratoires devaient choisir le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines détecté parmi les phénotypes suivants : pénicillinase, TRI (TEM résistante aux inhibiteurs), céphalosporinase haut niveau, BLSE, carbapénémase.

Les numéros des échantillons ainsi que les résultats des experts (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 le tableau I. La détermination des CMI lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test et/ou par la méthode de dilution en gélose. La conclusion des experts concernant le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines est : « présence d'une pénicillinase acquise ». Le séquençage permet de préciser qu'il s'agit d'une pénicillinase de type TEM-1.

**tableau I** - antibiogramme des deux souches d'*E.coli* : résultats des experts

N° des échantillons	<i>E. coli</i> (Lot 1)		<i>E. coli</i> (Lot 2)	
	199, 222, 303, 541, 614, 796, 865, 977		175, 207, 482, 560, 653, 721, 834, 948	
Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Aminopénicilline	R	R	R	R
Amoxicilline + ac. clavulanique	I	I*	I	I*
Ticarcilline	R	R	R	R
Ticarcilline + ac. clavulanique	I	I**	I	I**
Pipéracilline	I / R	I / R***	I / R	I / R***
Pipéracilline + tazobactam	S	S	S	S
Céfalotine	S	S	S / I	S / I
Céfoxitine	S	S	S	S
Céfotaxime	S	S	S	S
Imipénème	S	S	S	S
Ertapénème	S	S	S	S
Gentamicine	S	S	S	S
Tobramycine	S	S	S	S
Amikacine	S	S	S	S
Acide nalidixique	S	S	S	S
Ofloxacine	S	S	S	S
Cotrimoxazole	R	R	R	R

\* : CMI = 8 mg/l. Expression variable de la pénicillinase acquise.

\*\* : CMI = 16 mg/l. Expression variable de la pénicillinase acquise.

\*\*\* : interpréter « I » un résultat « S » aux uréido-pénicillines chez toute entérobactérie « I » ou « R » aux carboxy-pénicillines.

## Résultats des participants

Les réactifs utilisés dans les laboratoires pour la réalisation de l'antibiogramme d'*E. coli* sont détaillés dans le tableau II complété, pour information, par les réactifs utilisés lors des trois opérations précédentes « antibiogramme *E. coli* » en 2012, 2011 et 2007. On remarque que la part des automates augmente avec plus de la moitié des utilisateurs alors qu'ils n'étaient qu'un quart en 2007. Cette évolution se fait au détriment des galeries de type ATB G- ou ATB UR qui passent dans le même temps de 56% à 21% d'utilisateurs. La part de la diffusion sur gélose par la méthode des disques reste constante à environ 20%.

Les cartes les plus utilisées sur le Vitek sont par ordre décroissant : AST-N233 (61%), AST-NXN05 (18%), AST-N235 (11%) et AST-N234 (9%).

Les résultats obtenus par les participants, tous réactifs confondus, sont rapportés respectivement dans les tableaux III et IV selon la souche considérée. En complément de l'antibiogramme, les laboratoires devaient préciser le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines détecté. Les réponses obtenues pour chacune des deux souches sont rapportées dans le tableau V. Les réponses attendues apparaissent en gras (tableaux III à V).

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). L'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche du lot 1 est rapporté dans le tableau VI. La distribution des diamètres d'inhibition relevés pour chacun des 6 antibiotiques, tous réactifs confondus et en fonction du réactif utilisé (effectif > 10) est représentée figures 1 à 6. De la même façon, l'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche du lot 2 est rapporté dans le tableau VII et les distributions des diamètres d'inhibition sur les figures 7 à 12.

tableau II - antibiogramme *E. coli* : réactifs utilisés en 2013 (13BAC2), 2012, 2011 et 2007.

Techniques / Réactifs	13BAC2	12BAC1	11BAC1	07BAC2
<b>Galleries</b>	<b>20,8%</b>	<b>30,8%</b>	<b>39,8%</b>	<b>55,7%</b>
ATB G - bioMérieux	-	-	430	964
ATB G - EU bioMérieux	190	347	282	-
ATB UR bioMérieux	-	-	93	618
ATB UR EU bioMérieux	50	117	22	-
Rapid ATB UR bioMérieux	-	-	31	150
Rapid ATB UR EU bioMérieux	9	14	-	-
Rapid ATB E bioMérieux	-	-	28	126
Autres divers	3	2	4	25
<b>Automates</b>	<b>53,8%</b>	<b>46,9%</b>	<b>39,2%</b>	<b>25,5%</b>
Vitek 2 ou 2C bioMérieux	575	654	800	795
Microscan Siemens	40	35	39	36
Phoenix Becton Dickinson	37	40	37	32
<b>Disques</b>	<b>22,1%</b>	<b>20,8%</b>	<b>18,9%</b>	<b>18,8%</b>
BioRad	191	249	315	447
I2a	51	48	46	44
Oxoïd	20	15	22	27
BioMérieux	3	7	21	46
Autres divers	3	5	19	35
<b>Réactif non précisé</b>	<b>41 (3,4%)</b>	<b>23 (1,5%)</b>	<b>47 (2,1%)</b>	<b>37 (1,1%)</b>
Total	1213	1556	2236	3382

**tableau III** - antibiogramme de la souche *E. coli* - Lot 1 : résultats des participants

Antibiotiques	lus				transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Amoxicilline	558	0,2	0,0	<b>99,8</b>	559	0,4	0,0	<b>99,6</b>
Amoxicilline + ac. clavulanique	606	31,7	<b>30,0</b>	38,3	604	28,0	<b>28,0</b>	44,0
Ticarilline	599	0,7	0,0	<b>99,3</b>	598	0,7	0,0	<b>99,3</b>
Ticarilline + ac clavulanique	314	17,8	<b>29,6</b>	52,6	313	16,3	<b>26,2</b>	57,5
Pipéracilline	375	8,8	<b>17,1</b>	<b>74,1</b>	379	5,8	<b>16,6</b>	<b>77,6</b>
Pipéracilline + tazobactam	574	<b>97,9</b>	0,9	1,2	573	<b>90,9</b>	6,5	2,6
Céfalotine	599	<b>95,0</b>	1,5	3,5	598	<b>87,3</b>	8,0	4,7
Céfoxitine	593	<b>99,7</b>	0,0	0,3	590	<b>99,2</b>	0,0	0,8
Céfotaxime	579	<b>99,5</b>	0,2	0,3	579	<b>99,3</b>	0,2	0,5
Imipénème	573	<b>99,7</b>	0,0	0,3	575	<b>99,5</b>	0,0	0,5
Ertapénème	460	<b>99,6</b>	0,2	0,2	463	<b>99,4</b>	0,0	0,6
Gentamicine	604	<b>99,8</b>	0,1	0,1	602	<b>99,5</b>	0,3	0,2
Tobramycine	542	<b>99,1</b>	0,4	0,5	540	<b>99,0</b>	0,5	0,5
Amikacine	595	<b>99,5</b>	0,5	0,0	594	<b>99,6</b>	0,2	0,2
Acide nalidixique	574	<b>99,8</b>	0,2	0,0	575	<b>99,8</b>	0,2	0,0
Ciprofloxacine	586	<b>100,0</b>	0,0	0,0	587	<b>100,0</b>	0,0	0,0
Cotrimoxazole	599	2,8	0,2	<b>97,0</b>	597	3,0	0,0	<b>97,0</b>

**tableau IV** - antibiogramme de la souche *E. coli* - Lot 2 : résultats des participants

Antibiotiques	lus				transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Amoxicilline	525	0,2	0,2	<b>99,6</b>	524	0	0	<b>100</b>
Amoxicilline + ac. clavulanique	590	31	<b>34,2</b>	34,8	589	27,3	<b>31,8</b>	40,9
Ticarilline	587	0,2	0	<b>99,8</b>	583	0	0	<b>100</b>
Ticarilline + ac clavulanique	307	25,7	<b>24,1</b>	50,2	310	22,9	<b>23,5</b>	53,6
Pipéracilline	368	11,7	<b>18,8</b>	<b>69,6</b>	373	2,7	<b>23,1</b>	<b>74,3</b>
Pipéracilline + tazobactam	565	<b>98,6</b>	0,5	0,9	560	<b>94,6</b>	4,1	1,3
Céfalotine	590	<b>34,2</b>	<b>45,4</b>	20,3	588	<b>31,1</b>	<b>46,6</b>	22,3
Céfoxitine	582	<b>99,7</b>	0	0,3	578	<b>99,1</b>	0,4	0,5
Céfotaxime	564	<b>99,8</b>	0	0,2	560	<b>99,5</b>	0	0,5
Imipénème	559	<b>100</b>	0	0,0	556	<b>99,8</b>	0	0,2
Ertapénème	439	<b>100</b>	0	0	437	<b>99,8</b>	0	0,2
Gentamicine	590	<b>99,6</b>	0,2	0,2	588	<b>99,5</b>	0	0,5
Tobramycine	531	<b>100</b>	0	0	526	<b>99,8</b>	0	0,2
Amikacine	581	<b>100</b>	0	0	575	<b>99,8</b>	0	0,2
Acide nalidixique	571	<b>99,5</b>	0,2	0,3	572	<b>99,3</b>	0	0,7
Ciprofloxacine	573	<b>99,5</b>	0	0,5	573	<b>99,3</b>	0	0,7
Cotrimoxazole	577	2,8	0	<b>97,2</b>	573	2,8	0,2	<b>97,0</b>

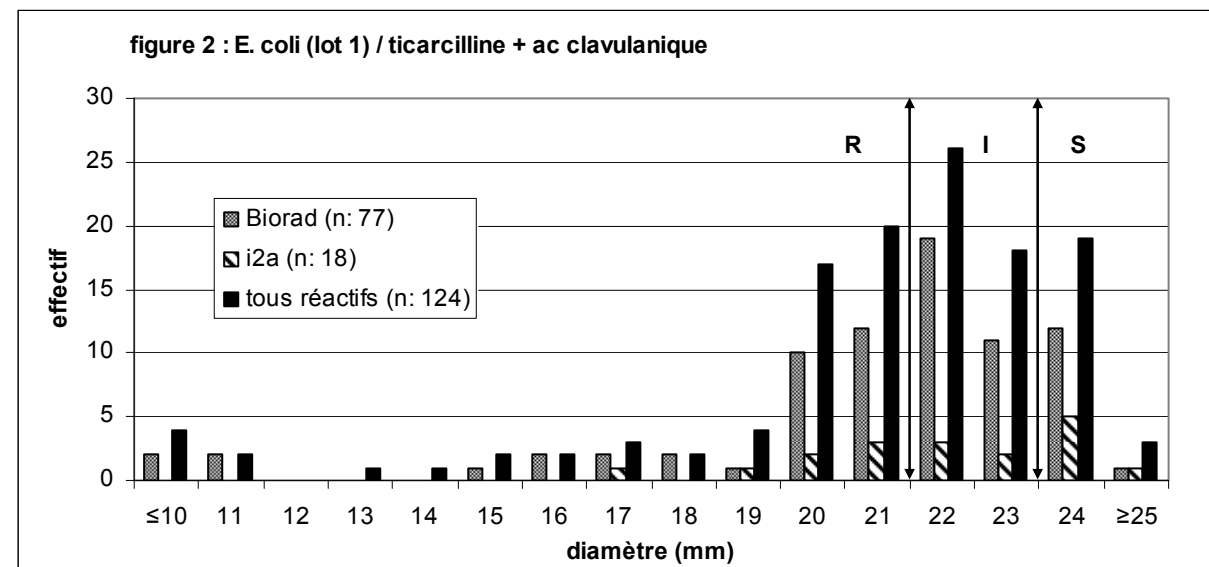
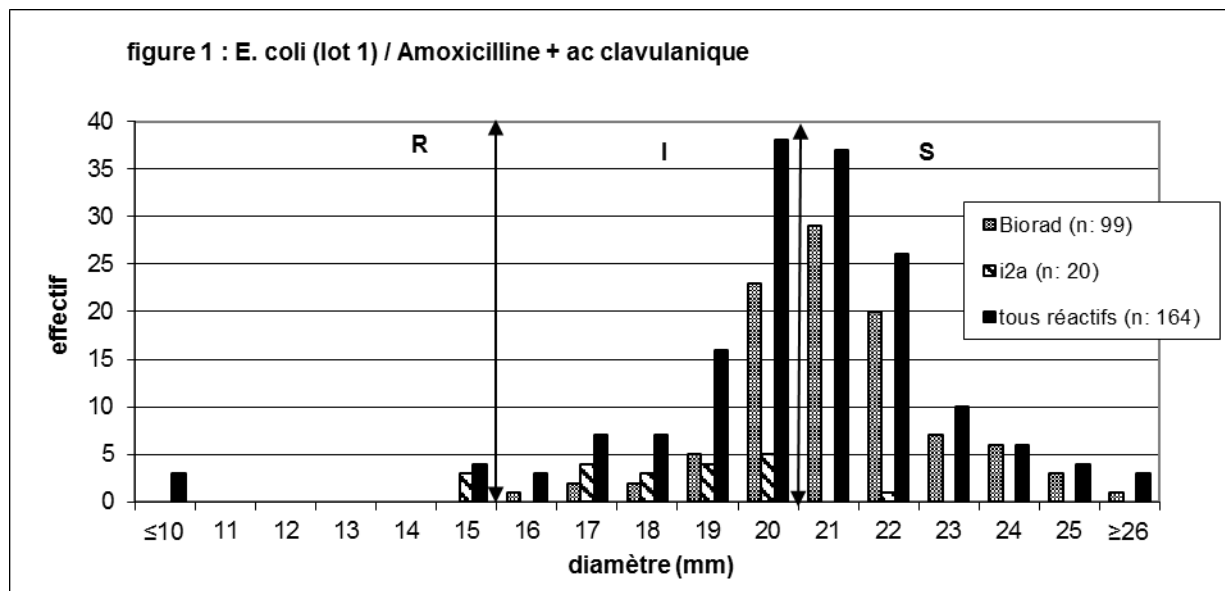
**tableau V** - « phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines ? » : réponses des participants / Effectif (%)

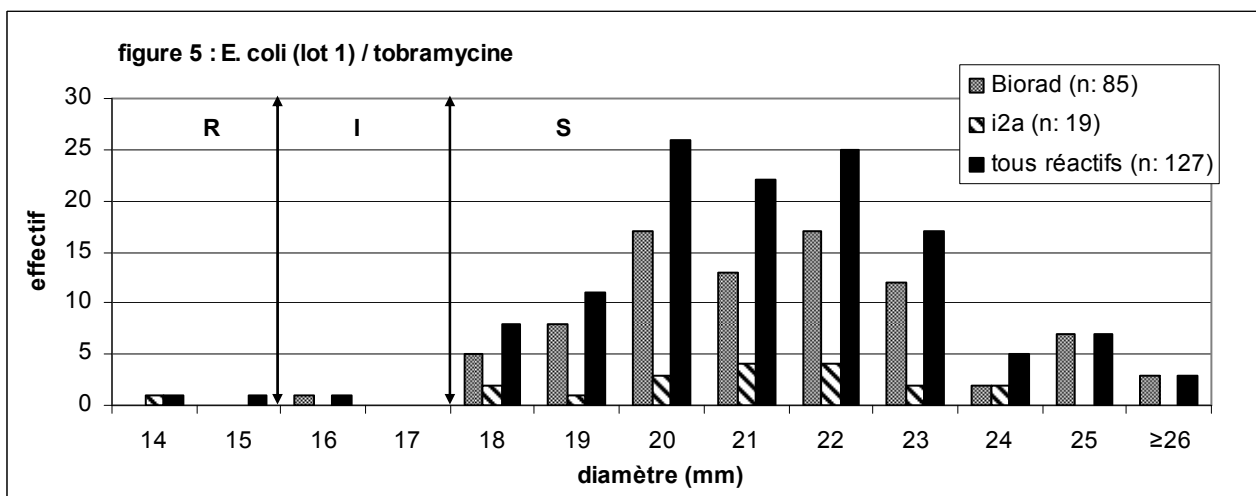
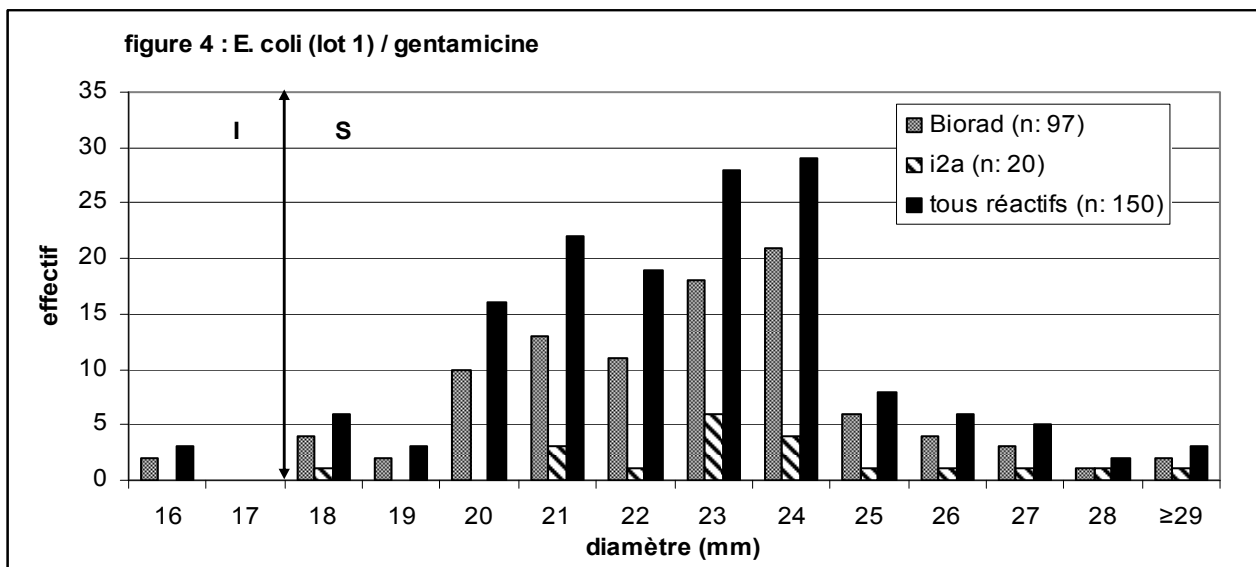
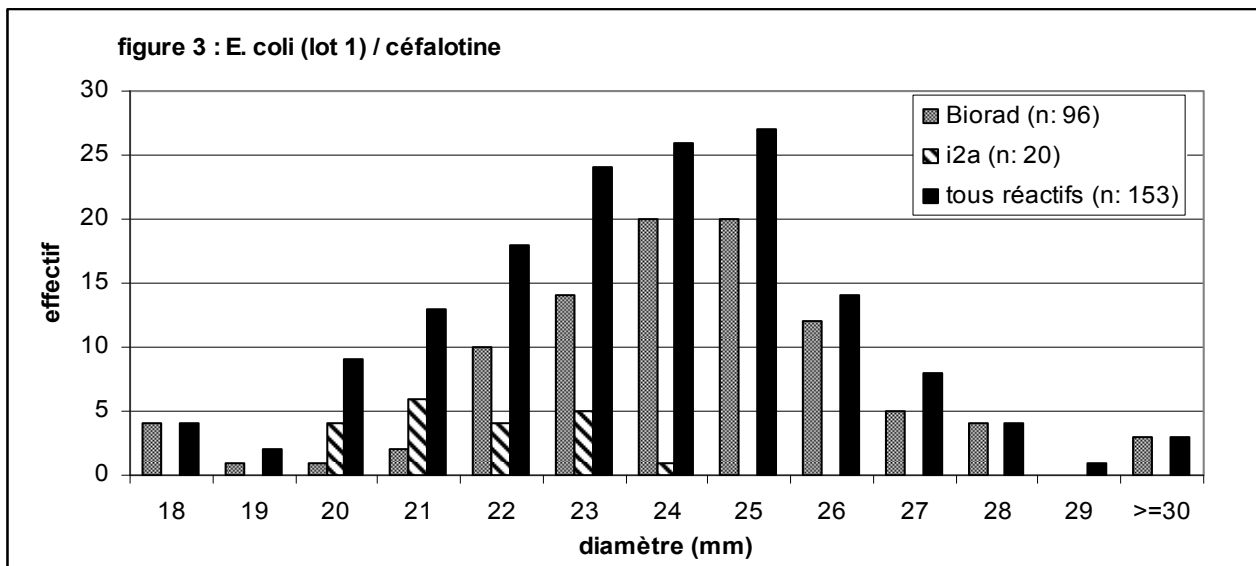
	<i>E. coli</i> (lot 1)	<i>E. coli</i> (lot2)
Absence de réponse	10 (1,6)	13 (2,2)
<b>Pénicillinase</b>	<b>428 (69,7)</b>	<b>462 (77,1)</b>
TRI (TEM résistante aux inhibiteurs)	119 (19,4)	82 (13,7)
Pénicillinase / TRI	37 (6,0)	19 (3,2)
Autres (divers)	20 (3,3)	23 (3,8)
Total	614	599

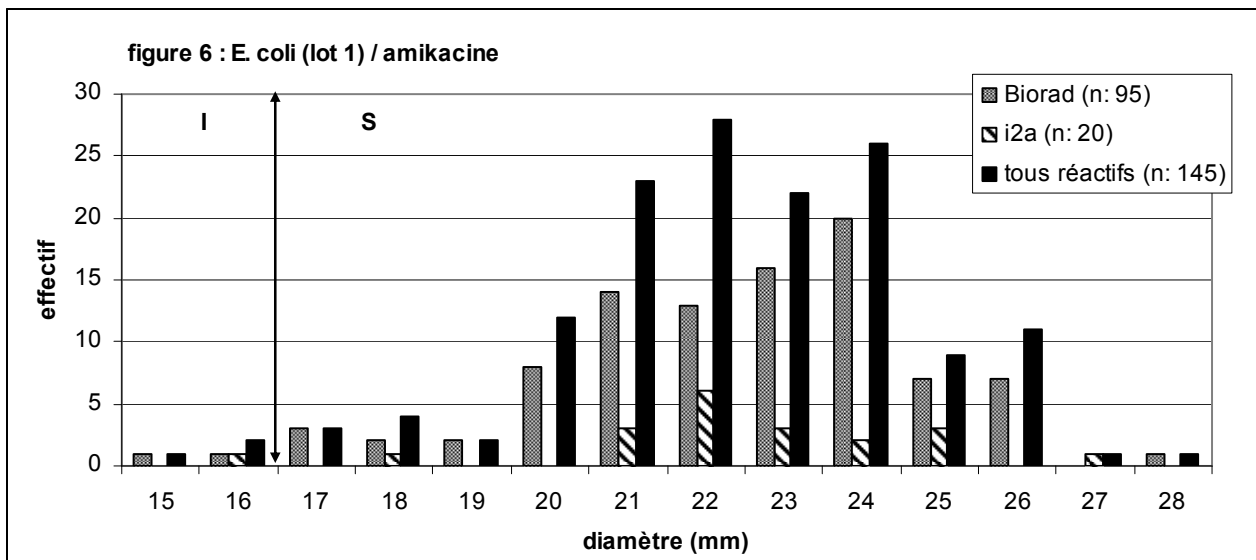
**tableau VI** - *E. coli* (lot 1) : diamètres d'inhibition (mm) obtenus par les participants

Antibiotique	n	M	ET	M +/- 2ET	n tr	M tr	ET tr	CV tr (%)
Amoxicilline + ac.clav	164	20,4	2,9	14,2 - 25,8	159	20,5	2,1	10,2
Ticarcilline + ac.clav	124	20,9	3,5	14,0 - 28,0	117	21,5	2,2	10,2
Céfalotine	153	23,6	2,5	19,0 - 29,0	146	23,7	2,3	9,7
Gentamicine	150	22,6	2,6	17,4 - 27,7	144	22,6	2,2	9,7
Tobramycine	127	21,3	2,3	16,7 - 25,8	123	21,3	1,9	8,9
Amikacine	145	22,4	2,3	17,7 - 27,0	138	22,6	1,9	8,4

n : effectif, M : moyenne, ET : écart-type, n tr : effectif tronqué, Mtr : moyenne tronquée, ET tr : écart-type tronqué







**tableau VII - E. coli (lot 2) : diamètres d'inhibition (mm) obtenus par les participants**

Antibiotique	n	M	ET	M +/- 2ET	n tr	M tr	ET tr	CV tr (%)
Amoxicilline + ac.clav	167	20,4	3,3	13,8 - 27,1	161	20,7	2,7	13,0
Ticarcilline + ac.clav	125	22,2	3,9	14,3 - 29,8	120	22,4	2,4	10,7
Céfaloine	161	21,5	3,0	15,4 - 27,5	155	21,4	2,6	12,1
Gentamicine	163	27,3	2,5	22,2 - 32,3	155	27,4	2,1	7,7
Tobramycine	149	25,8	2,4	20,9 - 30,7	145	25,8	2,2	8,5
Amikacine	157	27,9	2,5	22,9 - 32,9	152	27,9	2,0	7,2

n : effectif, M : moyenne, ET : écart-type, n tr : effectif tronqué, Mtr : moyenne tronquée, ET tr : écart-type tronqué

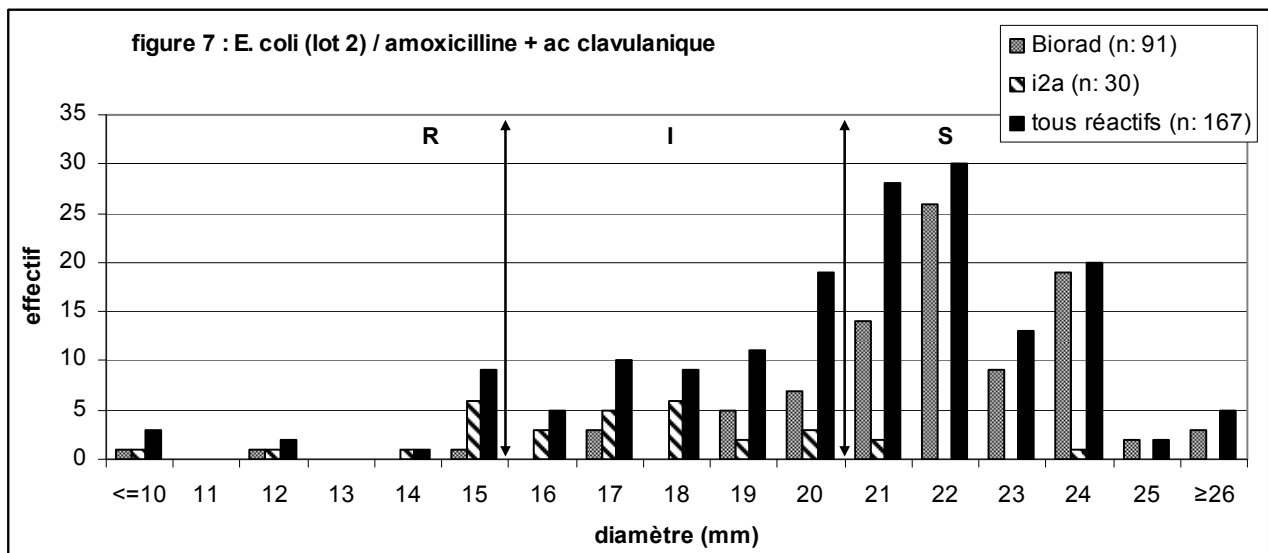




figure 8 : E. coli (lot 2) / ticarcilline + ac clavulanique

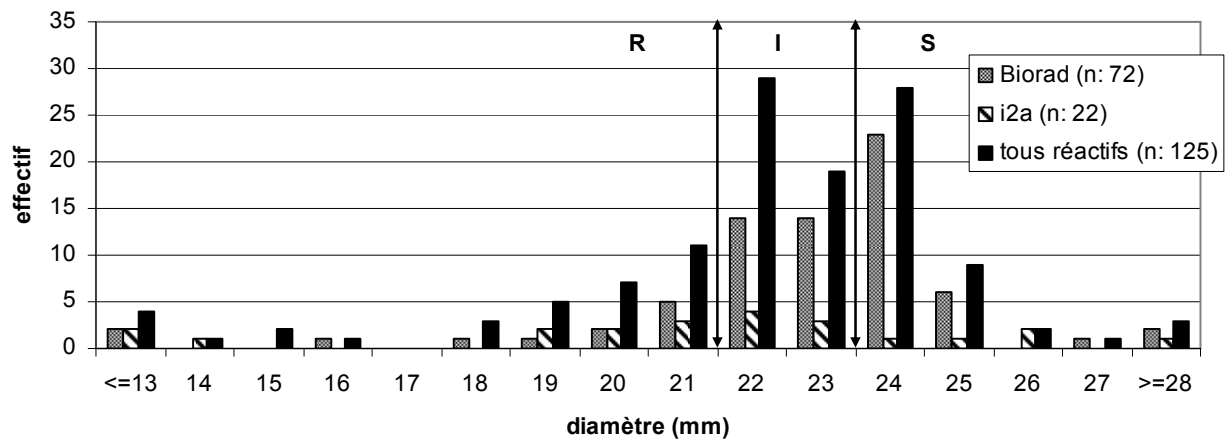


figure 9 : E. coli (lot 2) / céfalotine

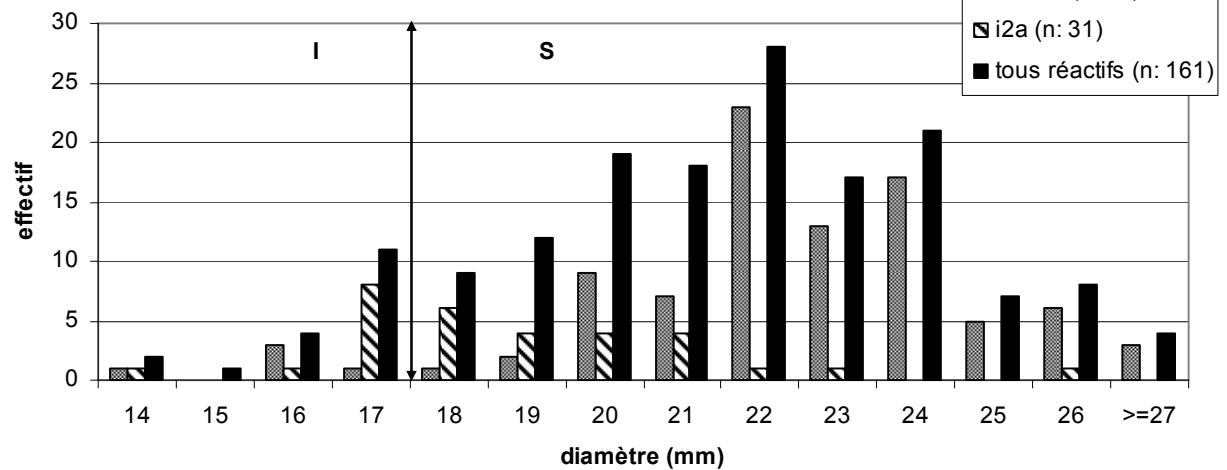
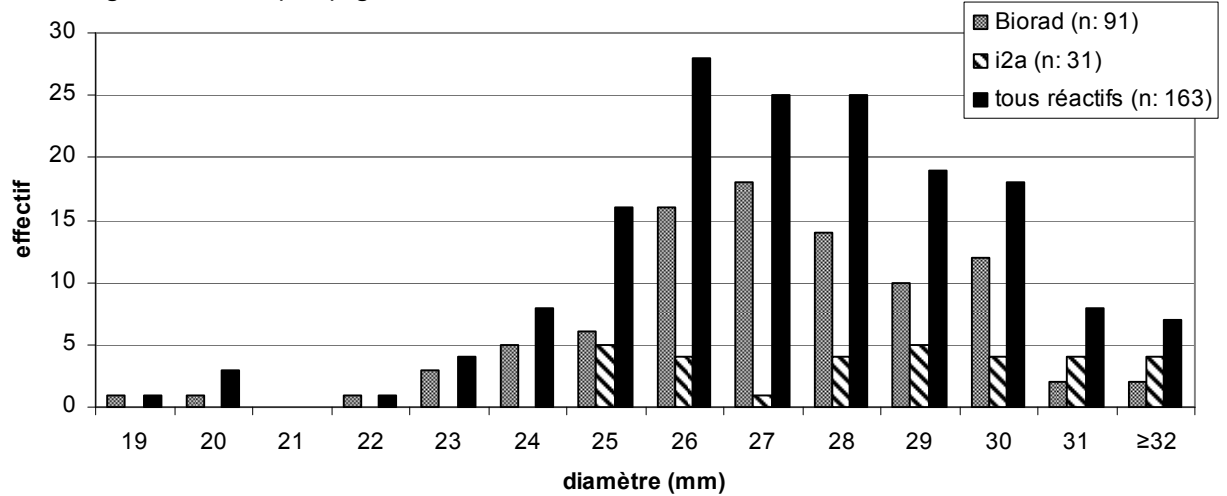
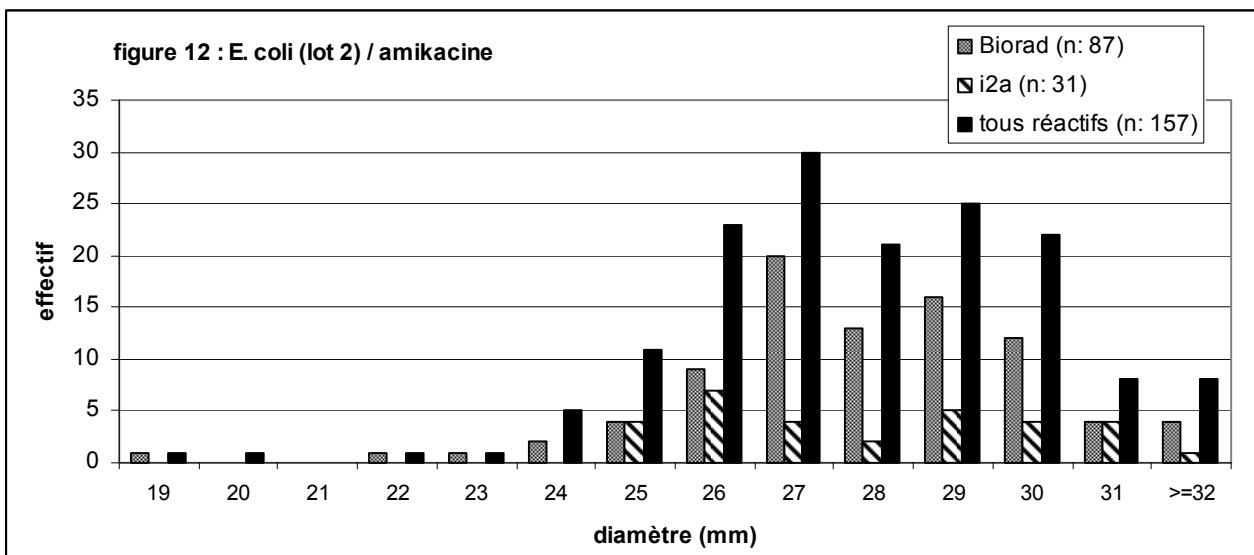
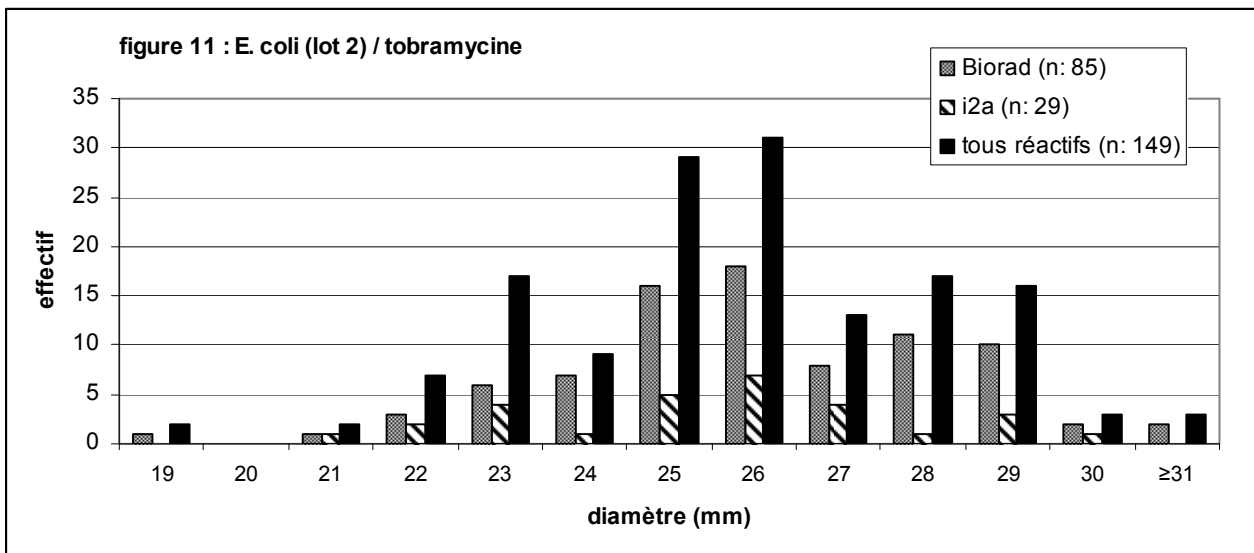


figure 10 : E. coli (lot 2) / gentamicine





## Commentaires

### Bêta-lactamines :

Le phénotype de résistance aux bêta-lactamines des deux souches d'*Escherichia coli* correspond à la production d'une pénicillinase. La récupération par les inhibiteurs est variable selon le niveau d'expression de l'enzyme (tableau I).

Ainsi, les deux souches catégorisées « intermédiaire » vis-à-vis de l'association amoxicilline / ac.clavulanique (CMI = 8 mg/l) peuvent, à une dilution près, être catégorisées « sensible » (CMI = 4 mg/l) ou « résistante » (CMI= 16 mg/l). En ce qui concerne la méthode des disques, les moyennes des diamètres d'inhibition relevés par les participants (respectivement 20,5 et 20,7 mm pour le lot 1 et pour le lot 2) correspondent au diamètre critique haut (21 mm). Par conséquent, les réponses obtenues sont « sensible » ou « intermédiaire ». En revanche, les réponses « résistante » proviennent des automates : Phoenix (100% et 81% respectivement pour le lot 1 et le lot 2), Vitek (50% et 40%) et de la galerie ATB G- (30% et 42%) qui teste une seule concentration (8 mg/l).

En ce qui concerne l'association ticarcilline / ac.clavulanique, les deux souches catégorisées « intermédiaire » avec une CMI égale à 16 mg/l peuvent, là encore, à une dilution près, être catégorisées « sensible » (CMI = 8 mg/l) ou « résistante » (CMI= 32 mg/l).

Enfin, on note pour les deux souches un pourcentage non négligeable de réponses lues « sensible » à la pipéracilline (lot 1 : 8,8% et lot 2 : 11,7%) alors que la CMI de cet antibiotique est égale à 64 mg/l. Les réponses « sensible » proviennent des disques Biorad (lot 1 : 11% S, 54% I, 35% R et lot 2 : 32% S, 55% I, 13% R) et des disques i2a (lot 1 : 33% S, 50% I, 17% R et lot 2 : 42% S, 58% I). Les souches adressées au laboratoire expert de la société Biorad ont été trouvées « résistante » avec un diamètre d'inhibition égal à 14 mm. Dans tous les cas, même si le résultat lu était « S », le résultat transmis devait suivre la règle du CA-SFM, à savoir « interpréter

« I » un résultat « S » aux uréido-pénicillines chez toute entérobactérie « I » ou « R » aux carboxy-pénicillines ». On note néanmoins 5,8% (lot 1) et 2,7% (lot 2) de réponses transmises « S » pour la pipéracilline. En ce qui concerne la sensibilité à la céfalotine, la souche du lot 1 (CMI = 4 mg/l) n'a pas posé de problème avec 95% de réponses correctes « S » (tableau III). Néanmoins, on note que les 3,5% de réponses « R » proviennent exclusivement d'utilisateurs de la galerie ATB G- BioMérieux qui teste une seule concentration (8 mg/l) et pour laquelle les résultats obtenus par les participants sont 12% « R » et 88% « S ». La souche adressée au laboratoire expert de la société BioMérieux a bien été trouvée « S » sur la galerie ATB G-. La souche du lot 2 a conduit à des résultats plus dispersés vis-à-vis de la céfalotine (34,2% S, 45,4% I et 20,3% R). La réponse attendue était « S ou I » car la souche catégorisée « S » avec une CMI égale à 8 mg/l pouvait aussi être catégorisée « I » à une dilution près (CMI = 16 mg/l). En revanche, là encore, les réponses « R » proviennent de la galerie ATB G- (87% R).

Face à la conservation de la sensibilité à la céfalotine et aux résultats « Intermédiaire » pour l'association amoxicilline ou ticarcilline à l'acide clavulanique, certains biologistes ont évoqué comme phénotype de résistance aux bêta-lactamines, une TEM résistante aux inhibiteurs (TRI) : 19% des réponses pour le lot 1 et 14% des réponses pour le lot 2 (tableau 5). Cependant, ce type d'enzyme donne en général des résistances « R » aux associations amoxicilline ou ticarcilline + clavulanate et le séquençage a identifié une TEM-1 pour chacune des souches.

Chez *Escherichia coli*, cette résistance est acquise. Les études actuelles étant essentiellement centrées sur les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), il est difficile d'avoir des données concernant leur fréquence en France. Cependant, ces enzymes sont un des principaux mécanismes de résistance à l'amoxicilline. Une étude récente menée en Angleterre de juillet 2010 à juin 2012 sur les bactériémies montrait que 63% des isolats d'*E. coli* était résistants à l'ampicilline (Horner C., J.A.C. 2014;69(1):91-100). Le rapport de l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) montre qu'en 2012 en France 57,6% des isolats d'*E. coli* sont I/R aux aminopénicillines et 10,8% aux céphalosporines de 3ème génération. On peut donc estimer à 46,8% la fréquence de pénicillinase, hors BLSE et céphalosporinase hyperproduite, dans cette espèce.

### **Autres antibiotiques :**

En ce qui concerne les antibiotiques autres que les  $\beta$ -lactamines (aminosides, acide nalidixique, ofloxacine, cotrimoxazole), les résultats sont excellents avec plus de 99% de bonnes réponses, à l'exception de la résistance des deux souches au cotrimoxazole, non détectée par 2,8% des laboratoires. Les réponses « Sensible » ne sont pas dues à un réactif particulier et sont difficilement compréhensibles car la résistance en diffusion sur gélose est de type « contact ».

La résistance à l'association sulfaméthoxazole-triméthoprimine chez les bacilles à Gram négatif relève de plusieurs mécanismes. En ce qui concerne les sulfamides, les résistances acquises sont d'origine plasmidique conférant à la bactérie une di-hydroptérase synthétase (DHPS) résistante aux sulfamides, ce qui permet à la bactérie de synthétiser l'acide folique. D'une façon analogue la résistance au triméthoprimine acquise est liée à l'acquisition d'un gène plasmidique de di-hydrofolate réductase (DHFR). A ces mécanismes peuvent s'associer des modifications de gènes chromosomiques de ces enzymes, la surexpression de pompe d'efflux ...

Une étude récente d'Etienne M. et al. montre que dans les cystites non compliquées, 87% des *Escherichia coli* sont sensibles au cotrimoxazole.

Dans l'étude internationale ARESC (Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis), le taux de résistance au cotrimoxazole de *E. coli* isolé de cystites chez la femme est d'environ 10% en France et 30% sur l'ensemble des pays de l'étude.

## **Bibliographie**

Bêta-lactamines et entérobactéries, Richard BONNET dans AntibioGramme, COURVALIN P, LECLERCQ R, Edition Eska, 2012.

Evolving epidemiology and antimicrobial resistance in spontaneous bacterial peritonitis: a two-year observational study. Piroth L, Pechinot A, Di Martino V, Hansmann Y, Putot A, Patry I, Hadou T, Jaulhac B, Chirouze C, Rabaud C, Lozniewski A, Neuwirth C, Chavanet P, Minello A. BMC Infect Dis. 2014 May 23;14(1):287. doi: 10.1186/1471-2334-14-287.

Antibiotic treatment of acute uncomplicated cystitis based on rapid urine test and local epidemiology: lessons from a primary care series. Etienne M, Lefebvre E, Frebourg N, Hamel H, Pestel-Caron M, Caron F; Bacyst Study Group. BMC Infect Dis. 2014 Mar 11;14:137. doi: 10.1186/1471-2334-14-137.

French results of the ARESC study: clinical aspects and epidemiology of antimicrobial resistance in female patients with cystitis. Implications for empiric therapy. Neuzillet Y, Naber KG, Schito G, Gualco L, Botto H. Med Mal Infect. 2012 Feb;42(2):66-75. doi: 10.1016/j.medmal.2011.07.005. Epub 2012 Jan 20.

# Pathovars entériques *Escherichia coli*

## Définition des échantillons

A la suite de l'antibiogramme, les renseignements cliniques suivants étaient fournis aux laboratoires participants : « Cette souche a été isolée à partir d'un prélèvement de selles chez un enfant de 10 mois, en crèche qui a présenté des signes de gastro-entérite aiguë sévère : diarrhée aqueuse, vomissements et déshydratation. Le prélèvement a été réalisé 2 jours après le début des symptômes. Les recherches de *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* et *Yersinia* se sont révélées négatives.

A la même période, plusieurs cas de SHU (syndrome hémolytique et urémique) en lien avec une infection à *E. coli* O157:H7 ont été signalés par voie de presse suite à la consommation de steak haché. »

Il était alors demandé aux laboratoires participants d'indiquer, sur la base des techniques disponibles et utilisées au laboratoire, si la souche testée appartenait à un des quatre pathovars entériques suivants de *E. coli* :

- EHEC/STEC (*E. coli* producteur de Shigatoxines)
- EPEC (*E. coli* entéropathogène)
- ETEC (*E. coli* entérotoxigène)
- EAEC (*E. coli* entéroaggrégant)

Pour chaque pathovar, le laboratoire avait le choix entre 3 réponses : « Oui », « Non » ou « Ne sait pas ».

De plus, dans le cas d'une réponse positive pour un des pathovars, les participants devaient indiquer s'ils réalisaient un sérogroupage O partiel ou complet dans leur laboratoire et le cas échéant, préciser le séro groupe O de la souche.

Les résultats des experts (Pr C. de CHAMPS, Reims et Dr M. GOUALI, Institut Pasteur Paris, CNR des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*) - obtenus pour chacune de ces deux souches sont présentés dans le tableau VIII et la photo 1.

tableau VIII - Pathovar entérique : résultats des experts

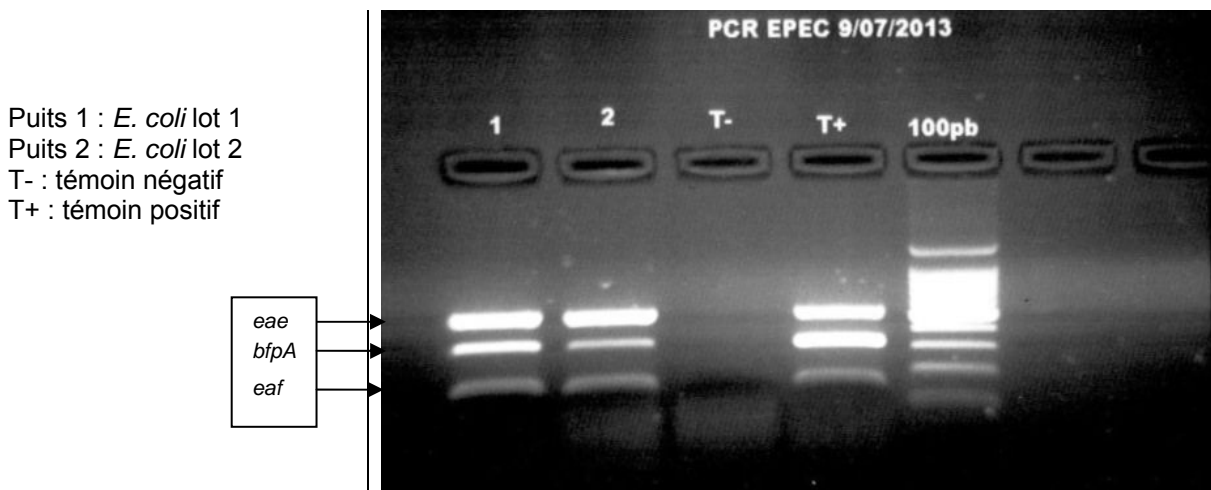
	<i>E. coli</i> (lot 1)		<i>E. coli</i> (lot 2)	
	Expert 1	Expert 2	Expert 1	Expert 2
Pathovar entérique	EPEC		EPEC	
Sérotype	-	<i>E. coli</i> O26 :H-	- *	<i>E. coli</i> O55 :H2
Diagnostic génotypique **	<i>eae+</i> , <i>stx1-</i> , <i>stx2-</i> , <i>bfpA+</i>		<i>eae+</i> , <i>stx1-</i> , <i>stx2-</i> , <i>bfpA+</i>	

\* : souche sorbitol négative. Identification sur Vitek2 BioMérieux : *E. coli* O157

\*\* : Il s'agit d'EPEC typiques.

- le gène chromosomique *eae* codant l'intimine, un facteur d'adhésion aux cellules épithéliales est présent chez les EPEC et la majorité des EHEC.
- les gènes *stx1* et *stx2* situés dans un prophage et codant pour les Shiga-toxines Stx1 et/ou Stx2 ne se retrouvent que chez les STEC/EHEC.
- le gène *bfpA* porté par le plasmide EAF (EPEC Adhérence Factor) est un marqueur des EPEC typiques.

Photo 1 - PCR de détection des gènes de virulence des deux souches d' *E. coli*



## Résultats des participants et commentaires

*E. coli* fait partie de la microflore bactérienne normale du tractus digestif de l'homme ainsi que de celle de la plupart des animaux à sang chaud. Il colonise de façon asymptomatique le tractus digestif des nouveau-nés dès les premières heures de la naissance et constitue ainsi l'espèce bactérienne dominante de la microflore aéro/anaérobie facultative de l'intestin.

Au niveau de l'identification biochimique, l'espèce *Escherichia coli* est caractérisée par sa mobilité (90 à 95%), sa production de bêta-galactosidase permettant la fermentation du lactose, sa capacité à fermenter le mannitol, à produire du gaz, à produire de l'indole, à ne pas produire d'H<sub>2</sub>S et à ne pas utiliser le citrate de Simmons.

En 1947, les travaux de Kauffmann permettent de distinguer les différentes souches de *E. coli* dont les pathogènes responsables d'entérites grâce à leurs antigènes de surface. Le sérotype de la souche est défini par l'antigène de paroi lipopolysaccharidique « O » (plus de 170 antigènes décrits) et au sein d'un même sérotype, le sérotype est déterminé par l'identification du flagelle de nature protéique « H » (plus de 50 antigènes décrits) et éventuellement de l'antigène capsulaire polysaccharidique « K ».

Le sérogroupage partiel et/ou complet des souches par agglutination des colonies à l'aide de mélanges de sérums polyvalents puis monovalents est souvent pratiqué par les laboratoires de biologie médicale mais il ne faut pas perdre de vue que les sérums commercialisés ne couvrent pas tous les sérogroupes et qu'il peut y avoir des agglutinations non spécifiques du fait de réactions croisées.

Toutes les souches d' *E. coli* pathogènes sont capables de se multiplier, de persister dans le tractus digestif en contournant les défenses immunitaires de l'hôte et d'induire des dommages cellulaires. En fonction de leur interaction avec l'hôte, des signes cliniques (diarrhée, diarrhée sanglante, syndrome dysentérique...) et des facteurs de pathogénicité exprimés, celles-ci ont été classées en pathotypes ou pathovars. On en compte 6, responsables d'infections intestinales chez l'homme : les *E. coli* entéropathogènes (EPEC), premier pathotype créé historiquement, les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), les *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC) et les *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC).

Une souche d' *E. coli* d'un même sérotype, peut appartenir à différents pathovars. Il est donc nécessaire de réaliser l'identification complète et la caractérisation des facteurs de pathogénicité pour distinguer un EPEC d'un EHEC.

Le pouvoir pathogène des EHEC est caractérisé principalement par leur capacité à :

- produire des cytotoxines anciennement appelées vérotoxines en raison de leur cytotoxicité vis-à-vis des cellules Vero, elles sont actuellement, regroupées sous le terme de Shiga-toxines (Stx) ou Shiga-like toxines (SLT), de par leurs homologues avec la toxine de *Shigella dysenteriae* de type 1. Ces Shiga-toxines classées en deux grands groupes, Stx1 et Stx2 sont codées par les gènes *stx1* et *stx2* portés par des prophages et sont responsables de lésions de l'endothélium vasculaire principalement intestinal, rénal et cérébral.

Toute souche d' *E. coli* possédant un gène *stx* est appelée *E. coli* producteur de Shiga-toxine ou STEC. Les EHEC constituent un sous-groupe des STEC, ce sont les souches de STEC pathogènes pour l'Homme.

- adhérer aux entérocytes, provoquant des lésions caractéristiques des cellules de la muqueuse intestinale : les lésions d'attachement et d'effacement (A/E). Celles-ci résultent de l'action combinée de protéines de membrane dont l'intimine codée par le gène *eae* et porté par le locus chromosomique d'effacement des entérocytes (LEE). L'adhésion des bactéries aux entérocytes (attachement) puis la disparition des microvillosités intestinales (effacement) sont à l'origine des symptômes diarrhéiques. Cette caractéristique est également présente chez les EPEC qui sont tous *eae+*. La grande majorité des EHEC sont *eae+* (les EHEC *eae-* sont appelés « EHEC atypiques »).

Les infections humaines causées par les EHEC peuvent avoir pour origine la consommation d'aliments ou d'eau contaminés, la transmission interhumaine ou le contact avec des animaux, notamment les bovins. La majorité des épidémies recensées à ce jour est liée à l'ingestion de denrées animales ou d'origine animale contaminées par des EHEC. Bien que la viande de boeuf insuffisamment cuite constitue la principale source de contamination, d'autres aliments ont été incriminés tels que les produits laitiers non pasteurisés, les jus de fruits non pasteurisés, les légumes crus, les graines germées : luzerne, radis et tout récemment (2011) fenugrec.

En ce qui concerne le pathovar entérique de la souche d'*Escherichia coli* testée, sur les 1222 laboratoires pris en compte, 200 n'ont donné aucune réponse et 422 ont coché « ne sait pas » pour les 4 pathovars proposés. Sur les 600 laboratoires restant, la majorité a désigné (« oui ») et/ou exclu (« non ») au moins un des deux pathovars EHEC ou EPEC (tableau IX). La réponse attendue (EPEC : « oui » et EHEC : « non ») a été rendue par 106 participants.

Au total, 417 laboratoires ont indiqué que la souche était un EPEC. Cependant 20 d'entre eux ont indiqué qu'il s'agissait à la fois d'un EPEC et d'un EHEC.

Seule la recherche des gènes de virulence permet l'identification formelle des pathovars entériques d' *E. coli*. Le sérogroupage et les tests biochimiques n'ont qu'une valeur d'orientation.

A la question « réalisez-vous un sérogroupage O complet dans votre laboratoire ? », 107 participants ont répondu par l'affirmative. On note que 363 participants ne réalisent qu'un sérogroupage O partiel (tableau X). Dans ce cas, la majorité utilise l'antisérum nonavalent (O111, O55, O26, O86, O119, O127, O125, O126, O128) commercialisé par BioRad et en cas d'agglutination, teste les 3 mélanges trivalents (I, II, III) correspondants. En l'absence d'agglutination, le mélange trivalent IV (O114, O124, O142) est testé.

Le séro groupe O de la souche testée a été précisé par 186 laboratoires, alors qu'à la question précédente « réalisez-vous un sérogroupage O complet ? », seuls 107 laboratoires ont répondu « oui ».

On note pour la souche du lot 1 près de 97% de réponses correctes : *E. coli* O26. Le pourcentage de réponses exactes est moins élevé pour la souche du lot 2, près de 81% *E. coli* O55. La confusion la plus fréquente (17% des réponses) observée avec *E. coli* O157 est due au caractère sorbitol négatif de la souche (tableau XI).

**Il faut savoir que même si la très grande majorité des *E. coli* O157:H7 sont sorbitol (-), ce caractère n'est pas spécifique. En effet, des *E. coli* non O157, voire non pathogènes peuvent être sorbitol (-) et d'authentiques EHEC O157:H7 sont sorbitol (+). Par conséquent, il ne faut pas rendre un résultat O157 en se basant uniquement sur le caractère sorbitol (-).**

**tableau IX** - participants ayant désigné (« oui ») et/ou exclu (« non ») un des deux pathovars EHEC ou EPEC

EHEC/STEC	EPEC	effectif
non	<b>oui</b>	106
pas de réponse ou ne sais pas	<b>oui</b>	291
<b>oui</b>	<b>oui</b>	20
non	non	11
pas de réponse ou ne sais pas	non	25
<b>oui</b>	non	48
non	pas de réponse ou ne sais pas	46
<b>oui</b>	pas de réponse ou ne sais pas	44

**tableau X** - sérogroupage O complet ou partiel

Sérogroupage O		effectif	
complet	partiel		
<b>oui</b>	oui	14	} 107 (8,7%)
<b>oui</b>	non	23	
<b>oui</b>	-	70	
non	<b>oui</b>	269	} 363 (29,7%)
-	<b>oui</b>	94	
non	non	156	
-	-	596	

**tableau XI** - identification du séro groupe O

Séro groupe O ?	<i>E. coli</i> lot 1 (O26)	<i>E. coli</i> lot 2 (O55)
Pas de réponse	532 (86%)	504 (84%)
Réponse	87 (14%)	99 (16%)
Détail des réponses	O26 (96,6%) O157 (3,4%)	O55 (80,8%) O157 (17,2%) O111 (2,0%)

## Bibliographie

Gouali M., Weill FX., Les *Escherichia coli* entérohémorragiques : des bactéries d'actualité. Revue Francophone des laboratoires, 2013, 449 bis, 44-49.

Brugère H., Auvray F., Mariani-Kurkdjian P., King L.A., Loukiadis E., *E.coli* producteurs de shigatoxines (STEC) : définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC). BEH Hors série, 9 mai 2012, 20-25.

## Enquête sur les techniques utilisées dans les LBM pour la recherche des pathovars entériques de *E. coli*

Par ailleurs, dans le prolongement du diagnostic du pathovar et du sérotype O des deux souches proposées, cette opération de contrôle a été l'occasion de réaliser en collaboration avec le CNR, une enquête plus générale sur les techniques utilisées dans les LBM pour la recherche des pathovars entériques de *E.coli*.

Dans cet objectif, les 1373 laboratoires concernés par cette opération de contrôle en bactériologie générale (identification et/ou antibiogramme) ont été invités à répondre au questionnaire suivant concernant les techniques susceptibles d'être utilisées dans leur laboratoire :

1 - PCR (recherche des gènes de virulence) ? (Oui/Non)

▶ si Oui, gènes recherchés ? Au choix : *stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*, *bpfA*, *st*, *lt*, *aggR*

▶ si Oui, échantillons utilisés ? Au choix : selles, bouillon (enrichissement), colonies

2 - Test immunologiques rapides (recherche de Shigatoxines) ? (Oui/Non)

▶ si Oui, techniques utilisées ? Au choix : immunochromatographie, latex, ELISA

▶ si Oui, échantillons utilisés ? Au choix : selles, bouillon (enrichissement), colonies

3 - Milieux de culture pour la recherche des EHEC (géloses spécifiques de *E.coli* O157 ou de *E.coli* producteurs de shigatoxines) ?

4 - Sérogroupage (latex ou antisérums agglutinants) ? (Oui/Non)

▶ Au choix : polyvalents, monovalent O157, autres monovalents

5 - Dans le cas où le diagnostic des EHEC n'est pas réalisé au laboratoire ou pour confirmer une souche suspecte (recherche de facteurs de virulence, sérogroupage,...)

▶ transmission des souches au CNR ? (Oui/Non),

▶ transmission des souches à un autre laboratoire ? (Oui/Non)

C'est la première fois que ce type d'enquête est réalisé depuis 2003, année où l'InVS en collaboration avec le CNR (Institut Pasteur) et le CNR associé (Hôpital Robert Debré) avait réalisé une enquête sur les méthodes de diagnostic des EPEC et des EHEC dans les LBM (1). Le questionnaire avait été adressé à 917 LBM : 418 (la totalité) hospitaliers et 509 privés sélectionnés aléatoirement. Le taux de participation avait été de 39%.

## Résultats des participants et commentaires

Sur les 1373 laboratoires inscrits à cette opération de contrôle, 1319 (dont 5 laboratoires étrangers) ont retourné le bordereau réponse à l'Ansm, soit un taux de participation de 96,1%. La répartition de ces derniers est représentée figure 13. Si l'on exclut les 97 laboratoires qui ont renvoyé un bordereau réponse vierge (antibiogramme et recherche du pathovar entérique de *E. coli* non réalisés au laboratoire), il reste 1217 bordereaux réponses exploitables parmi lesquels on note 77 (6,3%) bordereaux ne comportant aucune réponse au questionnaire et 1140 (93,7%) bordereaux comportant au moins une réponse à l'une des cinq questions. La répartition des 1140 « répondants » (Hôpital/privé et métropole/hors métropole) est détaillée tableau XII.

En ce qui concerne la recherche des gènes de virulence par PCR, seuls 25 laboratoires (24 en métropole et 1 hors métropole), tous hospitaliers ont indiqué réaliser cette analyse. Il était important d'identifier ces laboratoires susceptibles de jouer un rôle majeur dans le traitement des prélèvements en cas d'épidémie de diarrhées sanglantes à *Escherichia coli* entérohémorragique. En 2003, selon l'enquête réalisée par l'InVS, ils n'étaient que 16, également hospitaliers (1).

Sur 22 régions, toutes sont représentées à l'exception de cinq : Auvergne, Basse Normandie, Corse, Picardie et PACA.

Les gènes recherchés sont dans tous les cas : *stx1* et *stx2*, soit seuls (6 laboratoires), soit accompagnés du gène *eae* seul (12 laboratoires), soit accompagnés d'une combinaison de gènes dont le gène *eae* (7 laboratoires). Les gènes recherchés sont : *bfpA* marqueur des EPEC « typiques » (4 laboratoires), *aggR* marqueur des EAEC (4 laboratoires), *st* et *lt* marqueurs des ETEC (3 laboratoires) et *hlyA* (3 laboratoires).

Les différents échantillons à partir desquels une PCR peut être effectuée sont les selles, les bouillons d'enrichissement ou les colonies suspectes d'*E.coli*. Vingt-quatre laboratoires ont précisé le type d'échantillons utilisés (tableau XIII).

Les tests immunologiques « rapides » de type immunochromatographie, ELISA ou latex sensibilisé pour détecter les shigatoxines Stx1 et Stx2 ne sont utilisés que par 71 (6,2%) laboratoires. La répartition des réponses (Hôpital/privé et métropole/hors métropole) est détaillée tableau XIV. Les laboratoires utilisent en majorité (77,5%) les tests immunochromatographiques, suivis par les latex (21,1%) et un seul laboratoire utilise un test ELISA (tableau XV).

Soixante-huit laboratoires ont précisé le type d'échantillons utilisés (tableau XVI).

Les caractères sorbitol(-) et  $\beta$ -glucuronidase(-) du sérotype O157:H7 ont été utilisés pour la réalisation de milieux d'isolement chromogènes spécifiques de ce sérotype prédominant chez les EHEC, comme le milieu MacConkey sorbitol (colonie sorbitol(-) : incolore, colonie sorbitol (+) : rouge) ou le milieu SMAC-  $\beta$ CIG qui en plus du sorbitol contient d'un substrat chromogène de la  $\beta$ -glucuronidase. De plus, ces milieux peuvent être rendus plus sélectifs par l'addition de céfixime et de tellurite de K (milieu SMAC-CT). Plus récemment, des milieux chromogènes permettant de détecter non seulement O157 mais aussi d'autres sérogroupes de STEC sont apparus. Par exemple, le milieu CHROMagar STEC avec des sensibilités allant de 69 à 100% selon le séro groupe considéré.

En métropole, 10% des laboratoires privés et 20% des laboratoires hospitaliers utilisent ce type de milieux chromogènes (tableau XVII).

Le sérotypage O:H est du ressort d'un centre de référence. Dans la pratique courante, les laboratoires se limitent au sérogroupage O, complet ou partiel, réalisé par agglutination sur lames de colonies bactériennes suspectes à l'aide de sérums anti-O, essentiellement pour le diagnostic des EPEC et des EHEC. Cette technique est largement pratiquée en raison de sa simplicité et concerne près de la moitié des laboratoires ayant répondu au questionnaire (tableau XVIII). Néanmoins, le sérogroupage ne reste qu'un diagnostic d'orientation. Plusieurs sérogroupes sont associés aux EHEC. Selon le CNR, leur distribution entre 2006 et 2010 en France était la suivante : O157 est prédominant (42%), suivi de O26 (15%), puis par ordre décroissant O117 (5%), O121 (3%), O128 (2%), O111 (2%), O123 (2%), etc.. Bien qu'étant le sérotype majoritairement retrouvé dans les infections à EHEC, *E. coli* O157 représente ces dernières années moins de 40% des sérogroupes incriminés (34% en 2013 et 39,3% en 2012).

On note que les pratiques (utilisation de sérums polyvalents, monovalent O157, autres monovalents) diffèrent selon le type de laboratoire (hospitaliers ou privés) (tableau XIX) : la majorité (58,8%) des privés n'utilisent que des sérums polyvalents conduisant à un sérogroupage partiel et ils ne sont que 23% à disposer en plus de sérums monovalents permettant un sérogroupage complet. L'inverse est observé pour les laboratoires hospitaliers (respectivement 13,8% et 37,7%). Par ailleurs, les deux tiers des hospitaliers ne recherchent spécifiquement que le séro groupe O157, alors qu'ils ne sont que 9% des privés.

En ce qui concerne la transmission des prélèvements ou des souches, dans le cas où le laboratoire ne réalise pas le diagnostic des EHEC ou lorsqu'il souhaite confirmer une souche suspecte (recherche de facteurs de virulence, sérogroupage, ...), on observe que la majorité (60,4%) des LBM transmettent au CNR, tandis que 27,7% effectuent leur envoi vers un autre LBM (tableau XX). Enfin, près d'un LBM sur dix transmet selon ses besoins au CNR ou à un autre LBM.

En conclusion, les résultats de cette enquête montrent que la majorité des laboratoires n'ont pas les capacités techniques de diagnostiquer une infection à EHEC. En effet, seulement 12,5% d'entre eux réalisent une culture sur milieux chromogènes, 6,2% utilisent des techniques immunologiques et 2,2% effectuent la recherche des facteurs de pathogénicité des EHEC par PCR.

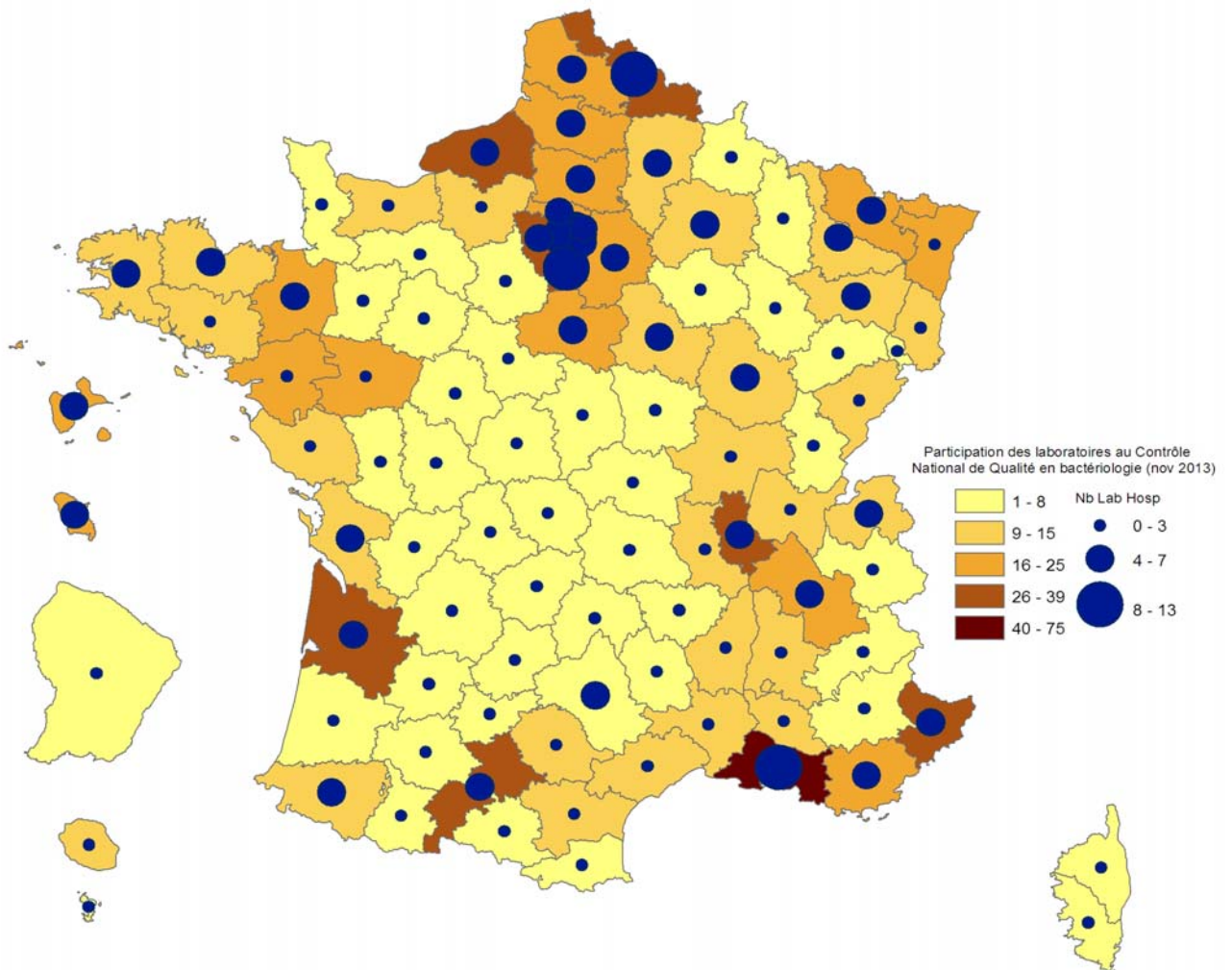
La détection précoce des infections à EHEC est basée sur la mise en évidence dans les selles ou à partir d'un écouvillon rectal des gènes de virulence et/ou des souches d' *E. coli* productrices de Shiga-toxines (*stx1* et/ou *stx2*). Cette recherche doit être envisagée dans les cas de diarrhée sanglante ou glairo-sanglante pour lesquels la recherche de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* s'est révélée négative et en cas de suspicion de SHU (syndrome hémolytique et urémique) ou de PTT (purpura thrombotique thrombocytopénique)



L'apport des laboratoires de biologie médicale est essentiel pour améliorer la surveillance épidémiologique des SHU et estimer l'incidence des diarrhées à STEC en France. Cette surveillance nécessite une transmission de renseignements cliniques pertinents des médecins aux microbiologistes pour améliorer l'acheminement des prélèvements aux laboratoires susceptibles de réaliser la recherche des STEC. L'isolement, le sérotypage des souches et la détection des gènes de virulence lors d'une diarrhée sanglante chez les personnes à risque (enfants et personnes âgées) susceptibles de développer un SHU sont fortement recommandés.

Le CNR (Institut Pasteur, Paris) et son laboratoire associé (laboratoire de bactériologie, Hôpital Robert-Debré, Paris) peuvent apporter aux LBM leur appui technique et leur expertise pour le diagnostic des infections à EHEC, la confirmation et le sérotypage des souches de *E. coli* productrices de Shiga-toxines sous réserve de disposer des renseignements cliniques (<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b-000031-013/identite-et-coordonnees>)

**figure 13** - répartition géographique (métropole et DOM) des 1314 laboratoires participants



**tableau XII** - répartition des 1140 laboratoires « répondants »

	Hôpital	Privés	Total
Métropole	330	749	1079 (94,6%)
Hors métropole	19	42	61 (5,4%)
Total	349 (30,6%)	791 (69,4%)	1140

**tableau XIII** - échantillons utilisés pour la recherche des gènes de virulence par PCR

selles	bouillon	colonie	Total
		+	8
+	+	+	5
+		+	5
	+	+	4
+			1
	+		1
Total			24

**tableau XIV** - utilisation des tests immunologiques pour la détection des shigatoxines en fonction du type de LBM

		OUI	NON	Pas de réponse	Total
Métropole	Hôpital	42	241	47	330
	Privés	24	579	146	749
Hors métropole	Hôpital	5	11	3	19
	Privés	0	35	7	42
Total		71 (6,2%)	866 (76%)	203 (17,8%)	1140

**tableau XV** - répartition (Hôpital/privés) des différents tests immunologiques pour la détection des shigatoxines

	immunochromatographie	latex	ELISA	Total
Hôpital	42	4	1	47
Privés	13	11		24
Total	55 (77,5%)	15 (21,1%)	1 (1,4%)	71

**tableau XVI** - échantillons utilisés pour la réalisation des tests immunologiques de détection des shigatoxines

	selles	bouillon	colonie	Total
immunochromatographie		+		23
	+			8
	+	+	+	7
	+		+	6
	+	+		5
			+	3
			+	1
latex			+	13
	+			1
ELISA			+	1
Total				68

**tableau XVII** - répartition des laboratoires utilisant des milieux d'isolement spécifiques de E. coli O157

		OUI	Total
Métropole	Hôpital	69 (20,9%)	330
	Privés	68 (9,1%)	749
Hors métropole	Hôpital	2 (10,5%)	19
	Privés	4 (9,5%)	42
Total		143 (12,5%)	1140

**tableau XVIII** - réalisation du sérogroupage O complet ou partiel en fonction du type de laboratoire

		OUI	NON	Pas de réponse	Total
Métropole	Hôpital	159	123	48	330
	Privés	365	252	132	749
Hors métropole	Hôpital	8	8	3	19
	Privés	17	16	9	42
Total		549 (48,2%)	399 (35%)	192 (16,8%)	1140

**tableau XIX** - antisérums (polyvalents, monovalent O157, autres monovalents) utilisés pour le sérogroupage

	Hôpital	Privés	Total
Polyvalent(s)	23 (13,8%)	220 (58,8%)	243 (44,9%)
Polyvalent(s) + monovalent O157	19 (11,4%)	33 (8,8%)	52 (9,6%)
Polyvalent(s) + autres monovalents	21 (12,6%)	60 (16,0%)	81 (15,0%)
Polyvalent(s) + monovalent O157 + autres monovalents	42 (25,1%)	26 (7%)	68 (12,6%)
monovalent O157	62 (37,1%)	35 (9,4%)	97 (17,9%)
Total	167	374	541

**tableau XX** - transmission des souches (CNR ou autre LBM) en fonction du type de laboratoire

Transmission des souches :			Métropole		Hors métropole	
CNR	autre LBM	Total	Hôpital	Privés	Hôpital	Privés
non	non	26 (2,4%)	1	24	0	1
oui	-	281 (26,2%)	78	187	7	9
oui	non	367 (34,2%)	147	209	5	6
-	oui	165 (15,4%)	23	125	2	15
non	oui	132 (12,3%)	21	104	0	7
oui	oui	102 (9,5)	38	60	3	1
Total		1073	308	709	17	39

## Bibliographie

- (1) Enquête sur les méthodes de diagnostic des *E. coli* entéropathogènes et des *E. coli* entérohémorragiques dans les laboratoires d'analyses biologiques et médicales en France en 2003 téléchargeable à l'adresse [http://www.invs.sante.fr/publications/2006/enquete\\_e\\_coli\\_2003/](http://www.invs.sante.fr/publications/2006/enquete_e_coli_2003/)
- (2) Rapports d'activité annuels du CNR téléchargeables à l'adresse <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-des-escherichia-coli--shigella-et-salmonella/actualites-rapports>

# Sérologie de la syphilis

## Définition des échantillons

Un échantillon (pool de plasmas défibrinés lyophilisé) a été adressé à chacun des 1252 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.

Deux échantillons 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 XXI.

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

	VDRL				TPHA / ELISA			
	dépistage	titrage (seuil = 1)			dépistage	titrage TPHA (seuil = 80)		
		site 1 <sup>(a)</sup>	site 2 <sup>(b)</sup>	site 3 <sup>(c)</sup>		site 1 <sup>(d)</sup>	site 2 <sup>(d)</sup>	site 3 <sup>(e)</sup>
<b>S1</b>	positif	1	4	2	positif	640	320-640	positif
<b>S2</b>	négatif	-	-	-	positif	80	80	positif

(a) : VDRL Latex Biorad, (b) RPR Nosticon II BioMérieux, (c) : RPR Carbon Cypress diagnostics, (d) : TPHA 200 Biorad, (e) : 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 non spécifique

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

En ce qui concerne l'échantillon positif S1, la proportion de dépistages négatifs, douteux et positifs obtenus en fonction du réactif utilisé est détaillée dans le tableau XIV, la distribution de fréquence des titres obtenus par les laboratoires participants tous réactifs confondus est représentée figure 13, tandis que les titres obtenus en fonction du réactif utilisé sont rapportés dans le tableau XXV.

**tableau XXII** - Réactifs utilisés

Réactif	Distributeur	Nombre utilisateurs
VDRL Carbon antigen	Abbott	2
VDRL Check Charbon	All Diag	111
RPR Reditest	Biokit	71
RPR Carbon	Biolabo	1
RPR Test	Biolys	31
RPR Nosticon II	Biomérieux	162
RPR 100 ou 500	Biorad	278
VDRL Latex	Biorad	8
RPR Carbon	Biosystems	3
RPR Carbon	Cortez diagnostics	9
RPR Carbon	Cypress diagnostics	12

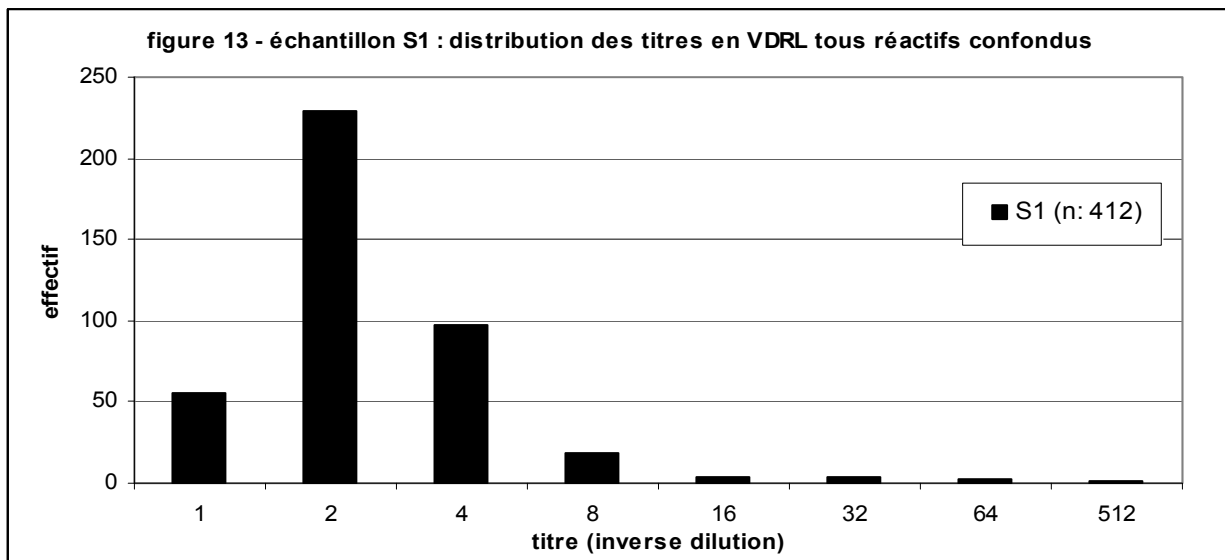
Sypal CB	Diagast	38
Sypal	Diagast	2
RPR Charbon	Elitech Diagnostic	72
VDRL Charbon	Eurobio	6
RPR Card Test	Fumouze	129
Spin Reac RPR Carbon	Inverness	14
Immutrep RPR	Omega diagnostics	9
VDRL charbon	Oxoid	12
Syphilis RPR Card Test	Randox	1
RPR	Roche	1
Servitex RPR	Servibio	56
réactif non précisé		10
<b>TOTAL</b>		<b>1038</b>

**tableau XXIII - Sérologie de la syphilis : dépistage VDRL**

	<b>S1</b>	<b>S2</b>
Effectif	533	504
Réponse attendue	positif	négatif
Dépistage «négatif»	45 (8,4%)	<b>479 (95%)</b>
Dépistage «positif»	<b>470 (88,2%)</b>	18 (3,6%)
Dépistage «douteux»	18 (3,4%)	7 (1,4%)

**tableau XXIV - échantillon S1 / réaction du groupe 1 : résultats du dépistage en fonction du réactif utilisé (effectif ≥ 5)**

		Douteux	%	Négatif	%	Positif	%	Total
VDRL Carbon	ABBOTT					1	<b>100,0</b>	1
VDRL Check	ALL DIAG	1	1,8	11	19,6	44	<b>78,6</b>	56
RPR REDITEST	BIOKIT					42	<b>100,0</b>	42
RPR TEST	BIOLYS	1	5,9	1	5,9	15	<b>88,2</b>	17
RPR NOSTICON II	BIOMERIEUX	5	5,7	5	5,7	78	<b>88,6</b>	88
VDRL LATEX	BIORAD					4	<b>100,0</b>	4
RPR 100 ou 500	BIORAD	4	2,9	11	8,1	121	<b>89,0</b>	136
RPR Carbon	BIOSYSTEMS					1	<b>100,0</b>	1
RPR test Kit	CORTEZ DIAG					4	<b>100,0</b>	4
RPR Carbon	CYPRESS DIAG					5	<b>100,0</b>	5
SYPAL CB	DIAGAST	1	6,3	2	12,5	13	<b>81,2</b>	16
SYPAL	DIAGAST					1	<b>100,0</b>	1
RPR Charbon	ELITECH	1	2,9	2	5,9	31	<b>91,2</b>	34
VDRL Charbon	EUROBIO					3	<b>100,0</b>	3
RPR Card test	FUMOUCZE	2	2,7	5	6,6	68	<b>90,7</b>	75
SPIN REAC RPR Carbon	INVERNESS			4	44,4	5	<b>55,6</b>	9
IMMUTREP RPR	OMEGA DIAG	1	25,0			3	<b>75,0</b>	4
VDRL Charbon	OXOID			1	16,7	5	<b>83,3</b>	6
SYPHILIS RPR CARD TEST	RANDOX					1	<b>100,0</b>	1
SERVITEX RPR	SERVIBIO	2	8,7	2	8,7	19	<b>82,6</b>	23
non précisé				1	14,3	6	<b>85,7</b>	7
Total		18	3,4	45	8,4	470	<b>88,2</b>	533



**tableau XXV - Echantillon S1 : titres obtenus en VDRL selon le réactif utilisé (effectif ≥ 5)**

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			1	2	4	8	16	32	> 32	
VDRL Check	ALL DIAG	39	6	22	7	2	1		1	89,7
RPR TEST	BIOLYS	10		6	3	1				90,0
RPR NOSTICON II	BIOMERIEUX	64	2	35	17	5	3	1	1	93,8
RPR 100 ou 500	BIORAD	111	30	65	15	1				99,1
RPR Carbon	CYPRESS DIAG	5		2	3					100,0
SYPAL CB	DIAGAST	11	2	7	2					100,0
RPR Charbon	ELITECH	29		13	12	3		1		96,6
RPR Card test	FUMOUCHE	58	6	37	11	2		2		93,1
RPR REDITEST	BIOKIT	36	3	12	18	2			1	97,2
VDRL Charbon	OXOID	5		5						100,0
SERVITEX RPR	SERVIBIO	19	5	10	3	1				94,7
tous réactifs confondus		412	56	229	97	19	4	4	3	92,7

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

: zone correspondant au titre modal

: zone de conformité

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

Les techniques employées ainsi que le détail des réactifs correspondant à chaque technique sont rapportés dans le tableau XXVI. La place occupée par chacune de ces techniques en 2013 est comparée à celles des opérations de contrôle précédentes dans le tableau XXVII.

Les résultats obtenus en dépistage TPHA pour les deux échantillons sont rassemblés dans le tableau XXVIII. 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 XXIX. Les réponses attendues apparaissent en gras (tableaux XXVIII et XXIX).

Enfin, pour les deux échantillons, la distribution des titres obtenus en TPHA tous réactifs confondus est représentée figures 14, tandis que les titres obtenus en fonction du réactif utilisé sont respectivement rapportés dans les tableaux XXX à XXXI.

tableau XXVI - Réactifs du groupe 2

Techniques / réactifs	Distributeur	Nombre utilisateurs
<b>TPHA (68,4%)</b>		
TPHA Check	All Diag	46
Syphagen TPHA	Biokit	69
Syphagen TPHA auto	Biokit	1
TPHA	Biolys	9
TPHA 100	Biomérieux	75
TPHA 200 ou 500	Biorad	271
Syphilis TPHA OC 2000	Biorad	3
TPHA	Cypress diagnostics	17
TPHA	Elitech	64
TPHA 200T	Eurobio	9
Immutrep TPHA	Omega diagnostics	67
TPHA Liquid	Human diagnostics	20
SPIN REAC TPHA	Inverness	15
TPHA	Oxoid	7
Syphilis TPHA	Randox	3
Servitex TPHA 200	Servibio	38
Cellognost TPHA	Siemens	2
Syphilis TPHA	Sobioda	
<b>ELISA (17,2%)</b>		
Architect Syphilis TP	Abbott	72
Syphilis EIA (G+M)	Bioadvance	4
Syphilis EIA (G)	Bioadvance	5
Syph Ab Bio-Evolution	Bioadvance	4
Syphilis total Antibody EIA	Biorad	9
ID PaGIA Syphilis	Biorad	5
Chorus syphilis screen recombinant	BMD	2
LIAISON	Diasorin	41
ETI-TREPONEMA Plus	Diasorin	1
ICE Syphilis	Diasorin	1
EIAgen TMPA Screen Recomb	Ingen	1
Vitros TPA	Ortho Clinical diagnostics	4
Enzygnost syphilis	Siemens	1
Immulate 2000	Siemens	19
Advia Centaur	Siemens	11
<b>Immuno-chromatographie (9,1%)</b>		
Syphilitop Optima	All Diag	61
Syphilis test	Biolys	14
SD Bioline Syphilis 3.0	Alere	3
Determine syphilis TP	Alere	1
Visitect	Omega diagnostics	5
Toyo syphilis	Servibio	11
<b>Immunoturbidimétrie (2,2%)</b>		
TPLA	Roche	23
<b>Agglutination sur particule (TPPA) (1,9%)</b>		
Serodia-TP.PA	Siemens	20
<b>Immunofluorescence indirecte (0,1%)</b>		
Trepo-spot IF	Biomérieux	1
<b>réactif non précisé (1,1%)</b>		
<b>TOTAL</b>		<b>1047</b>

tableau XXVII - Evolution de la place occupée par les différentes techniques entre 2004 et 2013 (réaction du groupe 2)

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

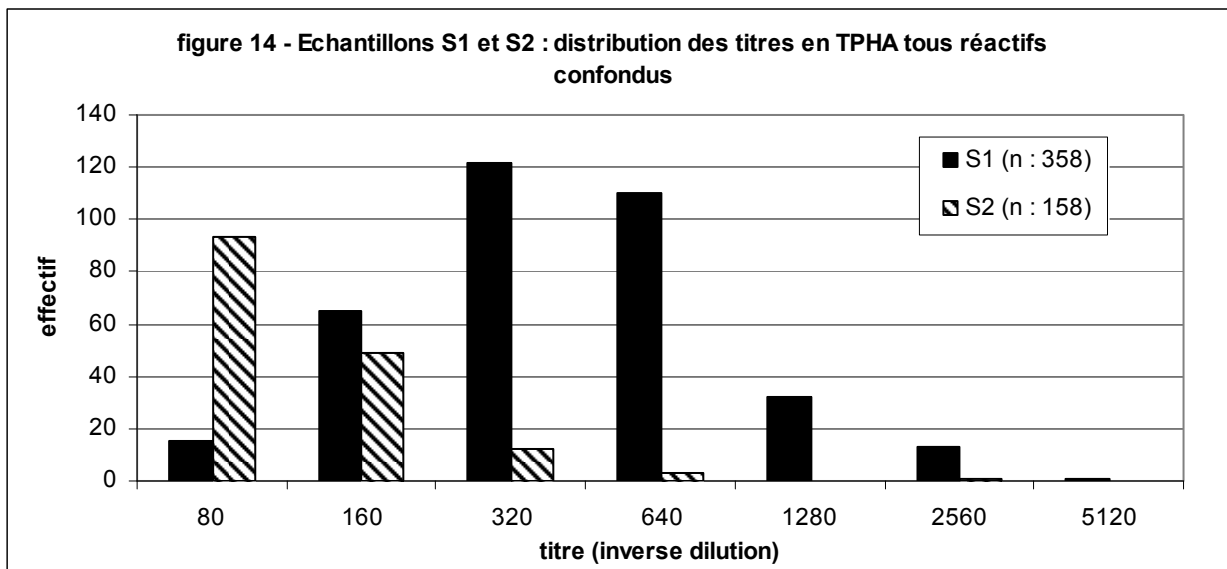
tableau XXVIII - Sérologie de la syphilis : dépistage méthodes du groupe 2

	S1	S2
Effectif	536	511
Réponse attendue	Positif	Positif / Douteux
Dépistage «négatif»	5 (0,9%)	230 (45%)
Dépistage «positif»	<b>524 (97,8%)</b>	<b>244 (47,8%)</b>
Dépistage «douteux»	7 (1,3%)	<b>37 (7,2%)</b>

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

		Douteux	%	Négatif	%	Positif	%	Total
<b>ELISA :</b>								
ARCHITECT Syphilis TP	ABBOTT	1	<b>2,6</b>			37	<b>97,4</b>	38
SYPHILIS Ac Totaux EIA	BIORAD					5	<b>100,0</b>	5
LIAISON	DIASORIN					17	<b>100,0</b>	17
IMMULITE 2000	SIEMENS					9	<b>100,0</b>	9
ADVIA CENTAUR	SIEMENS					7	<b>100,0</b>	7
<b>IMMUNOCHROMATOGRAPHIE :</b>								
SYPHILITOP OPTIMA	ALL DIAG	1	<b>2,9</b>	31	91,2	2	<b>5,9</b>	34
SYPHILIS TEST	BIOLYS			7	70,0	3	<b>30,0</b>	10
Toyo syphilis	SERVIBIO			2	28,6	5	<b>71,4</b>	7
<b>TPHA :</b>								
TPHA check	ALL DIAG	1	<b>4,3</b>	18	78,3	4	<b>17,4</b>	23
SYPHAGEN TPHA	BIOKIT	5	<b>17,2</b>	6	20,7	18	<b>62,1</b>	29
TPHA	BIOLYS			5	71,4	2	<b>28,6</b>	7
TPHA 100	BIOMERIEUX	1	<b>3,1</b>	28	87,5	3	<b>9,4</b>	32
SYPHILIS TPHA 200 ou 500	BIORAD	15	<b>10,8</b>	37	26,6	87	<b>62,6</b>	139
TPHA	ELITECH	1	<b>3,0</b>	30	90,9	2	<b>6,1</b>	33
TPHA 200T	EUROBIO	1	<b>20,0</b>	4	80,0			5
TPHA Liquid	HUMAN DIAG			7	87,5	1	<b>12,5</b>	8
SPIN REAC TPHA	INVERNESS	1	<b>14,3</b>	5	71,4	1	<b>14,3</b>	7
IMMUTREP TPHA	OMEGA DIAG	3	<b>10,3</b>	23	79,3	3	<b>10,3</b>	29
TPHA	OXOID			4	66,7	2	<b>33,3</b>	6
SERVITEX TPHA 200 ou 100	SERVIBIO	2	<b>10,0</b>	11	55,0	7	<b>35,0</b>	20
<b>TPLA :</b>								
TPLA	ROCHE	2	<b>20,0</b>			8	<b>80,0</b>	10
<b>TP.PA :</b>								
SERODIA-TP.PA	SIEMENS					9	<b>100,0</b>	9
total		37	<b>7,2</b>	230	45,0	244	<b>47,8</b>	511





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

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)							% titres conformes*
			80	160	320	640	1280	2560	5120	
TPHA check	ALL DIAG	20	1	7	9	3				100,0
SYPHAGEN TPHA	BIOKIT	37		4	15	11	4	3		91,9
TPHA 100	BIOMERIEUX	36		8	23	4	1			97,2
SYPHILIS TPHA	BIORAD	124	2	9	32	57	19	5		94,4
TPHA	CYPRESS DIAG	13	2		1	7	3			84,6
TPHA	ELITECH	27	5	16	6					100,0
TPHA Liquid	HUMAN DIAG	7		3	3				1	85,7
IMMUTREP TPHA	OMEGA DIAG	35	1	11	18	5				100,0
SERVITEX TPHA	SERVIBIO	17	1	3	4	6	1	2		82,4
SERODIA-TP.PA	SIEMENS	11		1	2	4	2	2		72,7
tous réactifs confondus		358	15	65	122	110	32	13	1	91,9

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

: zone correspondant au titre modal

: zone de conformité

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

Réactif	Distributeur	effectif	Titre (inverse de dilution)					% titres conformes*
			80	160	320	640	> 640	
TPHA check	ALL DIAG	5	1	2	2			100,0
SYPHAGEN TPHA	BIOKIT	16	7	5	2	2		87,5
SYPHILIS TPHA	BIORAD	94	60	29	4	1		98,9
IMMUTREP TPHA	OMEGA DIAG	5	4	1				100,0
SERVITEX TPHA	SERVIBIO	7	3	2	2			100,0
SERODIA-TP.PA	SIEMENS	8	5	2	1			87,5
tous réactifs confondus		158	93	49	12	3	1	97,5

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

: zone correspondant au titre modal

: zone de conformité

## Commentaire

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

En ce qui concerne l'échantillon S2 négatif en VDRL, on observe 95% de dépistages corrects (tableau XXIII). L'analyse des pourcentages de dépistages corrects en VDRL en fonction du réactif utilisé ne permet pas de mettre en évidence un éventuel défaut de spécificité d'un réactif particulier. Par conséquent, l'hypothèse la plus probable est que certains laboratoires hésitent à rendre un VDRL négatif lorsque le TPHA est positif.

En ce qui concerne l'échantillon S1, « VDRL positif », le pourcentage de dépistages corrects égal à 88,2% est insuffisant (tableau XXIII). Néanmoins, on note une nette progression (+ 14%) par rapport à l'opération de contrôle 09BAC2 pour laquelle un échantillon « VDRL positif » de titre identique (VDRL = 2) avait conduit à 68% de dépistages positifs.

Pour l'échantillon S1, les pourcentages de faux négatifs obtenus en fonction du réactif utilisé sont par ordre décroissant : Spin Reac RPR Carbon INVERNESS (44,4%), VDRL Check ALL DIAG (19,6%), VDRL Charbon OXOID (16,7%), SYPAL CB DIAGAST (12,5%), SERVITEX RPR SERVIBIO (8,7%), RPR BIORAD (8,1%) (tableau XXIV).

En ce qui concerne les résultats positifs, 87% des laboratoires ont précisé le titre observé. Le titre modal obtenu avec chaque réactif est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal (égal à 2) tous réactifs confondus, ce qui conduit à un pourcentage global élevé (92,7%) de titres conformes (tableau XXV).

Deux industriels ont réalisé des analyses complémentaires sur cet échantillon :

- la société Biorad a testé 3 lots (102340, 102904, 103650) du kit RPR 100 avec deux échantillons S1 : l'un provenant d'un LBM client qui avait trouvé un résultat négatif avec le lot 102340 et l'autre provenant de l'Ansm. Les résultats négatifs n'ont pas été reproduits. En effet, l'ensemble des tests a conduit à des résultats positifs (titre égal à 2).

- la société All Diag a testé 5 lots (674302, 674303, 674306, 674308, 674402) du kit VDRL Check, soit à J0 après reconstitution de l'échantillon lyophilisé, soit à J+1. Dans tous les cas, l'échantillon est positif avec cependant une différence d'intensité : positif faible à J0 et positif à J+1.

D'autre part, All Diag signale qu'une agitation à 180 rpm/4 mn ou à 150 rpm/8 mn (comme l'indique la notice) est nécessaire car l'échantillon est négatif à une vitesse et un temps inférieurs.

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

Plusieurs techniques (TPHA, TP.PA, ELISA, immunochromatographie, FTA-abs) sont à la disposition des biologistes pour la réalisation d'un test tréponémique (tableau XXVI). Depuis 2004, on note une augmentation de l'utilisation des techniques ELISA (+7%) au détriment du TPPA (-2%) et surtout du TPHA (-14%) qui reste toutefois majoritairement utilisé (68,4% des participants). L'immunochromatographie, quant à elle, marque le pas et chute de 7% par rapport à la dernière opération de contrôle réalisée en 2010 pour passer sous la barre des 10% d'utilisateurs (tableau XXVII).

L'échantillon positif S1 (titre modal en TPHA = 320 - 640), avec 97,8% de dépistages corrects n'a pas posé de problème (tableau XXVIII). C'est un très bon résultat, proche de celui obtenu pour deux échantillons de titre légèrement supérieur (égal à 640) testés lors des opérations de contrôle précédentes et pour lesquels 97,8% et 99,8% de dépistages corrects avaient été obtenus.

Le titre modal obtenu avec chaque réactif est identique ou ne s'écarte que d'une dilution du titre modal tous réactifs confondus, ce qui conduit à un pourcentage global élevé (91,9%) de titres conformes (tableau XXX).

En revanche, pour l'échantillon positif S2 de titre faible (titrage des deux laboratoires experts en TPHA = 80, égal au seuil), la réponse attendue était : dépistage positif ou dépistage douteux. On note 45% de faux négatifs, ce qui n'est pas étonnant pour un échantillon dont le titre est aux alentours du seuil (tableau XXVIII). En 2008 et 2009, pour deux échantillons comparables (VDRL négatif, TPHA = 80), les pourcentages de faux négatifs obtenus étaient respectivement de 26% et 70%.

L'analyse détaillée des résultats obtenus en fonction du réactif utilisé (tableau XXIX) permet de distinguer d'une part les techniques ELISA, TP.PA et TPLA pour lesquelles on n'observe aucun faux négatif et les techniques TPHA ou immunochromatographie d'autre part, comparativement moins sensibles, dont le taux de faux négatifs s'échelonne de 20,7 à 91,2%. Parmi ceux-ci, sept réactifs présentent un taux de faux négatifs supérieur à 75% : Syphilip Optima / All Diag (91,2%), TPHA / Elitech (90,9%), TPHA 100 / Biomérieux (87,5%), TPHA Liquid / Human Diag. (87,5%), TPHA 200 / Eurobio (80%), Immutrep TPHA / Omega Diag. (79,3%), TPHA check / All Diag (78,3%).

Deux industriels ont réalisé des analyses complémentaires sur cet échantillon fourni par l'Ansm à leur demande :

- la société All Diag a testé les 3 réactifs qu'elle commercialise pour la réalisation d'un test tréponémique : TPHA Check, Syphilip Optima (immunochromatographie), RecomBlot Treponema IgG (Western Blot). Le résultat

obtenu est positif (titre = 80) avec le TPHA Check (lot 7042600), mais négatif avec le Syphilitop (lot 24080) et le Western Blot IgG (lot LTP10131).

- la société Fumouze distributeur du test Immutrep TPHA a également rendu un rapport d'étude réalisé par le fabricant Omega Diagnostics sur le lot 7040590. Les résultats (positif faible au 1/64 et négatif au 1/168) sont concordants avec le résultat attendu.

Parmi les participants ayant rendu un dépistage positif ou douteux en TPHA, 85% ont précisé le titre trouvé. Selon le réactif utilisé, le pourcentage de titres conformes s'échelonne de 87,5 à 100% (tableau XXXI).