

Centre National de Référence de la Syphilis

www.cnr-syphilis.fr



CNR Syphilis

CNR Syphilis

Service de Dermatologie – Vénérologie

Hôpital Cochin – Pavillon Gustave Roussy, Laboratoire de Dermatologie

Etage 4, porte 405 - 8, rue Méchain - 75014 Paris

Pr. Nicolas DUPIN / Dr. Philippe GRANGE / Dr. Nadjet BENHADDOU / Dr. Anne BIANCHI

Tel. 0158-411-849 / 0144-412-560 / 0158-411-287 / 0148-481-634

Fax. 0158-411-675 / 0158-412-983 / 0158-411-548 / 0148-507-462

E-mail. nicolas.dupin@cch.aphp.fr / philippe.grange@cch.aphp.fr / nadjet.benhaddou@cch.aphp.fr / abianchi@cg93.fr

Rapport d'évaluation du test rapide d'orientation diagnostic HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody. INSTI / NEPHROTEK sur le panel « syphilis n°1 » du centre national de référence (CNR) de la syphilis en France.

Introduction

L'évaluation des performances en terme de faisabilité, sensibilité et spécificité du test rapide d'orientation diagnostic sérologique (HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody. INSTI), non encore commercialisé, sur le panel syphilis (N°1) du CNR à été réalisée au laboratoire Départemental de Seine Saint Denis de Novembre 2010 à octobre 2011. Le test est un test dit en format « savonnette » combiné qui détecte à la fois les anticorps anti-tréponémiques et anti-VIH. Seuls les résultats concernant la sérologie tréponémique sont retenus. Le travail réalisé sur un panel sélectionné ne permet pas de déterminer la valeur prédictive positive ou négative du test.

Il a été réalisé dans le cadre des missions du CNR d'évaluation des outils diagnostic de la syphilis et aucune rémunération n'a été perçue pour cette étude.

La version présente rajoute l'évaluation des résultats obtenus vis-à-vis de la sérologie du VIH, avec reprise des sérums congelés qui ont été testés en sérologie VIH par la technique automatisée utilisée en routine au laboratoire départemental.

Matériel et méthodes

Réactifs :

Les trousse ont été fournies par la société Laboratoires Nephrotek. Il s'agit du test HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody (Test for research purpose only. INSTI. Biolytical Laboratories Inc, Richmond, B.C. Canada). Le lot BOA151 date de péremption le 25/03/2011 à été utilisé pour les premiers essais et le lot B9J131-1 date de péremption le 12/04/2011 pour les contrôles.

Deux trousse Genscreen ULTRA HIV Ag-Ab ont été utilisées (Lot 1H1069-exp 2013-02-15) afin de tester le panel vis-à-vis du VIH.

Panel :

Il est constitué des :

155 premiers sérums de l'étude microbiologique engagée par le CNR en 2008 (panel

« syphilis n°1 du CNR »). Il s'agit d'échantillons, provenant principalement de l'hôpital Tarnier et Saint Louis à Paris, de patients consultants pour des infections sexuellement transmissibles (IST) en CDAG (consultation de dépistage anonyme et gratuite) ou CIDDIST (consultation d'information de diagnostic et dépistage des IST), ayant une suspicion de syphilis récente. La syphilis récente inclut la syphilis primaire - une ou plusieurs ulcérations de type syphilitique (chancre) avec mise en évidence de *Treponema Pallidum* dans les prélèvements par un examen au fond noir ou par un test d'amplification nucléique (PCR)-, la syphilis secondaire - lésions cutanéomuqueuses et une sérologie non tréponémique (VDRL ou RPR) positive associée à une sérologie tréponémique (TPHA ou ELISA) positive-, la syphilis latente précoce - stade clinique silencieux d'une syphilis datant de moins d'un an.

21 sérums négatifs en TPHA et VDRL de patients suivis pour bilan hépatique, sous traitement antituberculeux, servent de témoins négatifs. Pour chaque patient un deuxième sérum a été prélevé 15 j à 1 mois après la première analyse pour vérifier la négativité de la sérologie tréponémique et valider le dit sérum. Un résultat positif pendant cette période a conduit au retrait systématique du sérum de l'étude.

1 sérum de patient atteint de maladie de Lyme, fournis par le CNR des Borrélioses, a été testé à titre indicatif.

Les sérums conservés à -20°C, ont été décongelés une fois et « aliquotés » de façon à pouvoir réaliser l'ensemble des évaluations en ayant subi qu'une seule décongélation-congélation avant chaque essai. Les sérums ont été numérotés de 1 à 177, afin de réaliser les évaluations « en aveugle », sans connaissance des résultats pour ne pas influencer la lecture.

Le gold standard est déterminé sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques (Résultats du fond noir et de la PCR réalisés en cas de lésions, et résultats sérologiques). Une rencontre avec les médecins préleveurs ayant participé à l'étude, a permis de déterminer de façon consensuelle le statut clinique de chaque patient inclus (36 sérums ont été exclus par manque de diagnostic de certitude).

Le panel est donc constitué de 40 syphilis primaires, 41 syphilis secondaires, 22 syphilis latentes précoces, 16 sérums de consultants IST ayant eu un autre diagnostic, et 22 sérums contrôles négatifs (incluant le sérum de maladie de Lyme).

Protocole d'évaluation

- 50 µl de chaque sérum est dilué dans le flacon 1 (diluant INTS).
- Ce flacon est agité doucement par retournement et vidé en entier sur la membrane du test INTS, puis sont passés successivement sur la membrane les contenus des flacons 2 et 3
- La lecture est immédiate, réalisée par la technicienne ayant fait le test. Une deuxième lecture est réalisée dans la demi-heure suivante par une autre technicienne en aveugle
- Si une discordance est constatée dans les résultats une troisième technicienne réalise une troisième lecture en aveugle.

Résultats

Praticabilité technique

Le test rapide d'orientation diagnostic HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody est extrêmement simple à réaliser, aucune erreur de manipulation n'a été faite.

La lecture a posé un problème de discordance entre les deux lecteurs dans 2 cas sur les 177 tests effectués (1.1%), correspondant à des positifs très faibles en test rapide (une syphilis primaire chez un séronégatif pour le VIH ayant un TPHA à 320 / VDRL à 2 et une syphilis latente précoce chez un séropositif pour le VIH avec un TPHA à 160/VDRL à 8). Ces 2 résultats ont été validés comme positifs faible par le troisième lecteur.

Il n'a pas été constaté de problème de lecture lié au fait que le patient soit séropositif pour le VIH (42 séropositifs, 29.7%) quel que soit le stade de la syphilis (primaire, secondaire, latente précoce avec respectivement $p = 0.2, 1$ et 0.4).

Patients

Les caractéristiques des patients constituant le panel sont décrites dans le tableau suivant.

	syphilis primaires N=40	Syphilis Secondaire N= 41	Syphilis latentes précoces N=22	Témoins négatifs : autre diagnostic que syphilis en consultation IST N= 16	Témoins négatifs : consultation tuberculose N= 22
Hommes	40	41	20	14	8
Femmes	0	0	2	2	14
Séropositifs pour le VIH	14	16	9	3	0
Séronégatifs pour le VIH	26	25	13	13	22
Moyenne d'âge (année)	37	40	34	40	36

Performances

Tous les sérums ont réagis avec le spot « témoin réaction » de chaque savonnette, validant les résultats. Ceux-ci sont présentés sous forme de deux tableaux, l'un concernant la sensibilité et l'autre la spécificité.

Sérologie de la syphilis :

Tableau 1 :Sensibilité du test HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody. (INSTI), sur 103 sérums du panel syphilis (N°1) du centre national de référence (CNR) de la syphilis en France

Panel	Vrais positifs	Faux négatifs	Sensibilité	
40 syphilis primaires	29	11	72.5% (29/40)	72.5% (29/40)
41 Syphilis secondaire	41	0	100% (41/41)	98.4% (62/63)
22 syphilis latentes précoces	21	1*	95.5% (21/22)	
Total	91	12	88.3% (91/103)	

*Ce patient a un taux d'anticorps en TPHA à 320 et en VDRL à 1 et avait une sérologie connue négative 6 mois avant.

Dans les syphilis primaires la sensibilité est de 72.5% avec un IC 95% [59 à 83%], dans la syphilis secondaire la sensibilité est de 100% avec un IC 95% [91 à 100%], dans les syphilis latentes précoces la sensibilité est de 95.5% avec un IC 95% [78 à 99%] et sur l'ensemble des syphilis du panel la sensibilité est de 88.3% avec un IC 95% [80 à 93%].

Tableau 2 :Spécificité du test HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody. (INSTI), sur 38 sérums du panel syphilis (N°1) du centre national de référence (CNR) de la syphilis en France

Panel	Vrais Négatifs	Faux positifs	Spécificité
16 témoins négatifs : autre diagnostic que syphilis en consultation IST	16	0	100%
22 témoins négatifs : consultation tuberculose	22	0	100%
Total	38	0	100%

La spécificité est de 100% avec un IC95% de [90 à 100%].

Sérologie VIH :

L'ensemble des résultats obtenues avec le test rapide d'orientation diagnostique HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody sont concordant avec ceux du test ELISA classique avec 42 résultats positifs et 99 résultats négatifs.

Conclusion

Le test rapide de détection des anticorps anti-tréponémiques INSTI sur membrane, a une sensibilité de 72,5% (29/40) pour le diagnostic sérologique d'une syphilis primaire, ce qui est équivalent à la sensibilité dans le cadre du diagnostic de syphilis primaire du test TPHA (*Treponema pallidum* Hemagglutination Assay). La syphilis primaire correspond à une période de séroconversion de la syphilis.

La sensibilité est de 100% lors du diagnostic de syphilis secondaire (41/41) et de 95.5% (21/22) dans le diagnostic de syphilis latente précoce correspond à un patient non détecté sur 22 testés.

Sa sensibilité sur l'ensemble du panel est de 88.3% (91/103).

La spécificité de 100% pour le diagnostic sérologique de la syphilis (38/38) doit être confirmée sur un bien plus grand nombre d'échantillon.

Le test HIV-1/HIV-2/ Syphilis antibody. (INSTI), a vis-à-vis de notre panel (à priori n'ayant pas de patient en séroconversion VIH) une sensibilité de 100% et une spécificité de 100% pour le diagnostic d'infection à VIH, si on le compare à un test ELISA classique.