

Le gonocoque : le point en 2018

T. PONCIN^{1,2}, B. BERCOT^{1,2,3}

RÉSUMÉ

Depuis quelques années, la gonococcie est devenue une priorité de santé publique de par la récurrence de cette maladie sexuellement transmissible et l'émergence de souches de gonocoque résistantes aux premières lignes de traitement. En 2012, un plan de contrôle européen recommandait une bithérapie associant la ceftriaxone (500 mg, im ou iv) et l'azithromycine (1-2 g, *per os*) pour contenir l'émergence de cette résistance. En 2018, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a inscrit le gonocoque résistant aux céphalosporines de troisième génération et aux fluoroquinolones sur la liste des bactéries à surveiller prioritairement. La recrudescence de la gonococcie peut être expliquée par une prévalence augmentée chez les patients homosexuels masculins (HSH), un dépistage des sites extra-génitaux infectés et l'utilisation des techniques d'amplification d'acides nucléiques pour le diagnostic de l'infection. Actuellement, les proportions de souches de gonocoque résistantes à la tétracycline ou à la ciprofloxacine isolées en France restent élevées (respectivement 65,4 % et 37,2 % en 2017) et ne permettent pas l'administration de ces antibiotiques en première intention. Les souches de sensibilité diminuée aux céphalosporines de troisième génération, antibiotiques de choix en première intention, sont alarmantes avec l'apparition de bactéries multirésistantes conduisant à une impasse thérapeutique. La proportion de souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération reste basse en France, ne dépassant pas 1 % des souches résistantes au céfixime. Cependant, une nouvelle souche résistante à la ceftriaxone a été récemment isolée à Paris et la fréquence de résistance à l'azithromycine augmente avec plus de 5 % des isolats concernés en 2017. Ces constatations imposent une surveillance accrue de la gonococcie et une documentation des cas par isolement des souches par culture, à la fois chez les HSH mais aussi chez le patient(e)s hétérosexuel(le)s à risque d'infections sexuellement transmissibles.

MOTS-CLÉS : *Neisseria gonorrhoeae*, gonocoque, gonococcie, infection sexuellement transmissible, uréthrite, cervicite, ceftriaxone, azithromycine, résistance aux antibiotiques, PLP2, PLP mosaïques.

I. - INTRODUCTION

Les infections sexuellement transmissibles (IST) représentent un problème de santé publique mondial et, en 2012, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recensait 78 millions de cas de gonococcie (1, 2, 3). Dans notre pays comme dans le reste du monde, on constate depuis près de vingt ans une augmentation globale du nombre de cas de cette IST chez l'homme comme chez la femme et chez des patients de plus en plus jeunes (4). En 2014, dans plus d'un tiers des cas survenus en France et jusqu'à près de la moitié des cas observés en Europe (5), la gonococcie était observée chez des patients homosexuels masculins. La résistance du gonocoque aux

antibiotiques pose également un problème thérapeutique. Cette revue, concerne l'épidémiologie actuelle de la gonococcie, son diagnostic ainsi que la résistance du gonocoque aux antibiotiques et ses mécanismes moléculaires.

¹ Département des Agents Infectieux, Unité Fonctionnelle de Bactériologie, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris.

² Laboratoire associé au Centre National de Référence des Infections Sexuellement Transmissibles (<https://www.cnr-ist.fr>), expertise gonocoque.

³ Université Paris Diderot, UMR 1137, IAME, Sorbonne-Paris-Cité, Paris.

II. - DIAGNOSTIC : CLINIQUE, BACTÉRIOLOGIQUE, RECOMMANDATIONS DE DÉPISTAGE, TRAITEMENT

A) La bactérie

Neisseria gonorrhoeae est une β -protéobactérie de la famille des *Neisseriaceae*, décrite par Albert Neisser en 1879. C'est un microorganisme strictement pathogène pour l'Homme, qui possède un petit génome constitué de 2,2 millions de paires de bases (pb) et héberge un plasmide cryptique présent dans 96 % des souches. Par ailleurs, le gonocoque peut acquérir deux plasmides : l'un, de petite taille, porte le gène *bla*_{TEM-1} codant la β -lactamase TEM-1 et l'autre, de plus grande taille, peut véhiculer la résistance aux tétracyclines par la présence du transposon Tn916 et du gène *tetM*.

B) Le diagnostic clinique et bactériologique

Chez l'homme, la présentation clinique classique est l'urétrite symptomatique (blennorragie). Cependant, les formes extra-génitales asymptomatiques sont maintenant prépondérantes car mieux connues depuis la recherche systématique du gonocoque, au niveau anal et oral chez les patients à risque, par les techniques d'amplification des acides nucléiques (TAANs). Chez la femme, la cervicite est souvent asymptomatique.

Après coloration de Gram, le gonocoque apparaît comme un diplocoque à Gram négatif (Figure 1A). Cet examen présomptif, rapide et peu onéreux, est très utile pour le diagnostic d'urétrite à partir d'un pus urétral provenant d'un homme symptomatique (sensibilité > 95 %). Cependant, il est peu utile pour le diagnostic des gonococcies extra-génitales, chez la femme ou chez l'homme asymptomatique car la sensibilité de l'examen microscopique est de 30 à 40 % ; elle est toutefois plus élevée lorsque des technicien(ne)s sont expérimenté(e)s.

La culture (Figure 1B) confirme le diagnostic microscopique et est encore, à l'heure actuelle, le seul moyen pour déterminer la sensibilité du gonocoque aux antibiotiques. L'écueil majeur de la culture reste sa faible sensibilité qui est de 50 à 70 % par rapport aux approches moléculaires, notamment lorsque l'inoculum bactérien est faible et principalement dans les produits vaginaux, anaux ou pharyngés. Comme le gonocoque est une bactérie exigeante et fragile, la sensibilité de la culture est influencée par la qualité du prélèvement et le transport au laboratoire de l'échantillon. Celui-ci doit parvenir au laboratoire dans un milieu de transport spécifique puis être ensemencé sur une gélose chocolat PolyViteX®, avec ou sans antibiotiques (vancomycine, colistine, amphotéricine B, triméthoprime [VCAT] auxquels le gonocoque est insensible) ; toutefois, ceux-ci peuvent exceptionnellement inhiber la croissance bactérienne. Ces géloses sont incubées au moins 72 h et conservées pendant 5 jours à 35° C \pm 2° C en pré-

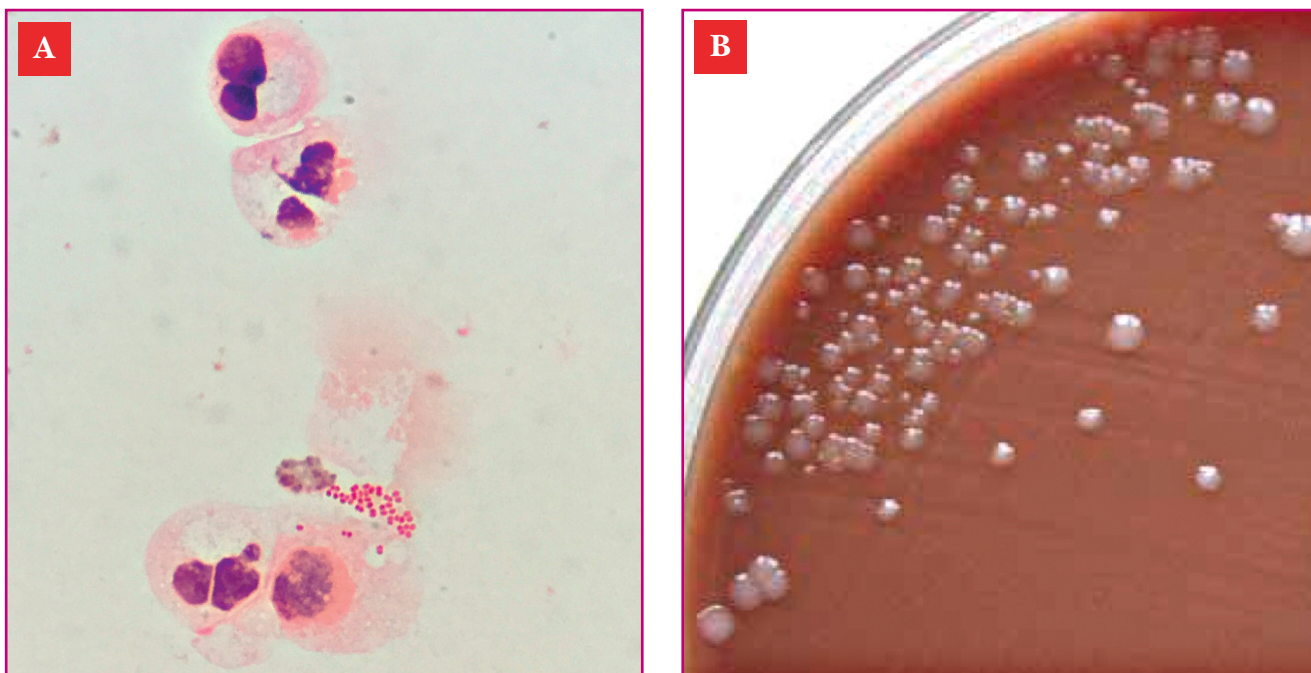


Fig. 1 - Caractéristiques morphologiques et culturelles de *N. gonorrhoeae*.

A. Examen microscopique d'un pus urétral coloré par la méthode Gram. Des diplocoques « en grain de café », à Gram négatif, majoritairement extracellulaires, sont observés. B. Culture d'un pus urétral sur une gélose chocolat PolyViteX®. Après 24 heures d'incubation en présence d'air et de 5-10 % de CO₂, les colonies sont de petite taille, grisâtres et opaques.

sence d'air enrichi de 5-10 % de CO₂ (6). L'identification reposait jusqu'à un passé récent sur des critères simples : diplocoque « en grain de café » à Gram négatif, oxydase positive, oxydant le glucose mais pas les autres carbohydrates (notamment maltose, fructose et saccharose). L'avènement de la spectrométrie de masse par la technologie MALDI-ToF permet aujourd'hui une identification fiable et rapide des souches de *N. gonorrhoeae* avec les spectromètres LT2-Andromas (Beckman-Coulter, Villepinte, France), Microflex Bruker Daltonics/BioTyper™ version 2.0 et Vitek MS (bioMérieux, France) (7, 8, données non publiées).

Les techniques d'amplification d'acides nucléiques (TAANs) sont plus sensibles que la culture. Elles facilitent le dépistage du gonocoque et doivent être privilégiées dans les cas asymptomatiques et extra-génitaux. De nombreuses troupes de réactifs sont commercialisées et il est important que le microbiologiste connaisse la cible du test utilisé et sache si celle-ci est présente en une ou plusieurs copies dans le génome. Le **tableau I** recense les principales plateformes automatisées, les cibles moléculaires (quand elles sont renseignées par le fabricant) et le nombre de leurs copies dans le génome du gonocoque. En dehors des cibles citées dans le **tableau I**, les gènes *gyrA*, *opaD*, *cppB* (situé sur le plasmide cryptique pJD1), mais aussi un fragment de 90 pb des gènes codant la cytosine DNA méthyltransférase ou une aminoacétyltransférase, ont été utilisés.

Il a longtemps été discuté la nécessité d'effectuer un test de confirmation lors de la découverte d'une positivité de la PCR alors que la culture du même échantillon biologique est stérile (6, 9). En 2013, les experts européens ont proposé que, quel soit le site infectieux, si la prévalence de la maladie est faible dans la population étudiée et que la valeur prédictive

positive (VPP) du test est < 90 %, un second test d'amplification génique ciblant une région nucléotidique différente soit réalisé. Pour les échantillons rectaux et pharyngés, aucun test n'était validé et il était recommandé de confirmer tout résultat positif avec un second test ciblant une région différente (9). En 2014, le *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) se fondait sur des études effectuées depuis 2002 montrant une concordance > 90 % avec le second test pour ne pas recommander un second test. Dans ce cadre, le second test reste préconisé pour contrôler un résultat positif à partir d'un échantillon extra-génital lorsque la technique utilisée est connue pour présenter des réactions croisées avec les *Neisseria* commensales ou dans un contexte clinique ou biologique particulier (6). Ainsi, si le patient est asymptomatique et qu'il s'agit d'un exsudat génital, le contrôle de l'analyse dépend de l'incidence de l'infection gonococcique dans la population testée, de la VPP du test, de la plateforme utilisée, des cibles détectées (multi ou monocopie) et du signal seuil d'amplification (CT, *cycle threshold*). Si le patient est asymptomatique et qu'il s'agit d'un prélèvement extra-génital (rectal et oral), il est préconisé de choisir un test ayant une excellente spécificité, en particulier sans interférence avec les *Neisseria* commensales de la cavité orale (6). En fonction du contexte clinique, la même réflexion sur le contrôle de l'analyse est appliquée et dépend de la VPP dans la population, du CT, de la cible (multi ou monocopie), de la présence d'une positivité d'un autre site. Tant sur le plan clinique que microbiologique, il est préférable d'analyser un nouvel échantillon biologique plutôt que de contrôler de manière itérative l'échantillon initial sur plusieurs automates, surtout lorsque le patient est asymptomatique et que les CT sont proches de 38. La plus grande prudence est fortement recommandée lors de la détection d'un gonocoque par PCR chez un enfant

Tableau I - Principales plateformes réalisant le diagnostic moléculaire de l'infection gonococcique.

Appareils	Fabricants	Techniques	Cibles
m2000	Abbott	RT-PCR	<i>opa</i> (11 copies) code une protéine de membrane externe
Alinity	Abbott	RT-PCR	?
BD probe Tec	Becton Dickinson	SDA	<i>piv</i> codant les pilines
GenXpert & Infinity	Cepheid	RT-PCR	? (deux cibles non définies)
Panther	Gen-Probe	TMA	<i>rrl</i> (4 copies) code l'ARNr 16S
Cobas amplicor	Roche	PCR	Ngo-PII, Cytosine DNA méthyltransférase
Cobas 4800 Cobas 6800	Roche	RT-PCR	Régions répétées DR9 (3 copies)

RT-PCR : *Reverse transcriptase* PCR ; TMA : *Transcription-mediated amplification* ; SDA : *Strand displacement amplification*.

car l'impact est majeur en raison des conséquences judiciaires, et le Centre National de Référence se tient à disposition des biologistes pour l'exploration de ces cas délicats. Par ailleurs, lors de la réalisation de la détection par un test unitaire, un résultat faussement négatif peut être observé lorsque celui-ci cible (a) le gène *cppB* localisé sur le plasmide cryptique pDJ1, absent dans 4 % des souches et (b) le gène *porA* codant une protéine de membrane externe car certaines souches ont acquis un nouveau gène *porA* provenant de *N. meningitidis* et qui n'est donc pas décelé (10). Dans ces situations, il est alors important de disposer d'une seconde cible diagnostique.

C) Description de la population exposée et des recommandations de dépistage

Dans une population âgée de 15 à 59 ans, l'incidence de la gonococcie (tous sites infectieux confondus) a été évaluée en France métropolitaine à 39/100 000 habitants, avec un maximum en Île-de-France à 78/100 000 (4). L'infection touche principalement des hommes âgés de 20 à 24 ans pour plus de la moitié des cas. Chez les femmes, plus de 80 % des cas sont diagnostiqués chez de jeunes adultes avec une prédominance chez celles âgées de 15 à 19 ans. Entre 2013 et 2015, le nombre de cas d'infection par *N. gonorrhoeae* a augmenté de 100 % chez les hommes ayant des rapports sexuels avec les hommes (HSH), de 32 % chez les femmes hétérosexuelles et de 8 % chez les hommes hétérosexuels (5, 11). La population à risque est constituée d'hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes et de bisexuels qui

constituent plus d'un tiers du réservoir en France et près de la moitié en Europe (5). Les autres personnes à risque sont les sujets hétérosexuels multipartenaires, les partenaires de patients connus, infectés ou porteurs de gonocoque ou ayant une autre IST. En ce qui concerne la transmission, une publication récente associe pour la première fois des cas de gonococcie dans les pays nordiques liés aux voyages, la Thaïlande étant le premier pays concerné avec 31 % des cas d'acquisitions décrites (12).

Les recommandations de dépistage varient si le sujet présente des symptômes ou non (Figure 2). Chez un patient symptomatique, il sera réalisé à la fois par culture de l'échantillon biologique afin de déterminer la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques et à l'aide des TAANs afin d'augmenter la sensibilité diagnostique. Les prélèvements recommandés restent le prélèvement vaginal chez la femme et le prélèvement urétral chez l'homme, chacun ensemencé dans un milieu de transport spécifique pour la culture et la PCR. Chez l'homme, l'écouvillonnage du méat urétral est préférable pour la culture et le premier jet d'urine n'est pas conseillé. Le ou la patiente asymptomatique devra être exploré par les techniques de biologie moléculaire réalisées à partir d'un prélèvement non invasif, (auto-)prélèvement vaginal pour la femme, du premier jet d'urine pour l'homme, d'un écouvillonnage pharyngé et anal pour les deux sexes. En fonction des cas, le prélèvement vaginal peut être refusé par la patiente et le dépistage pourra être réalisé sur un premier jet d'urine tout en sachant qu'il sera moins sensible et n'est pas recommandé dans la prise en charge courante des patientes (13, 14).

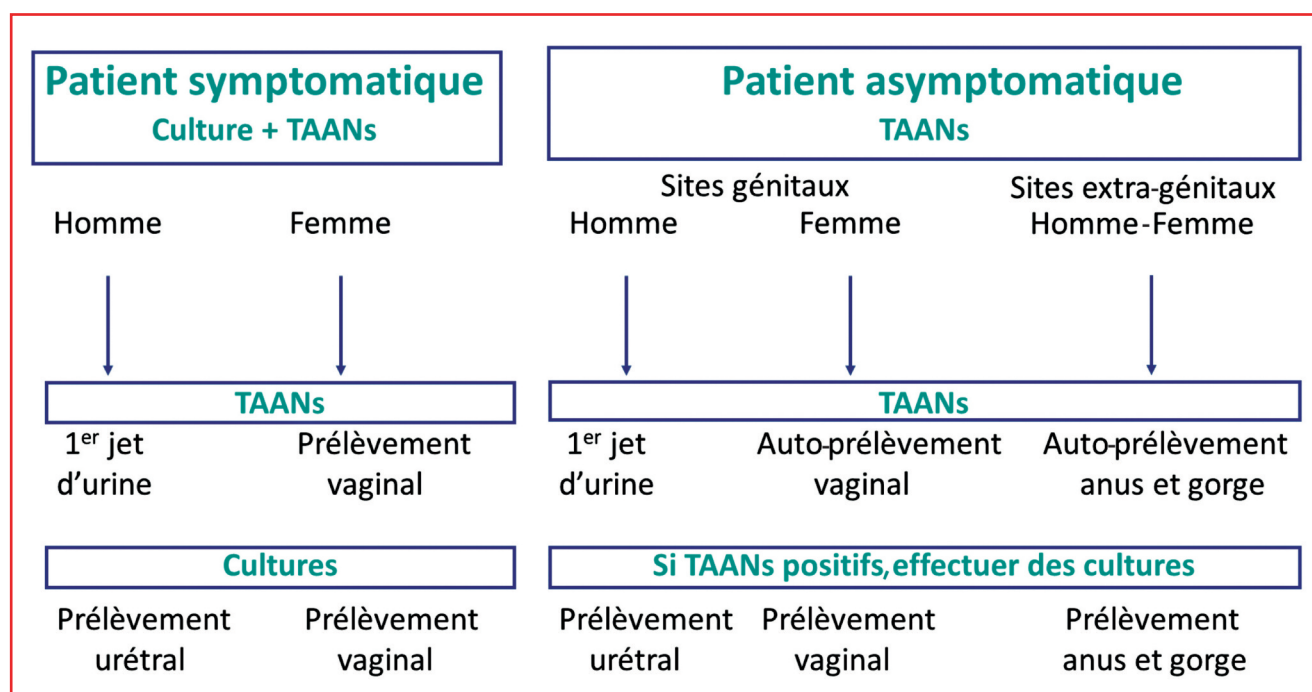


Fig. 2 - Recommandations de dépistage en fonction de l'état clinique du patient (13, 14).
TAANs : Test d'amplification des acides nucléiques.

Chez un sujet asymptomatique, le dépistage du gonocoque dans les sites génitaux ou extra-génitaux (anus, gorge) repose sur les techniques moléculaires. En cas de positivité retrouvée et en l'absence de traitement préalable, une recherche de la bactérie par culture est recommandée afin de déterminer sa sensibilité aux antibiotiques. Par ailleurs, depuis 2014, le CDC recommande un dépistage de routine dans les sites génitaux/extra-génitaux chez les patients HSH (6). Le criblage des sites génitaux et extra-génitaux pour la mise en évidence du gonocoque par TAANs est maintenant officiellement éligible au remboursement (Figure 3).

D) Traitement

Des recommandations thérapeutiques ont été édictées par les sociétés savantes de nombreux pays. En raison de l'évolution rapide de la résistance aux antibiotiques du gonocoque, elles ont été révisées plusieurs fois ces dernières années. Un traitement dit « minute », permettant d'interrompre rapidement la contagiosité, a été préconisé en cas d'urétrite et de cervicite gonococcique. Le traitement probabiliste de référence a été, pendant plusieurs années, la pénicilline G puis les fluoroquinolones en dose unique. Mais en raison de l'émergence de la résistance à ces antibiotiques, de nouvelles recommandations ont été émises dans les années 2000, plaçant les céphalosporines de troisième génération (ceftriaxone ou céfixime) en première ligne en France (recommandations de l'AFSSAP en 2005 et en 2008) et dans le monde. Puis, l'augmentation des concentrations

minimales inhibitrices (CMI) au céfixime et l'apparition d'échecs thérapeutiques ont conduit à de nouvelles modifications des recommandations thérapeutiques. Ainsi, depuis 2012, le traitement antibiotique de l'urétrite et de la cervicite en France suit les recommandations européennes : soit en première intention, l'association de ceftriaxone (500 mg) à l'azithromycine (1 à 2 g), quels que soient les résultats du test de dépistage des *Chlamydia* (9). Cette bithérapie a été proposée au regard de son effet synergique possible *in vitro* et *in vivo* vis-à-vis du gonocoque, ce qui peut être intéressant dans le contexte actuel d'émergence de la résistance aux céphalosporines de troisième génération, et de son action sur *C. trachomatis* (9). En Europe, devant l'émergence de la résistance aux céphalosporines de troisième génération, le céfixime n'est plus recommandé (9). En 2015, la Haute Autorité de Santé (HAS) a édicté des recommandations pour le traitement de l'urétrite et de la cervicite non compliquées (15). En 2016, la Société Française de Dermatologie a proposé des alternatives à la ceftriaxone en cas d'allergie à cette bêta-lactamine, conseillant une dose unique d'azithromycine (2 g, *per os*), de gentamicine (240 mg, im) ou de ciprofloxacine (500 mg, *per os*; sur documentation microbiologique uniquement) (16).

Selon les recommandations américaines et canadiennes, la dose de ceftriaxone administrée est inférieure à celle utilisée en Europe (250 mg) (17, 18). Au Canada, l'azithromycine est choisie préférentiellement à la doxycycline en raison de la plus grande prévalence de la résistance du gonocoque à la tétracycline qu'au macrolide (18) et la dose d'azithromy-

3. Au chapitre 19 MICROBIOLOGIE MÉDICALE PAR PATHOLOGIE.

La rubrique : « infections à *Chlamydia trachomatis* » est remplacée par la rubrique : « infections à *Chlamydia trachomatis* et/ou à *Neisseria gonorrhoeae* » et l'acte 5257 est remplacé par l'acte 5301

5301	<p>Recherche directe de <i>Chlamydia trachomatis</i> et/ou de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> par amplification génique sur tous types d'échantillons à partir de sites possiblement infectés.</p> <p>La recherche de <i>Chlamydia trachomatis</i> et/ou de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> s'inscrit principalement dans le cadre :</p> <ul style="list-style-type: none"> du diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique d'une infection génitale symptomatique, haute ou basse ou d'une rectite ; du diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique d'une pneumopathie néonatale à <i>Chlamydia trachomatis</i> ou d'une conjonctivite ; du dépistage des infections génitales asymptomatiques dans des circonstances particulières : <ul style="list-style-type: none"> dépistage des personnes à risque, bilan d'hypofertilité ; du diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique des arthrites réactionnelles. <p>Un seul site est à analyser sauf dans les cas suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> selon le comportement sexuel : en cas de rapport sexuel anal et/ou pharyngé : rechercher <i>C. trachomatis</i> et <i>N. gonorrhoeae</i> dans les deux ou trois sites : association prélèvements génital, rectal, et/ou pharyngé ; si la symptomatologie clinique fait évoquer une arthrite réactionnelle, rechercher <i>C. trachomatis</i> dans deux ou trois sites : génital, conjonctival, articulaire ; dans l'exploration d'une infection haute, rechercher les deux bactéries au niveau du col, et/ou du haut appareil génital (endomètre, liquide de Douglas, biopsie des trompes, par exemple) : un ou deux sites ; dans l'exploration d'une épидидymite d'une prostatite, d'une infertilité d'origine masculine : rechercher les bactéries dans le premier jet d'urine et dans le sperme ; dans l'exploration de la lymphogranulomatose vénérienne (LGV), rechercher <i>C. trachomatis</i> dans le ganglion satellite et les éventuelles ulcérations. <p>Une seule cotation 5301 par patient.</p>	B 85
------	--	------

Fig. 3 - Nouvelle nomenclature relative à la recherche de *N. gonorrhoeae* par TAANs (extrait du *Journal Officiel de la République Française* du 8 juin 2018).

cine conseillée est de 1 g (9). L'Agence de santé publique du Canada et l'OMS gardent le céfixime en première ligne de traitement (400 ou 800 mg) combinée à l'azithromycine (1 g) (17, 18). En cas de contre-indication des bêta-lactamines, la spectinomycine (2 g, en une seule injection im) était proposée, associée à l'azithromycine (1 g).

En cas d'échec de traitement, seul l'OMS propose un schéma thérapeutique en fonction des différentes situations : (a) ceftriaxone (500 mg) et azithromycine (2 g), (b) céfixime (800 mg) et azithromycine (2 g), (c) gentamicine (240 mg) et azithromycine (2 g), ou (d) spectinomycine (2 g) et azithromycine (2 g). Des études cliniques seront nécessaires afin d'affiner ces propositions. Il convient de rappeler que la gentamicine a été utilisée avec succès au Malawi, pendant de nombreuses années et qu'elle a une bonne activité *in-vitro* sur les souches européennes. Ainsi, en cas d'augmentation de la résistance aux céphalosporines de troisième génération, la gentamicine pourrait être une alternative thérapeutique à explorer en remplacement de la spectinomycine qui n'est plus commercialisée.

III. - DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

N. gonorrhoeae résiste naturellement au triméthoprime, aux glycopeptides, aux lincosamides, à la colistine ainsi qu'à la polymyxine B, et est sensible à de nombreux antibiotiques comme l'illustre le **tableau II** rapportant les CMI₅₀ et 90 % de la population sauvage. Aujourd'hui, la fréquence préoccupante des

Tableau II - CMI₅₀ et CMI₉₀ des populations sauvages de *N. gonorrhoeae* (d'après JD Cavallo. *In* Antibiogramme, 3^e édition. P. Courvalin, R. Leclercq, E. Bingen (Eds), ESKA, Paris ; 2012 : 505-14).

Antibiotiques	CMI ₅₀ (mg/L)	CMI ₉₀ (mg/L)
Pénicilline G	0,06	0,125
Amoxicilline	0,06	0,125
Céfixime	0,008	0,03
Ceftriaxone	0,002	0,008
Spectinomycine	16	32
Acide nalidixique	1	2
Ciprofloxacine	0,002	0,008
Tétracycline	0,125	0,25
Chloramphénicol	0,005	1
Érythromycine	0,25	1

résistances acquises aux antibiotiques justifie la réalisation systématique d'un antibiogramme lors de l'isolement d'une souche de *N. gonorrhoeae*. Selon les dernières recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM), l'antibiogramme est établi en déterminant les CMI des antibiotiques sur une gélose chocolat PolyViteX®. Les critères sensible, intermédiaire ou résistant sont ceux définis par le CA-SFM homogénéisés avec ceux de l'*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). Les valeurs critiques de catégorisation des souches, selon le CA-SFM, l'EUCAST et le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), figurent dans le **tableau III** (19-21).

Si la souche exprime une β-lactamase, elle est alors considérée comme résistante à la pénicilline G et à l'amoxicilline. Un disque imprégné d'acide nalidixique peut être utilisé pour le dépistage de la résistance aux quinolones mais n'a pas d'intérêt si le laboratoire réalise d'emblée les CMI des fluoroquinolones. Le CA-SFM propose la valeur d'un diamètre d'inhibition de croissance bactérienne pour dépister la résistance d'une souche à la tétracycline (< 19 mm) et à la spectinomycine (< 20 mm). Selon l'EUCAST, les souches dont les CMI au céfixime et à la ceftriaxone sont > 0,125 mg/L sont considérées comme résistantes (**Tableau III**). Bien que le céfixime ne figure plus dans les recommandations thérapeutiques, une CMI < 0,125 mg/L conduit à une catégorisation sensible. Une souche de gonocoque est sensible à la ceftriaxone si sa CMI est < 0,125 mg/L ; cependant, si celle-ci est supérieure au *cut-off* épidémiologique (soit > 0,032 mg/L), des remaniements génomiques doivent être suspectés chez la souche qui est alors exclue de la population sauvage (20).

IV. - ÉTAT DES RÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES

Depuis les années 40, la gonococcie a été traitée par des antibiotiques qui ont conduit à l'installation de la résistance bactérienne successivement à la pénicilline G (1976) (22, 23), à la tétracycline (1985), aux fluoroquinolones (1990), à l'azithromycine (1999) et enfin aux céphalosporines de troisième génération (2010 dans le cas de la ceftriaxone) (24).

Le gonocoque est un organisme versatile, naturellement compétent pour la transformation par de l'ADN exogène : il peut ainsi intégrer dans son génome, par recombinaison homologue, des séquences d'ADN d'autres *Neisseria* de la flore oropharyngée. Par ailleurs, il héberge des plasmides et possède des pores permettant la diffusion de petites molécules hydrophiles à travers la membrane des cellules et pouvant avoir un impact sur l'entrée des antibiotiques dans la cellule. La plupart des déterminants

Tableau III - Catégorisation des souches de gonocoque en fonction des concentrations critiques d'antibiotiques et des recommandations des sociétés savantes.

Antibiotiques	CA-SFM (19) Concentrations critiques (mg/L)		EUCAST (20) Concentrations critiques (mg/L)			CLSI (21) Concentrations critiques (mg/L)	
	S ≤	R >	S ≤	R >	E coff	S ≤	R ≥
Pénicilline G	0,06*	1*	0,06*	1*	ND	0,06	2
Amoxicilline	0,25*	2*	Note	Note	ND	ND	ND
Ceftriaxone	0,125	-	0,125	0,125	0,032	0,25	-
Céfotaxime	ND	ND	0,125	0,125	0,016	0,5	-
Céfixime	0,125	-	0,125	0,125	ND	0,25	-
Ertapénème	ND	ND	IE	IE	ND	ND	ND
Spectinomycine	64	64	64	64	64	32	128
Tétracycline	0,5	1	0,5	1	ND	0,25	2
Minocycline	0,5	1	IE	IE	ND	ND	ND
Azithromycine	0,25	0,5	0,25	0,5	ND	1	2
Ofloxacin	0,125	0,25	0,125	0,25	0,064	0,25	2
Ciprofloxacine	0,03	0,06	0,03	0,06	0,016	0,06	1

S : sensible ; R : résistant ; E coff : *epidemiologic cut-off* ; ND : non déterminé ; IE : niveau de preuve insuffisant.

* Note : toujours rechercher la production de bêta-lactamase ; si le résultat est positif, indiquer une résistance à la benzylpénicilline, à l'ampicilline et à l'amoxicilline.

de résistance du gonocoque sont chromosomiques, par mutations ponctuelles. Seule l'acquisition des gènes *bla_{TEM}* et *tetM* est réalisée par transfert de plasmides. Certains déterminants suffisent à eux seuls pour expliquer un phénotype de résistance à un antibiotique mais, le plus souvent, l'acquisition d'un déterminant n'entraîne qu'une élévation de la CMI et c'est le cumul de plusieurs déterminants qui génère une résistance clinique.

La diminution de sensibilité du gonocoque à l'égard des céphalosporines de troisième génération, observée dans les années 2000, a été associée à des échecs de traitement par le céfixime sur tous les continents. À cette période, cette bêta-lactamine était largement utilisée en première intention dans la plupart des pays européens. Ainsi, les infections à gonocoque ont fait l'objet d'une surveillance accrue vis-à-vis de la résistance aux antibiotiques sur le plan mondial et en Europe, l'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) a créé un réseau sentinelle appelé l'*European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program* (Euro-GASP). La première souche (H041) avec un haut niveau de résistance à la ceftriaxone a été isolée au Japon en 2009 : les CMI de céfixime et de ceftriaxone étaient respectivement de 4 et 2 mg/L et l'isolat appartenait au clone MLST

(*MultiLocus Sequence Type*) 7363 et NG-MAST (*Neisseria gonorrhoeae Multi-Antigen Sequence Type*) 4220 (25). Puis en 2010, la souche appelée F89 a été isolée en France, de l'urètre d'un patient HSH de 51 ans vivant dans le Finistère. Les CMI de céfixime et de ceftriaxone sur cette souche étaient de 2 et 1 mg/L et celle-ci faisait partie du clone NG-MAST 1407 et MLST 1901. La souche F89 a ensuite été isolée chez deux patients en Espagne en 2011 puis n'a plus été retrouvée (26, 27). En parallèle, une étude des populations de gonocoque menée par le réseau Euro-GASP a révélé la diffusion du clone MLST 1901 et NG-MAST 1407 entre 2008 et 2012 (28) : ce clone, représentant 15 % des isolats en Europe, était alors fortement associé à la population HSH et à la multi-résistance : résistance à la ciprofloxacine, CMI modale élevée du céfixime (CMI ≥ 0,125 µg/mL), élévation de la CMI de l'azithromycine proche des concentrations critiques et augmentation de la CMI modale de la ceftriaxone de 0,047 mg/L (28). Puis, la souche A8806 a été isolée en 2013 en Australie, présentant une CMI de ceftriaxone égale à 0,5 mg/L, et était reliée au clone MLST 7363 et NG-MAST 4015 (29). Depuis 2017, un nouveau clone résistant diffuse mondialement et a été rapporté au Japon, au Canada, au Danemark en Australie et en France (30, 31). La souche isolée en France, appelée F90 et du type MLST

1903 et NG-MAST 3435, provenait du pharynx d'une femme hétérosexuelle et les CMI du céfixime et de la ceftriaxone étaient respectivement de 1 et 0,5 mg/L (31).

En France, la résistance du gonocoque aux antibiotiques a été surveillée par un réseau volontaire de laboratoires (réseau Renago, créé en 1986) et de cliniciens (réseau RÉSIST). La figure 4 rapporte l'évolution de celle-ci, établie par le réseau Renago entre 1990 et 2017 (11, 32). Actuellement, 7 % des souches résistent à l'azithromycine, 37,2 % aux fluoroquinolones et 65,4 % aux cyclines. En ce qui concerne les céphalosporines de troisième génération, la prévalence des souches résistantes au céfixime variait 0,57 % à 3,28 % entre 2010 à 2017 avec un pic en 2012 ; deux souches résistantes à la ceftriaxone ont été décrites en France en 2010 et une en 2017 (11, 26, 31).

A) Résistance aux bêta-lactamines

Les bases moléculaires de la résistance acquise aux bêta-lactamines chez le gonocoque sont liées à (a) la production d'une bêta-lactamase dégradant ces antibiotiques, d'origine plasmidique et (b) des mutations dans de multiples gènes chromosomiques cibles, entraînant une augmentation de leurs CMI par paliers successifs.

1) Résistance aux bêta-lactamines par acquisition du gène plasmidique bla_{TEM}

Chez *N. gonorrhoeae*, des souches productrices de bêta-lactamases ont été décrites pour la première fois en 1976, en Afrique et en Asie (22, 23). Le gène codant l'enzyme était localisé sur des plasmides de 5 à 10 kb (pDJ4, pDJ5 et pDJ7) (33) et un niveau élevé de résistance aux pénicillines était observé, la pénicilli-

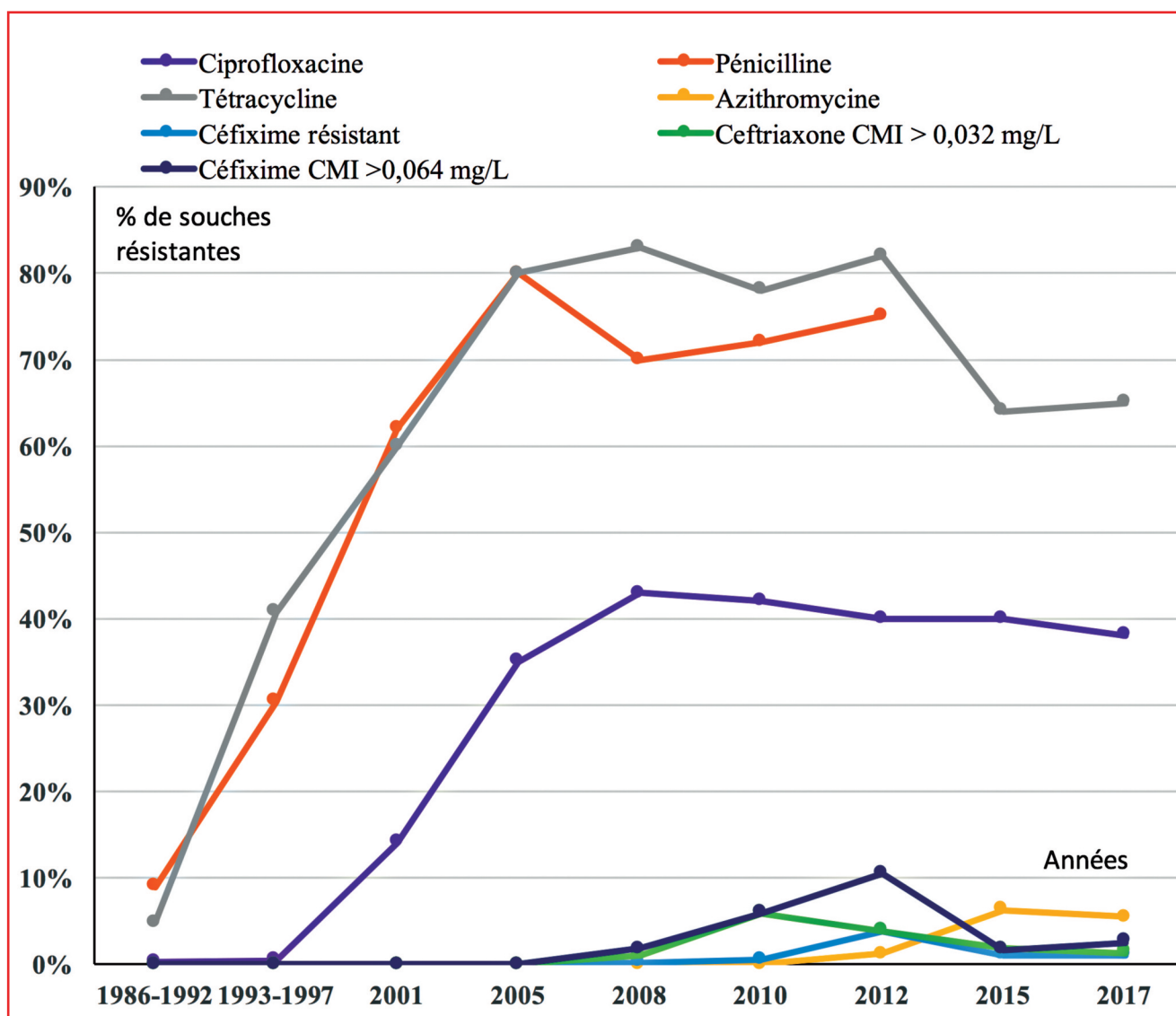


Fig. 4 - Évolution dans le temps de la résistance du gonocoque aux antibiotiques, en France (d'après les données du réseau Renago (11, 32)).

nase produite étant inhibée par l'acide clavulanique. Ces souches appelées PPNG (*penicillinase-producing N. gonorrhoeae*) restaient néanmoins sensibles aux céphalosporines de troisième génération. Elles ont mondialement diffusé, compromettant la pénicillinothérapie de la gonococcie. Actuellement, le pourcentage de souches PPNG varie dans le monde : 23 % en Asie en 2010 (34), 30 à 70 % en Afrique où peu de données sont actuellement disponibles. En Europe, il est également très hétérogène d'un pays à l'autre : 8,5 % en France, 6 % au Royaume-Uni, en Espagne et en Grèce, 17 % au Danemark, 44 % en Suède (35, 24).

Seules des bêta-lactamases de type TEM ont été décrites chez *N. gonorrhoeae* et notamment TEM-1 (36). Depuis 2010, on observe une évolution de celle-ci et l'enzyme TEM-135 a été rapportée dans des souches isolées au Japon, en Thaïlande, en Australie et en France (37-39). En France, entre 2010 et 2012, 8,5 % des isolats de gonocoque présentaient un haut niveau de résistance aux pénicillines par production d'une pénicillinase plasmidique, TEM-1 et TEM-135 étant retrouvées dans respectivement 90 % et 8 % des cas (39). Les deux pénicillinases confèrent le même profil de résistance aux bêta-lactamines. Bien que les mutations différenciant TEM-1 de TEM-135 ne confèrent pas à cette dernière un spectre de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) hydrolysant des céphalosporines de troisième génération, une telle évolution à terme est envisageable. En effet, Jacquier *et al.* ont montré que la mutation M182T, générant TEM-135 à partir de TEM-1, était une mutation stabilisatrice de l'enzyme lorsqu'elle était associée à une mutation conférant un spectre de BLSE (40). Ainsi, il suffirait d'une nouvelle mutation au niveau du site actif de l'enzyme pour obtenir la première BLSE chez le gonocoque.

2) Résistance aux bêta-lactamines par mutation chromosomique dans le gène *penA*

Plusieurs études ont analysé les différentes étapes qui ont permis d'obtenir des modifications de la sensibilité du gonocoque à la pénicilline G puis progressivement au céfixime et enfin à la ceftriaxone. Elles ont révélé une interaction multifactorielle et complexe entre au moins quatre gènes : (a) *penA* codant la protéine PLP2, (b) *mtrR*, qui code le répresseur du système d'efflux MtrCDE, (c) *penB*, qui code une protéine de membrane externe (porine) et (d) *ponA*, qui code la protéine PLP1. Le mécanisme principal de diminution de la sensibilité aux céphalosporines de troisième génération, telles que la ceftriaxone ou le céfixime, est principalement dû à des altérations du gène *penA*.

N. gonorrhoeae possède quatre protéines liant la pénicilline (PLP), PLP1, PLP2, PLP3 et PLP4, localisées dans le périplasma et ayant une activité transpeptidase essentielle pour maintenir l'intégrité du pepti-

doglycane et garantir la division cellulaire (41). La protéine PLP1, encodée par le gène *ponA*, présente fréquemment une altération du résidu leucyl en position 421 (L421P) augmentant les CMI des pénicillines (41). Chez le gonocoque, la résistance aux bêta-lactamines résulte surtout d'altérations de la protéine PLP2 codée par le gène *penA* et qui est la cible létale des bêta-lactamines. Le noyau bêta-lactame de ces antibiotiques est un analogue structural du motif acyl-D-alanyl-D-alanine des précurseurs du peptidoglycane. Trois motifs très conservés sont impliqués dans la formation du site actif assurant l'activité transpeptidase de PLP2 : le motif SxxK comportant la sérine 310 dont le groupe hydroxyle a un rôle essentiel, et les motifs SxN et KTG (positions 498 à 500) (41).

Grâce à sa capacité de transformation naturelle, *N. gonorrhoeae* peut acquérir des PLP2 mosaïques par échange de fragments de gènes de PLPs de *Neisseria* commensales (*N. cinerea*, *N. perflava*, *N. flavescens*). Étant donné que ces PLPs ont une affinité moindre pour les bêta-lactamines que celles de *N. gonorrhoeae*, le processus de recombinaison homologe aboutit à l'apparition de souches de gonocoque ayant une sensibilité diminuée aux bêta-lactamines. Ce mécanisme de résistance chromosomique aux bêta-lactamines est proche de celui du pneumocoque. Comme la probabilité d'un échange de matériel génétique entre des bactéries est favorisée par leur persistance, surtout lorsqu'elles sont hébergées de manière asymptomatique, la création de ces PLPs mosaïques est favorisée par (a) la présence du gonocoque dans la gorge, résultant des pratiques fréquentes de sexe oral non protégé (96 % des cas), (b) l'utilisation du céfixime dont on connaît l'incapacité d'une dose unique à stériliser un foyer ORL et (c) l'augmentation de la prévalence des ISTs dues au gonocoque (2-5, 41). Ces PLP2 modifiées peuvent compter plus de 60 altérations par rapport à la séquence protéique sauvage du gonocoque, et elles ont été associées à une perte de sensibilité aux pénicillines puis aux céphalosporines de troisième génération par l'augmentation des mutations et /ou leurs localisations. La plupart de ces modifications s'accumule dans la région C-terminale de l'enzyme où se situent les motifs SxxK, SxN et KTG. La première souche française résistante à la ceftriaxone, F89, a un gène *penA* mosaïque (allèle XXXIV) conduisant à 54 substitutions d'acides aminés (26). La souche H041, résistante aussi à la ceftriaxone et isolée au Japon, présente également une PLP2 mosaïque mais sans la mutation A501P de la souche F89 (25). La souche F90 comporte un gène mosaïque *penA*60.001 nouvellement décrit (31).

D'autres déterminants ayant un rôle moins important que *penA* mais impliqués dans l'augmentation des CMI aux bêta-lactamines ont été décrits. Le plus important est *mtrR*, le régulateur de la pompe d'efflux MtrCDE de la famille *Resistance-nodulation cell*

division (RND). L'opéron *mtrCDE* est sous le contrôle du répresseur MtrR et la délétion d'une adénine entre les boîtes -35 et -10 du promoteur du gène *mtrR* ou des altérations dans la protéine MtrR en position G45D ou A39T entraînent une surexpression de la pompe MtrCDE et un efflux des bêta-lactamines (42). La délétion de cette pompe diminue de moitié la CMI de la ceftriaxone (42). Par ailleurs, des substitutions des codons 120 et 121 de la sous-unité PorB1b codée par le gène *penB* conduisent à une réduction de l'entrée des bêta-lactamines dans la cellule (43). Des mutations au sein du gène *ponA* (qui, pour mémoire, code la PLP1) peuvent également affecter l'affinité de la pénicilline G pour cette cible. La mutation L421P est la plus fréquente et entraîne une baisse de l'affinité de la PLP1 pour les bêta-lactamines et ainsi une résistance à la pénicilline G (43). La substitution L421P dans la protéine PLP1 et les variations dans le gène *pilQ* ont également un effet. La mutation F595L dans le gène *pilQ1* augmente la résistance à la pénicilline G et aux tétracyclines en association avec des mutations dans les gènes *penA*, *mtrR* et *penB*. Cette mutation n'a pas été impliquée dans l'augmentation des CMIs des céphalosporines de troisième génération (44).

B) Résistance aux macrolides

En 2018, l'azithromycine est un antibiotique encore très utilisé pour traiter les IST bactériennes et est recommandée en Europe, associée à la ceftriaxone, dans le cas de la gonococcie. Cet antibiotique de la famille des macrolides exerce son activité bactériostatique en inhibant la synthèse protéique par fixation sur l'ARN ribosomal (ARNr) 23S. Le génome du gonocoque possède quatre copies du gène *rml* codant cet acide nucléique. Les substitutions nucléotidiques A2143G (ou A2059G, numérotation chez *E. coli*) ou C2599T (ou C2611T, numérotation chez *E. coli*) dans le domaine V peuvent entraîner un niveau de résistance variable aux macrolides selon le nombre de copies de l'ARNr 23S modifiées et le nucléotide substitué. La substitution C2599T augmente la CMI de l'azithromycine de 2 à 16 mg/L alors que celle-ci est > 256 mg/L en cas de substitution A2143G (45). Les souches présentant un haut niveau de résistance à l'azithromycine sont décrites de manière sporadique depuis les années 2000 et sur tous les continents (41). La première décrite en France a été isolée d'un patient présentant une urétrite et qui avait été traité de manière probabiliste uniquement par de l'azithromycine (2 g) en raison de la suspicion d'une infection par *Chlamydia trachomatis*. Le patient sera finalement guéri par l'administration de spectinomycine (2 g, im). Dans ce cas, la résistance était expliquée par la découverte de la mutation C2599T au niveau du centre peptidyl transférase du domaine V de l'ARNr 23S, associée à une

hyperexpression de l'efflux de l'antibiotique. La souche était du génotype ST 6360 (NG-MAST) et ST 7363 (MLST). Ce dernier génotype n'avait jamais été isolé en France mais était déjà décrit au Japon chez des souches de sensibilité diminuée au céfixime.

Le second mécanisme responsable de la résistance à l'azithromycine est lié à l'hyperexpression de la pompe d'efflux MtrCDE, responsable d'une élévation de la CMI de l'azithromycine proche des concentrations critiques 0,5 – 1 mg/L (45, 46). En revanche, la délétion complète de la pompe d'efflux diminue, de moitié ou du quart, la CMI du macrolide (42). Il est important de souligner l'existence d'une variation du résultat du Etest selon le fabricant de la bandelette réactive, susceptible de modifier la catégorisation de la souche lorsque la valeur de la CMI est proche de la concentration critique ; cependant, elle n'a aucun impact quand il s'agit d'une souche de haut niveau de résistance à l'azithromycine (11).

C) Résistance aux fluoroquinolones

À partir des années 1980, en raison de l'émergence de la résistance à la pénicilline et à la tétracycline, les quinolones ont été de plus en plus utilisées pour le traitement de la gonococcie et des souches de gonocoque résistantes aux quinolones sont apparues, tout d'abord en Asie, ensuite aux USA, puis dans le restant du monde. Initialement, les souches résistantes à la ciprofloxacine ont été isolées chez des voyageurs en Asie, puis essentiellement chez les sujets HSH qui ont participé à leur propagation à l'intérieur des pays. La résistance à la ciprofloxacine a été détectée pour la première fois en France en 1997 (32) et un peu plus de 10 % des isolats étaient concernés en 2001, puis environ 40 % en 2008 (Figure 4). Depuis, une stabilisation, voire une légère diminution du nombre d'isolats résistants a été observée, probablement en lien avec le changement de recommandations thérapeutiques, et le taux de résistance à la ciprofloxacine chez *N. gonorrhoeae* était de 37,2 % en 2017 (11).

Les fluoroquinolones agissent en se fixant sur deux enzymes indispensables à la réplication de l'ADN, l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, et arrêtent donc celle-ci. Chez le gonocoque, la résistance à la ciprofloxacine est principalement due à des mutations du gène *gyrA* codant la sous-unité A de l'ADN gyrase et du gène *parC* de la topoisomérase IV. Ces mutations conduisent à des substitutions d'acides aminés dans les régions conservées du site de liaison des quinolones appelées QRDR (*Quinolone Resistance-Determining Region*) diminuant l'affinité des antibiotiques pour leur(s) cible(s). Les mutations les plus fréquemment retrouvées concernent les codons 91 (S91F) et 95 (D95G/A/Y/N) de la protéine GyrA et les codons 87 (S87R/N) 88 et 91 (E91K/Q/A/G)

de ParC. Le cumul des mutations dans GyrA et ParC entraîne un haut niveau de résistance à la ciprofloxacine (CMI \geq 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

D) Résistance aux cyclines

La tétracycline, antibiotique peu onéreux, est prescrite en seconde intention en cas d'IST bactériennes. Elle exerce un effet bactériostatique par fixation sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien, empêchant ainsi la fixation de l'aminocyclitol-ARNt et, par conséquence, inhibe la synthèse protéique. En France, 65,4 % des souches de gonocoque isolées en 2017 avaient une sensibilité diminuée ou étaient résistantes à la tétracycline, à haut niveau pour 23,2 % d'entre elles (CMI $>$ 16 mg/L) (11). Le niveau de résistance élevé à la tétracycline est lié à la présence du déterminant *tetM* situé sur le transposon Tn 916 porté sur un plasmide conjugatif de 41 kb (47). Le gène *tetM* code une protéine protégeant le ribosome en empêchant la fixation de la tétracycline (47). Chez *N. gonorrhoeae*, la résistance de bas niveau à la tétracycline est d'origine chromosomique et résulte (a) de mutations du gène *rpsJ* codant la protéine S10, (b) de l'hyperexpression du système d'efflux MtrCDE et (c) des modifications de la porine PorB. La mutation dans le gène *rpsJ*, conduisant à la substitution V57M dans la protéine ribosomale S10, affecte directement le site de fixation de la tétracycline (48).

E) Résistance aux aminosides

Parmi les aminosides, la spectinomycine, exclusivement réservée au traitement de la gonococcie, était indiquée en cas de contre-indication des céphalosporines de troisième génération. L'activité bactériostatique de cet aminocyclitol est due à l'inhibition de la traduction des ARN messagers par fixation sur l'ARNr 16S (bases G1064-C1192). La résistance à cet antibiotique a été décrite depuis 1973 en Asie, aux États-Unis, au Canada, en Amérique latine, et ponctuellement au Danemark et en France (24, 41, 49). Elle découle de mutations dans l'ARNr 16S (G1064C et C1192T). Ainsi, une substitution

C1192T dans l'hélice 34 de l'ARNr 16S est responsable d'un haut niveau de résistance (CMI $>$ 1 024 mg/L). D'autres mutations touchent le gène *rpsE* codant la protéine ribosomale S5 et la délétion de la valine 25 ou une substitution K26E conduisent à un haut niveau de résistance (24, 41). En 2013, une souche résistante a été décrite en Norvège, impliquant une altération de la protéine ribosomale 5S (50). Avec l'arrêt de la commercialisation de la spectinomycine, la place de la gentamicine reste à définir dans le schéma thérapeutique. Peu d'études ont été effectuées mais récemment, la guérison de 100 % de cas d'urétrite a été obtenue avec un traitement associant la gentamicine (240 mg) et l'azithromycine (2 g) (51).

V. - CONCLUSION

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques du gonocoque sont nombreux et liés aux cumuls de nombreuses mutations. Ainsi, *N. gonorrhoeae* fait aujourd'hui partie de la liste des douze bactéries à surveiller prioritairement afin de prévenir son évolution vers une pan-résistance aux antibiotiques aboutissant à une impasse thérapeutique. Cette surveillance implique la réalisation systématique d'antibiogramme sur les isolats mais également la mise au point de tests permettant de dépister les mutations directement à partir des produits biologiques.

Plusieurs nouveaux antimicrobiens récemment découverts méritent une attention particulière pour un éventuel traitement futur de la gonococcie génitale et extra-génitale (52). Des évaluations *in vivo* et des essais cliniques randomisés contrôlés évaluant l'efficacité, l'innocuité, la toxicité, le coût, la dose idéale et les données pharmacocinétiques / pharmacodynamiques de ces nouvelles molécules permettront de les positionner dans un régime de bithérapie, dans la mesure du possible (52). Parmi les autres perspectives, la vaccination est une piste prometteuse et, d'après une étude néo-zélandaise, le vaccin recombiné antiméningococcique OMV (Bexsero) assurera une couverture de 31 % de la gonococcie (53).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) World Health Organization. WHO guidelines for the treatment of *Neisseria gonorrhoeae*, 2016 : 56 pages.
(<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246114/9789241549691-eng.pdf;jsessionid=9E11C88936AC6DB47BF2F3C4FF17AAF9?sequence=1>).
- (2) Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, *et al*. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting. *PLoS One* 2015 ; **8** : e0143304.
- (3) Unemo M, Bradshaw CS, Hocking JS, de Vries HJ, Francis SC, Mabey D, *et al*. Sexually transmitted infections: challenges ahead. *Lancet Infect Dis* 2017 ; **17** : e235-79.
- (4) La Ruche G, Le Strat Y, Fromage M, Bercot B, Goubard A, de Barbeyrac B, *et al*. Incidence of gonococcal and chlamydial infections and coverage of two laboratory surveillance networks, France, 2012. *Euro Surveill* 2015 ; **20** : 6-15.
- (5) European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2016-Gonorrhoea. ECDC, Stockholm ; 2016
<http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/Gonorrhoeae/Pages/Annuairepidemiologicalreport2016.aspx>
- (6) Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *MMWR Recomm Rep* 2014 ; **63** : 1-19.
- (7) Schweitzer VA, van Dam AP, Hananta IP, Schuurman R, Kusters JG, Rentenaar RJ. Identification of *Neisseria gonorrhoeae* by the Bruker biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system is improved by a database extension. *J Clin Microbiol* 2016 ; **54** : 1130-2.
- (8) Carannante A, De Carolis E, Vacca P, Vella A, Vocale C, De Francesco MA, *et al*. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification and clustering of *Neisseria gonorrhoeae*. *BMC Microbiol* 2015 ; **15** : 142.
- (9) Bignell C, Unemo M ; European STI Guidelines Editorial Board. 2012 European guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. *Int J STD AIDS* 2013 ; **24** : 85-92.
- (10) Luijt D, Di Lorenzo C, van Loon AM, Unemo M. Most but not all laboratories can detect the recently emerged *Neisseria gonorrhoeae porA* mutants - results from the QCMD 2013 *N. gonorrhoeae* external quality assessment programme. *Euro Surveill* 2014 ; **19** : 20711.
(http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFMV2_SEP-TEMBRE2018.pdf).
- (11) Bercot B, Dupin N, Bébéar C. Rapport CNR des IST bactériennes 2017. http://www.cnrchlamydiae.u-bordeaux.fr/?page_id=17
- (12) Beauté J, Cowan S, Hiltunen-Back E, Kløvstad H, Velicko I, Spiteri G. Travel-associated gonorrhoea in four Nordic countries, 2008 to 2013. *Euro Surveill* 2017 ; **22** : pii=30537.
- (13) Cook RL, Hutchison SL, Østergaard L, Braithwaite RS, Ness RB. Systematic review: noninvasive testing for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Ann Intern Med* 2005 ; **142** : 914-25.
- (14) Haute Autorité de Santé. Dépistage et prise en charge de l'infection à *Neisseria gonorrhoeae* : état des lieux et propositions. Décembre 2010 : 26 pages (https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03/synthese_gonocoque_vf.pdf).
- (15) Haute Autorité de Santé. Urétrites et cervicites non compliquées : stratégie diagnostique et thérapeutique de prise en charge. Octobre 2015 ; 40 pages (https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-11/2015_11_05_rapport_elaboration.pdf).
- (16) Société Française de Dermatologie. Recommandations diagnostiques et thérapeutiques pour les maladies sexuellement transmissibles. Février 2016 ; 146 pages ([http://www.sfdermato.org/media/image/upload-editor/files/Guidelines%202016\(2\).pdf](http://www.sfdermato.org/media/image/upload-editor/files/Guidelines%202016(2).pdf)).
- (17) Workowski KA, Bolan GA ; Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep* 2015 ; **64** : 1-137.
- (18) Agence de la santé publique du Canada. Lignes directrices sur les infections transmissibles sexuellement : infections gonococciques. Juillet 2013 (<http://www.phac-aspc.gc.ca/std-mts/sti-its/cgsti-ldcits/assets/pdf/section-5-6-fra.pdf>).
- (19) Société Française de Microbiologie. Comité de l'antibiogramme. Recommandations 2018 V.2 Septembre
(http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFMV2_SEP-TEMBRE2018.pdf).
- (20) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST clinical breakpoint tables v. 8.1, valid from 2018-05-15.
(http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf) et (<https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=mic&NumberIndex=50&Antib=-1&Specium=169>).
- (21) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100Ed28: 2018 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing,
(<http://em100.edaptivedocs.info/dashboard.aspx>).
- (22) Percival A, Rowlands J, Corkill JE, Alergant CD, Arya OP, Rees E, *et al*. Penicillinase-producing gonococci in Liverpool. *Lancet* 1976 ; **2** : 1379-82.
- (23) Ashford WA, Golash RG, Hemming VG. Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. *Lancet* 1976 ; **2** : 657-8.
- (24) Unemo M, Shafer WM. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. origin, evolution, and lessons learned for the future. *Ann N Y Acad Sci* 2011 ; **1230** : E19-28.
- (25) Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, *et al*. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2011 ; **55** : 3538-45.
- (26) Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gally A, Sednaoui P. High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in France: novel *penA* mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 ; **56** : 1273-80.
- (27) de Curraze C, Kumanski S, Micaëlo M, Fournet N, La Ruche G, Meunier F, *et al*. Ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates (2010 to 2014) in France characterized by using whole-genome sequencing. *Antimicrob Agents Chemother* 2016 ; **60** : 6962-4.

- (28) Chisholm SA, Unemo M, Quaye N, Johansson E, Cole MJ, Ison CA, *et al*. Molecular epidemiological typing within the European Gonococcal Antimicrobial Resistance Surveillance Programme reveals predominance of a multidrug-resistant clone. *Euro Surveill* 2013 ; **18** : pii= 20358.
- (29) Lahra MM, Ryder N, Whiley DM. A new multidrug-resistant strain of *Neisseria gonorrhoeae* in Australia. *N Engl J Med* 2014 ; **371** : 1850-1.
- (30) Lahra MM, Martin I, Demczuk W, Jennison AV, Lee KI, Nakayama SI, *et al*. Cooperative recognition of internationally disseminated ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain. *Emerg Infect Dis* 2018 ; **24** : 735-40.
- (31) Poncin T, Fouéré S, Braille A, Camelena F, Agsous M, Bébéar C, *et al*. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* failing treatment with ceftriaxone and doxycycline in France, November 2017. *Euro Surveill* 2018 ; **23** : pii=1800264.
- (32) Herida M, Sednaoui P, Goulet V. Gonorrhoea surveillance system in France: 1986-2000. *Sex Transm Dis* 2004 ; **31** : 209-14.
- (33) Pagotto F, Aman AT, Ng LK, Yeung KH, Brett M, Dillon JA. Sequence analysis of the family of penicillinase-producing plasmids of *Neisseria gonorrhoeae*. *Plasmid* 2000 ; **43** : 24-34.
- (34) Lahra MM ; WHO Western Pacific and South East Asian Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific and South East Asian Regions, 2010. *Commun Dis Intell Q Rep* 2012 ; **36** : 95-100.
- (35) European Centre for Disease Prevention and Control. Gonococcal antimicrobial susceptibility surveillance in Europe, 2012. ECDC, Stockholm ; 2014. <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/gonococcal-antimicrobial-susceptibility-surveillance-Europe-2012.pdf>
- (36) Dillon JR, Duck P, Thomas DY. Molecular and phenotypic characterization of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* from Canadian sources. *Antimicrob Agents Chemother* 1981 ; **19** : 952-7.
- (37) Ohnishi M, Ono E, Shimuta K, Watanabe H, Okamura N. Identification of TEM-135 beta-lactamase in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* strains in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 ; **54** : 3021-3.
- (38) Nakayama S, Tribuddharat C, Prombhul S, Shimuta K, Srifuengfung S, Unemo M, *et al*. Molecular analyses of TEM genes and their corresponding penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Bangkok, Thailand. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 ; **56** : 916-20.
- (39) Micaëlo M, Goubard A, La Ruche G, Denamur E, Tenaillon O, Cambau E, *et al*. Molecular epidemiology of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in France. *Clin Microbiol Infect* 2017 ; **23** : 968-73.
- (40) Jacquier H, Birgy A, Le Nagard H, Mechulam Y, Schmitt E, Glodt J, *et al*. Capturing the mutational landscape of the beta-lactamase TEM-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013 ; **110** : 13067-72.
- (41) Unemo M, Shafer WM. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution, and future. *Clin Microbiol Rev* 2014 ; **27** : 587-613.
- (42) Golparian D, Shafer WM, Ohnishi M, Unemo M. Importance of multidrug efflux pumps in the antimicrobial resistance property of clinical multidrug-resistant isolates of *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014 ; **58** : 3556-9.
- (43) Liao M, Gu WM, Yang Y, Dillon JA. Analysis of mutations in multiple loci of *Neisseria gonorrhoeae* isolates reveals effects of PIB, PBP2 and MtrR on reduced susceptibility to ceftriaxone. *J Antimicrob Chemother* 2011 ; **66** : 1016-23.
- (44) Whiley DM, Jacobsson S, Tapsall JW, Nissen MD, Sloots TP, Unemo M. Alterations of the *pilQ* gene in *Neisseria gonorrhoeae* are unlikely contributors to decreased susceptibility to ceftriaxone and cefixime in clinical gonococcal strains. *J Antimicrob Chemother* 2010 ; **65** : 2543-7.
- (45) Chisholm SA, Dave J, Ison CA. High-level azithromycin resistance occurs in *Neisseria gonorrhoeae* as a result of a single point mutation in the 23S rRNA genes. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 ; **54** : 3812-6.
- (46) Belkacem A, Jacquier H, Goubard A, Mougari F, La Ruche G, Patey O, *et al*. Molecular epidemiology and mechanisms of resistance of azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolated in France during 2013-14. *J Antimicrob Chemother* 2016 ; **71** : 2471-8.
- (47) Morse SA, Johnson SR, Biddle JW, Roberts MC. High-level tetracycline resistance in *Neisseria gonorrhoeae* is result of acquisition of streptococcal *tetM* determinant. *Antimicrob Agents Chemother* 1986 ; **30** : 664-70.
- (48) Hu M, Nandi S, Davies C, Nicholas RA. High-level chromosomally mediated tetracycline resistance in *Neisseria gonorrhoeae* results from a point mutation in the *rpsJ* gene encoding ribosomal protein S10 in combination with the *mtrR* and *penB* resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 ; **49** : 4327-34.
- (49) Galimand M, Gerbaud G, Courvalin P. Spectinomycin resistance in *Neisseria spp.* due to mutations in 16S rRNA. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 ; **44** : 1365-6.
- (50) Ilina EN, Malakhova MV, Bodoev IN, Oparina NY, Filimonova AV, Govorun VM. Mutation in ribosomal protein S5 leads to spectinomycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Front Microbiol* 2013 ; **4** : 186.
- (51) Kirkcaldy RD, Weinstock HS, Moore PC, Philip SS, Wiesenfeld HC, Papp JR, *et al*. The efficacy and safety of gentamicin plus azithromycin and gemifloxacin plus azithromycin as treatment of uncomplicated gonorrhoea. *Clin Infect Dis* 2014 ; **59** : 1083-91.
- (52) Unemo M, Shafer WM. Future treatment of gonorrhoea—novel emerging drugs are essential and in progress? *Expert Opin Emerg Drugs* 2015 ; **20** : 357-60.
- (53) Petousis-Harris H, Paynter J, Morgan J, Saxton P, McArdle B, Goodyear-Smith F, *et al*. Effectiveness of a group B outer membrane vesicle meningococcal vaccine against gonorrhoea in New Zealand: a retrospective case-control study. *Lancet* 2017 ; **390** : 1603-10.