

Centre National de Référence des Infections Sexuellement Transmissibles bactériennes



Rapport annuel d'activités 2020

Pr Cécile Bébéar, Pr Sabine Pereyre, Dr Bertille de Barbeyrac, Dr Olivia Peuchant
CHU de Bordeaux (Laboratoire coordonnateur, *Chlamydia trachomatis* et mycoplasmes urogénitaux)
Pr Béatrice Berçot, Dr Hervé Jacquier, Dr Thibaut Poncin
APHP Saint-Louis (Laboratoire associé gonocoque)
Pr Nicolas Dupin, Dr Nadjat Bennhadou
APHP Cochin (Laboratoire associé syphilis)



Table des matières

RESUME ANALYTIQUE	4
SUMMARY	6
1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR.....	8
2. ACTIVITES D'EXPERTISE	8
2.1 EVOLUTION DES TECHNIQUES	9
2.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux.....	9
2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis.....	9
2.1.3 Laboratoire APHP Cochin.....	9
2.2 TRAVAUX D'EVALUATION DES TECHNIQUES, REACTIFS ET TROUSSES	10
2.2.1 Evaluation de PCR multiplex pour la détection des IST.....	10
2.2.2 Evaluation de la trousse CT/NG/MG/TV sur l'Alinity-m (Abbott).....	15
2.2.3 Evaluation de l'automate NeumoDx pour la détection d'IST (Qiagen).....	16
2.2.4 Evaluation de 3 trousse commerciales pour le diagnostic de <i>M. genitalium</i> et de sa résistance aux macrolides	17
2.2.5 Evaluation de plaques à façon pour la détermination de CMI des mycoplasmes urogénitaux	19
2.2.6 Trousse de diagnostic sérologique de la syphilis.....	20
2.3 TECHNIQUES TRANSFEREES VERS D'AUTRES LABORATOIRES	22
2.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux.....	22
2.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis.....	22
2.3.3 Laboratoire APHP Cochin.....	22
2.4 COLLECTIONS DE MATERIEL BIOLOGIQUE.....	22
2.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux.....	22
2.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis.....	22
2.4.3 Laboratoire APHP Cochin.....	23
2.5 ACTIVITES D'EXPERTISE.....	24
2.5.1 Laboratoire CHU de Bordeaux.....	24
2.5.2 Laboratoire APHP Saint-Louis.....	27
2.5.3 Laboratoire APHP Cochin.....	29
2.6 ACTIVITES DE SEQUENÇAGE	30
2.6.1 Laboratoire CHU de Bordeaux.....	30
2.6.2 Laboratoire APHP Saint-Louis.....	30
2.6.3 Laboratoire APHP Cochin.....	31
3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	32
3.1 DESCRIPTION DU RESEAU DE PARTENAIRES	33
3.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux : réseau de surveillance des anorectites à <i>C. trachomatis</i>	33
3.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis.....	36
3.1.3 Laboratoire APHP Cochin.....	36
3.2 SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION ET DES CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS.....	39
3.2.1 Anorectites à <i>C. trachomatis</i>	39
3.2.2 Infections à gonocoque	48
3.2.3 Syphilis.....	52
3.3 SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES AGENTS PATHOGENES AUX ANTI-INFECTIEUX	57
3.3.1 Surveillance de la résistance de <i>Ureaplasma spp.</i> et <i>M. hominis</i> aux antibiotiques en France métropolitaine en 2019 (MYCOMET 2019).....	57
3.3.2 Surveillance de la résistance de <i>M. genitalium</i> aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine en 2020.....	64
3.3.3 Surveillance de la résistance de <i>N. gonorrhoeae</i> en France	69
3.3.4 Surveillance de la résistance de <i>T. pallidum</i> aux macrolides en 2020	77
3.3.5 Sensibilité aux antibiotiques de <i>C. trachomatis</i>	79
3.4 INTERFACES AVEC LES RESEAUX DE SURVEILLANCE NATIONAUX OU INTERNATIONAUX	80
3.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux.....	80
3.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis.....	81
3.4.3 Laboratoire APHP Cochin.....	81

3.5 ENQUETES OU ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE	82
3.5.1 <i>Enquête de surveillance européenne Tessy et contrôles de qualité européens pour le gonocoque</i>	82
4. ALERTES	83
4.1 LABORATOIRE CHU DE BORDEAUX	83
4.2 LABORATOIRE APHP SAINT-LOUIS	83
4.3 LABORATOIRE APHP COCHIN	83
4.3.1 <i>La procédure</i>	83
4.3.2 <i>Pour l'année 2020</i>	83
5. ACTIVITES DE RETRO-INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	84
5.1 CONSEIL ET EXPERTISE AUX PROFESSIONNELS DE SANTE	84
5.1.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	84
5.1.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	85
5.1.3 <i>Laboratoire APHP Cochon</i>	86
5.2 CONSEIL ET EXPERTISE AUX AUTORITES SANITAIRES	87
5.2.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	87
5.2.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	87
5.2.3 <i>Laboratoire APHP Cochon</i>	87
5.3 CONSEIL ET EXPERTISE POUR D'AUTRES CIBLES (MEDIAS, GRAND PUBLIC ...)	88
5.3.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	88
6. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR	88
6.1 ACTIVITES DE RECHERCHE EN COURS LORS DE L'ANNEE N, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR	88
6.1.1 <i>Projet de recherche clinique Remind/ Memodépistages, 2018-2021, Santé Publique France</i>	88
6.1.2 <i>Prévalence des infections à HPV et des IST bactériennes chez des femmes HIV-positives et HIV-négatives au Mali</i>	90
6.1.3 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	91
6.1.4 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	93
6.1.5 <i>Laboratoire APHP Cochon</i>	93
6.2 LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DE L'ANNEE N, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR	94
6.2.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	94
6.2.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	96
6.2.3 <i>Laboratoire APHP Cochon</i>	98
7. COOPERATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTE ANIMALE, D'HYGIENE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX	99
8. PROGRAMME D'ACTIVITE POUR LES ANNEES SUIVANTES	99
8.1 EVALUATION DE TROUSSES DIAGNOSTIQUES	99
8.1.1 <i>Evaluation de la trousse Aptima Combo 2 (AC2 nv) (Hologic)</i>	99
8.1.2 <i>Evaluation de kits pour la détection de mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones chez M. genitalium</i>	100
8.2 PREVENTION COMBINEE DES IST CHEZ LES HOMMES AYANT DES RAPPORTS SEXUELS AVEC LES HOMMES UTILISANT LE TDF/FTC PAR VOIE ORALE POUR LA PROPHYLAXIE PRE-EXPOSITION FOR HIV (PrEP)-ANRS 174 DOXYVAC	100
8.3 PREVALENCE ET SUIVI LONGITUDINAL SUR 2 ANS DES LESIONS ANALES DYSPLASIQUES, DES INFECTIONS HPV ET DES INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES ASSOCIEES, CHEZ LES HOMMES AYANT DES RAPPORTS SEXUELS AVEC D'AUTRES HOMMES A LOME, TOGO	102
8.4 SUIVI LONGITUDINAL DU MICROBIOTE VAGINAL ET DES ISTS BACTERIENNES ET VIRALES DANS LA COHORTE ANRS 12381 PRINCESSE	103
8.5 ENQUETE PREVIST	103
8.6 LABORATOIRE CHU DE BORDEAUX	104
8.6.1 – <i>Enquête Anachla 2021</i>	104
8.6.2 – <i>Enquêtes annuelles de surveillance de la résistance des mycoplasmes urogénitaux aux antibiotiques</i>	104
8.6.3 <i>Etude de la transmission de M. genitalium et de l'épidémiologie de son antibiorésistance par typage moléculaire</i>	104
8.6.4 <i>Etude Mycoclear (voir résultats non publiés)</i>	104

8.6.5 Prévalence de <i>M. penetrans</i> dans les échantillons cliniques masculins reçus pour détection de <i>C. trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>M. genitalium</i> et/ou <i>T. vaginalis</i> au CHU de Bordeaux	104
8.6.6 - Prévalence et étude de la résistance aux antibiotiques de <i>M. genitalium</i> au sein de la cohorte <i>Chlazidoxy</i> (voir résultats non publiés)	105
8.6.7 <i>Anachla 2020</i> : typage des souches L et évaluation de la charge bactérienne chez les patients symptomatiques et asymptomatiques	105
8.7 LABORATOIRE APHP SAINT-LOUIS	105
8.7.1 Enquêtes annuelles de surveillance de la résistance du gonocoque aux antibiotiques	105
8.7.2 Développement d'une nouvelle technique de Séquençage Haut Débit (NGS, capture) à partir des prélèvements pour la détection du gonocoque	105
8.7.3 Etude de la clairance du portage pharyngé asymptomatique de <i>N. gonorrhoeae</i> avec ou sans traitement par ceftriaxone PORTPHARM : étude randomisée de non infériorité	106
8.7.4 Enquête ANRS TRUST	106
8.8 LABORATOIRE APHP COCHIN	107
ANNEXE 1 : MISSIONS & ORGANISATION DU CNR	112
1.1 MISSIONS DU CNR ET DE SES LABORATOIRES ASSOCIES	112
1.1.1 <i>Expertise</i>	112
1.1.2 <i>Conseil</i>	112
1.1.3 <i>Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique</i> ..	112
1.1.4 <i>Contribution à l'alerte</i>	113
1.2 ORGANISATION DU CNR ET DE SES LABORATOIRES ASSOCIES	113
1.2.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux, laboratoire coordonnateur</i>	113
1.2.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis, laboratoire associé</i>	114
1.2.3 <i>Laboratoire APHP Cochin, laboratoire associé</i>	115
1.3 LOCAUX ET EQUIPEMENTS	117
1.3.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	117
1.3.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	118
1.3.3 <i>Laboratoire Cochin</i>	120
1.4 COLLECTIONS DE MATERIEL BIOLOGIQUE	121
1.4.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	121
1.4.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	121
1.4.3 <i>Laboratoire APHP Cochin</i>	123
1.5 DEMARCHE QUALITE DU LABORATOIRE	123
1.5.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	123
1.5.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	124
1.5.3 <i>Laboratoire APHP Cochin</i>	125
ANNEXE 2 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	127
2.1 LISTE DES TECHNIQUES DE REFERENCE	127
2.1.1 <i>Laboratoire CHU de Bordeaux</i>	127
2.1.2 <i>Laboratoire APHP Saint-Louis</i>	129
2.1.3 <i>Laboratoire APHP Cochin</i>	131
2.2 LISTE DES TECHNIQUES RECOMMANDEES PAR LE CNR	131
ANNEXES	132

Le CNR des IST bactériennes remercie Cécile Laurier-Nadalié et Chloé Le Roy pour leur aide à la mise en forme du rapport.

Résumé analytique

La crise sanitaire Covid-19 de 2020 a provoqué une baisse nombre de prélèvements reçus au CNR des IST bactériennes, notamment sur les trimestres 2 et 3, mais qui a été compensée par la suite permettant au CNR de maintenir son activité en 2020 (sauf pour la syphilis).

Cette année a été marquée par le résultats des **évaluations de 4 trousse de PCR en temps réel multiplex des IST bactériennes** impliquant des échanges de collections et un travail collaboratif poussé entre 2 laboratoires du CNR IST bactériennes. Les 4 kits ont montré de bonnes performances pour la détection de *C. trachomatis*. Cependant, tous présentent une faible sensibilité pour la détection de *M. genitalium* et la détection de *T. vaginalis*, en comparaison avec la méthode de référence. Deux des kits évalués montraient aussi une moins bonne sensibilité pour la détection du gonocoque.

Le CNR des IST bactériennes est également impliqué dans un important protocole de recherche ANRS, appelé **Doxyvac**, qui vise à une prévention combinée des IST chez les hommes ayant des relations sexuelles avec les hommes utilisant le TDF/FTC par voie orale pour la PrEP. Un gros travail de mise en place de cette étude a été réalisée en 2020.

Laboratoire CHU de Bordeaux

1. Infections à *Chlamydia trachomatis*

La surveillance des infections à *C. trachomatis* a concerné les infections anorectales dans le cadre du réseau LGV. En 2020, le CNR a reçu et typé 2705 échantillons dont 2688 d'origine anorectale. Les biais de sélection induits par les critères de typage du réseau LGV ne nous permettent plus de suivre les tendances épidémiologiques de cette infection. **Le CNR a donc mis en en place l'enquête Anachla 2020 qui consiste à collecter tous les échantillons positifs à *C. trachomatis* pendant 3 mois sans critère d'exclusion.** La prévalence des souches L était de 13,4% et la LGV est principalement diagnostiquée chez les patients symptomatiques et séropositifs pour le VIH. Concernant les PrePeurs, la prévalence de LGV est similaire à celle de l'ensemble de la population (respectivement, 14,6% vs 13,6%, $p>0,05$).

2. Infections à mycoplasmes urogénitaux

Trois nouvelles trousse diagnostiques commerciales de PCR en temps réel pour la **détection de *M. genitalium* et de sa résistance aux macrolides** ont été évaluées. Des plaques Sensititre préparées à façon par Biocentric (Bruker) permettant de déterminer la **sensibilité à 7 antibiotiques pour *M. hominis* et *Ureaplasma spp.*** ont été évaluées.

La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. genitalium* en France métropolitaine rapporte une prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* à respectivement 36% et 16%, stable par rapport à 2018 et 2019.

La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. hominis* et *Ureaplasma spp.* en France métropolitaine en 2019 rapporte une prévalence de la résistance aux tétracyclines à 15,2% pour *M. hominis* et à 4% pour *Ureaplasma spp.* La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones est de 2,2% pour *M. hominis* et 5% pour *Ureaplasma spp.* ; ces chiffres sont stables par rapport à ceux de 2018.

Laboratoire APHP Saint-Louis

Nous avons évalué de manière prospective les performances cliniques de **deux nouvelles plateformes pour la détection de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* +/- *M. genitalium*** dans les prélèvements génitaux et extragénitaux. Des discordances de résultats ont surtout été objectivés pour les prélèvements extragénitaux et lorsque la quantité d'ADN est faible.

En 2020, le CNR rapporte des chiffres de prévalence de la **résistance du gonocoque à la ceftriaxone à 0%, au céfixime à 0,2%, à l'azithromycine à 9,5%, aux fluoroquinolones à 59,8%, à la tétracycline à 64,1% dont 32,1% avec un haut niveau de résistance et à la spectinomycine à 0% en France métropolitaine.** Ces chiffres confirment la stabilisation de la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération à un taux très faible en France. L'augmentation de souches circulantes résistantes aux fluoroquinolones se confirme depuis 2018 avec une augmentation de la

résistance à l'azithromycine qui se rapproche de 10% en 2020 et de nouvelles souches à haut niveau de résistance à l'azithromycine (CMI>256 mg/l) ont été décrites en 2020.

La surveillance de la **résistance du gonocoque en Outre-Mer** a été consolidée sur une collection de prélèvements plus importante confirmant une résistance aux fluoroquinolones plus faible dans les DROM qu'en France métropolitaine variant de 0 à 38% (0%, 21%, 22,7% et 38% en Polynésie, Guyane Française, Guadeloupe et Martinique, respectivement). La résistance de haut niveau aux tétracyclines liée au gène *tet(M)* est similaire à celle observée en France métropolitaine. La circulation de souche de sensibilité diminuée aux céphalosporines est objectivée (à partir de la prédiction moléculaire sur prélèvement) plus particulièrement en Martinique et doit être surveillée.

Aucune souche XDR résistante à haut niveau à la ceftriaxone n'a été décrite en 2020.

Le **séquençage des souches de gonocoque par NGS** résultant des enquêtes ENGON 2018 et 2019 permet d'observer la circulation des plusieurs clusters de gonocoques de MLST ST7822, ST1583, ST1599 et ST9363 de prévalence variant de 8 à 12%, qui ne posent pas de problèmes de traitement car sensibles à la ceftriaxone. En parallèle, le NGS permet de confirmer une grande diminution des clones internationaux multirésistants, de MLST1901 et MLST7363 en France.

En 2019, des **anorectites abcédées liées à la seule présence de *N. gonorrhoeae*** avaient été signalées au CNR et les souches ont été investiguées par NGS. Plusieurs séquences MLST ont été retrouvées éliminant la circulation d'un seul clone. Cependant, une souche de MLST10314, NG-MAST12547 et NGSTAR1387 clustérisait avec plusieurs souches responsables d'infections invasives décrites en 2019. En parallèle, un cas de gonococcémie dans un contexte d'arthrite a été signalé en mars 2020 au niveau du Centre Hospitalier de Mayotte avec une souche très éloignée phylogénétiquement des souches virulentes isolées en 2019 en France métropolitaine.

Laboratoire APHP Cochin

Dans un contexte de réémergence, la syphilis reste un problème de santé majeur que ce soit dans les groupes à risques ou chez les femmes enceintes qui échappent aux programmes de dépistage tout au long de la grossesse. Le CNR apporte une expertise moléculaire par la détection du génome de *T. pallidum* et sérologique dans le cadre d'une aide au diagnostic.

Expertise

- ⇒ **887 demandes d'expertises correspondant à 1935 analyses** de prélèvements de patients consultant dans les CeGGID et Services MST de France métropolitaine et des DOM ont été répertoriés et analysés pour l'année 2020.
- ⇒ **105 prélèvements provenant de 105 patients suspectés de syphilis dans le cadre de l'étude GENOSYPH** ont été répertoriés et analysés.
- ⇒ **63% des souches de *T. pallidum* analysées en 2020 présentent la mutation A2058G** sur le gène de l'ARNr 23S pour la résistance aux macrolides.
- ⇒ **136 prélèvements périnataux** analysés, 10 étaient positifs en nPCR.
- ⇒ **Evaluation du test NADAL® VDRL Agglutination Slide Test** pour la vérification de méthode **dans le LCR**, 30 LCR ont été testés.
- ⇒ **Evaluation de tests CLIA (chemiluminescence) et ImmunoBlot dans le LCR**, 86 LCR ont été testés.
- ⇒ **Mise en place d'un test qPCR multiplex pour *T. pallidum*.**

Alerte

- ⇒ **280 LCR ont été analysés**, 259 étaient positifs par nPCR et/ou VDRL.
- ⇒ **8 alertes de syphilis congénitale** ont été déclenchées auprès de Santé publique France.

Summary

The Covid-19 crisis in 2020 led to a dramatic decrease of specimens collected at the CNR of bacterial STIs, particularly during the 2nd and 3rd trimesters; this decrease was offset thereafter allowing the CNR to maintain its activities in 2020 (except for the syphilis expertise).

This year was highlighted by the results of the **evaluations of 4 real-time multiplex and PCR kits for bacterial STIs** involving collection exchanges and work between 2 laboratories of the CNR. The 4 kits showed good performances for *C. trachomatis* detection. However, they all presented a low positive agreement for *M. genitalium* and *T. vaginalis* detections, compared to the reference method. Two kits showed additional low positive agreement for *N. gonorrhoeae* detection.

The CNR of bacterial STIs is also involved in an important ANRS research study named **Doxyvac**, which aims to a combined prevention of STIs in men who have sex with men using PrEP. A lot of work has gone into setting up this study in 2020.

Laboratory from Bordeaux University Hospital

1. *Chlamydia trachomatis* infections

The monitoring of *C. trachomatis* infections covered anorectal infections within the LGV network. In 2020, the CNR received and typed 2,705 samples (including 2,688 anorectal). The selection bias induced by the typing criteria of the LGV network no longer allows us to follow the epidemiological trends of this infection. The CNR has therefore set up the Anachla 2020 survey which consists in collecting all *C. trachomatis*-positive samples for 3 months without exclusion criteria. Prevalence of L strains was 13.4% and LGV was mainly diagnosed in symptomatic HIV-positive patients. Regarding PrEP users, LGV prevalence was similar to that in general population (14.6% vs 13.6%, respectively, $p>0.05$).

2. Urogenital mycoplasmal infections

We prospectively evaluated the handling and clinical performance of 3 new commercial real-time PCR kits for the **detection of *M. genitalium* and macrolide resistance-associated mutations**. Sensitrite plates custom-made by Biocentric (Bruker) for *M. hominis* and *Ureaplasma* spp. antibiotic susceptibility testing (7 antibiotics) were evaluated.

Surveillance of *M. genitalium* resistance to antimicrobials in metropolitan France in 2020 reports a prevalence of *M. genitalium* resistance to macrolides and fluoroquinolones of 36.8% and 16% respectively, stable compared to 2018 and 2019.

Surveillance of *M. hominis* and *Ureaplasma* spp. resistance to antimicrobials in metropolitan France in 2019 reports a prevalence of tetracycline resistance of 15.2% for *M. hominis* and 4% for *Ureaplasma* spp. Fluoroquinolone resistance was 2.2% for *M. hominis* and 5% for *Ureaplasma* spp.; these rates are stable in comparison to those of 2018.

Laboratory from APHP Saint-Louis

We prospectively evaluated the clinical performance of **two new platforms for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* +/- *M. genitalium*** in genital and extragenital specimens. Discordant results were mainly observed for extragenital specimens and when the amount of DNA was low.

In 2020, *N. gonorrhoeae* resistance to antimicrobials in metropolitan France reported a prevalence rates for gonococcal resistance of **0% to ceftriaxone, 0.2% to cefixime, 9.5% to azithromycin, 59.8% to fluoroquinolones, 64.1% to tetracyclines of which 32.1% with a high level of resistance and 0% to spectinomycin**. These data confirmed the stabilization of resistance to 3rd generation cephalosporins at a low rate in France with, however, an increase in circulating fluoroquinolone-resistant strains, a fact already observed from 2018 to 2020, and **an increase of resistance to azithromycin which is close to 10%** (using the Ecoff) with a high level of resistance for 3 isolates (MIC>256 mg/l).

In **overseas territories**, results from 2017-2018 were consolidated on a larger collection and reported a much lower **resistance to fluoroquinolones varying from 0% to 38%** (0%, 21%, 22,7% and 38% in Polynésie, Guyane Française, Guadeloupe and Martinique, respectively). High-level resistance to tetracyclines mediated by the *tet(M)* gene was similar to that observed in metropolitan France. The circulation of **strains with decreased susceptibility** to cephalosporins was objectified by molecular prediction, particularly in Martinique, and must be monitored.

No XDR gonococcus with high-level resistance to ceftriaxone was isolated in 2020.

Sequencing of strains by NGS resulting from the ENGON 2018 and 2019 surveys allows observing the circulation of C3G-susceptible clones, of **MLST ST7822, ST1583, ST1599 and ST9363** varying from 8 to 12% over these two years. There was a large decrease in international multidrug resistant clones, of MLST1901 and MLST7363. Data analysis of the 3 ENGON surveys 2018-2020 will be presented together for publication.

The investigation of **gonococcus isolates responsible for abscessed anaorectitis** has highlighted the presence of a strain of MLST10314, NG-MAST12547 and NGSTAR1387 phylogenetically close to invasive strains isolated in 2019. In parallel, a case of gonococemia in a context of arthritis was reported in March 2020 at the Hospital Center of Mayotte. NGS revealed a MLST strain different from the virulent strains isolated in 2019 in metropolitan France.

Laboratory from APHP Cochin

In a context of re-emergence, syphilis remains a major health problem, whether in at-risk groups or in pregnant women who are not screened throughout pregnancy. The CNR provides molecular expertise by detecting the *T. pallidum* and serological genome as part of diagnostic assistance.

Expertise

- ⇒ **887 requests for expertise corresponding to 1935 analyses** of patient samples consulting in the CEGGID and STIs wards of metropolitan France and DOMs were listed and analyzed for the year 2020.
- ⇒ **105 samples from 105 patients suspected of syphilis in the GENOSYPH study** were identified and analyzed.
- ⇒ **63% of *T. pallidum* strains analyzed in 2020 have the A2058G mutation** on the 23S ARN gene for macrolide resistance.
- ⇒ **136 perinatal samples analyzed**, 10 were positive in nPCR.
- ⇒ **Evaluation of NADAL test® VDRL Agglutination Slide Test** for method **verification in the CSF**, 30 CSF were tested.
- ⇒ **Evaluation of CLIA (chemiluminescence) and ImmunoBlot tests for the CSF**, 86 CSFs were tested.
- ⇒ **Setting up a qPCR multiplex test for *T. pallidum*.**

Alerte

- ⇒ **280 LCRs were analyzed**, 259 were positive by nPCR and/or VDRL
- ⇒ **8 congenital syphilis alerts** were triggered with Santé publique France.

1. Missions et organisation du CNR

Cf annexes.

2. Activités d'expertise

Cette année a été marquée par la finalisation d'un gros travail d'évaluation de 4 trousse de PCR en temps réel multiplex pour le diagnostic des IST bactériennes impliquant des échanges de collections entre les laboratoires de Bordeaux et de Saint-Louis (plus de 400 échantillons).

En plus de ces évaluations, sont à noter les éléments clefs suivants :

Laboratoire CHU de Bordeaux : éléments clefs 2020

- Evaluation de 3 trousse diagnostiques pour la détection de *M. genitalium* (239 échantillons) et de sa résistance aux macrolides (97 échantillons).
- Évaluation de plaques Sensititre (Biocentric) préparées à façon permettant de déterminer la sensibilité à 7 antibiotiques pour *M. hominis* et *Ureaplasma* spp.
- Echantillons biologiques positifs et souches de *C. trachomatis* envoyés au centre de ressources biologiques (CRB) Bordeaux Biothèque Santé (BBS) du CHU de Bordeaux : 2705 échantillons pour le réseau LGV dont 1349 dans le cadre de l'enquête Anachla), et 70 souches isolées au CHU.
- Echantillons biologiques positifs à *M. genitalium* envoyés au CRB BBS : 525 (recherche de résistance aux macrolides et fluoroquinolones), 720 (enquête surveillance résistance macrolides et fluoroquinolones, MYCOMET et DROM 2019), 13 (extraits de prélèvements d'une cohorte de femmes au Mali, collaboration étude ANRS).
- Souches de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* envoyées au CRB BBS : 205 et 46 (enquête sensibilité aux antibiotiques MYCOMET 2019), 87 et 21 souches antibiogrammées au CHU Bordeaux en 2019).
- *C. trachomatis* : 2705 échantillons typés dont 2688 anorectaux (réseau LGV et enquête Anachla).
- Mycoplasmes urogénitaux : 493 échantillons ou souches expertisés provenant de l'extérieur.

Laboratoire APHP Saint-Louis : éléments clefs 2020

- Evaluation de deux nouvelles plateformes pour la détection de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* +/- *M. genitalium* dans les prélèvements génitaux et extra-génitaux (plateforme A : 662 prélèvements dont 542 sites extragénitaux ; plateforme B : 282 dont 102 extragénitaux).
- 537 souches de gonocoques pour détermination de la sensibilité aux antibiotiques (432 souches de l'enquête ENGON ENGON 2020, 10 souches provenant du contrôle de qualité de l'ECDC (UKNEQAS), 33 souches issues de demandes d'expertise au CNR, 10 souches isolées chez des patients souffrant d'anorectites abcédées au centre de proctologie de l'hôpital St Joseph (Paris), 52 souches du Burkina Faso.
- 464 souches de gonocoques séquencées en NGS : 378 souches de l'enquête ENGON 2019, 10 souches provenant du contrôle de qualité de l'ECDC, 52 souches du Burkina Faso, 8 souches céfixime-résistantes isolées de 2008 à 2016, 6 souches de référence, 10 souches isolées chez des patients souffrant d'anorectites abcédées au centre de proctologie de l'hôpital St Joseph (Paris).
- 464 séquences fastQ assemblées correspondantes aux souches séquencées stockées sur la plateforme bioinformatique de l'APHP « MOABI » <http://idfseqit.fr/> avec un bioprojet correspondant.
- 224 prélèvements cliniques positifs à gonocoque pour la recherche de résistance à partir de prélèvements :
 - o 64 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* provenant de la deuxième phase de l'étude Mémodépistages-REMIND expertisés en 2020
 - o 18 prélèvements positifs à *N. gonorrhoeae* de cas cliniques expertisés au CNR
 - o 140 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* reçus dans le cadre de l'enquête de la résistance du gonocoque dans les départements et régions d'outre-mer expertisé en 2020
 - o 2 extraits d'ADN positifs à *N. gonorrhoeae* issus d'infections chez des femmes HIV-positives et HIV-négatives au Mali (étude ANRS).

Laboratoire APHP Cochin : éléments clefs 2020

- 540 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise moléculaire, dont 38 ont été positifs pour *T. pallidum*.

- 1395 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise sérologique, dont 695 ont été positifs pour la syphilis.
- 105 échantillons analysés dans le cadre du protocole GENOSYPH, dont 32 ont été positifs pour *T. pallidum*.
- 62 échantillons positifs pour *T. pallidum* provenant de l'expertise et de GENOSYPH analysés pour la recherche des marqueurs génétique de résistance à l'azithromycine : 63% des échantillons présentent la mutation A2058G (numérotation *Escherichia coli*).

La pandémie à SARS-CoV-2 a fortement impacté l'activité de dépistage en 2020. Une diminution du nombre de dépistages de près de 60% a été observée entre février et avril 2020, pour les IST bactériennes dont 54% pour la syphilis (Santé publique France, Bulletin de santé publique-Édition nationale, décembre 2020). Ces baisses n'ont pas été suivies d'un rattrapage dans les mois qui ont suivi, ce qui peut laisser craindre un retard au diagnostic et une circulation plus importante de la syphilis.

2.1 Evolution des techniques

2.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Une PCR en temps réel quantitative maison du gène *ompA* de *C. trachomatis* a été mise au point selon la technique publiée par Stevens MP et al. (Development and evaluation of an *ompA* quantitative real-time PCR assay for *Chlamydia trachomatis* serovar determination. J Clin Microbiol. 2010). Elle nous a permis d'évaluer les échantillons discordants lors de l'étude du kit commercial Alinity m-STI d'Abbott réalisée au laboratoire APHP Saint-Louis du CNR.

2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Pas d'évolution à signaler.

2.1.3 Laboratoire APHP Cochon

- Mise en place de la détection des mutations sur l'ARNRr 16S pour la résistance aux tétracyclines.
- Mise en place d'un test multiplex pour la détection en routine de *T. pallidum*.

Dans le cadre d'une augmentation des demandes d'expertises à raison de 25 à 30% par an, le CNR souhaite développer un test de détection de *T. pallidum* par PCR en temps réel TaqMan multiplexe dans le but de remplacer la nPCR de routine mise en place et validée depuis 2012. Ce test multiplex amplifie les gènes *tp47* et *po1A* de TPA ainsi que le gène d'un contrôle interne d'amplification. La réaction de qPCR se fera à l'aide du QuantStudio 5 Real-Time PCR System, acquis dans cet objectif. Cinq couples d'amorces/sondes ont été testées pour retenir un couple pour chaque gène correspondant au meilleur score d'amplification sur des dilutions d'ADN de testicule de lapin infecté.

La validation du test a été effectuée sur 320 extraits d'ADN d'écouillons cutanéomuqueux documentés (voir tableau ci-dessous).

Tableau. Caractéristiques des échantillons utilisés pour la validation de la PCR multiplex.

Patient caractéristique	Patient avec syphilis			Patient sans Syphilis
	Primaire	Primo-secondaire	Secondaire	Ulcération Documentée
Nombre total Population (n = 320)	112	14	49	145
Homme	110	13	49	122
Femme	2	1	0	23
Age				
Médian	38	38	44	32
Ecart	21–71	24–60	21–69	18–71
Orientation				
Homo	88	9	42	58
Hétéro	19	1	4	79
Non rens.	5	4	3	8
Infection				
HIV	30	3	22	11

Sur l'ensemble du panel, les résultats préliminaires montrent une sensibilité et une spécificité de 83% et 100% respectivement pour le test multiplex. Ces performances sont comparables à celles obtenues par le test de routine de nPCR. Cette étude se poursuivra sur l'année 2021 et fera l'objet du Master 2 de Romain Salle (voir programme d'activités 8.8).

Tableau. Résultats de la qPCR multiplexe comparés à ceux de la nPCR validée par le CNR.

Panel	qPCR multiplexe						Résultats attendus ^a					
	VP	FN	VN	FP	Se	Sp	VP	FN	VN	FP	Se	Sp
Tout stade (n = 320)	145	30	145	0	83	100	148	27	145	0	85	100
Patient avec syphilis (n = 175)												
Primaire (n = 112)	94	18			84	/	93	19			83	/
Primo-secondaire (n = 14)	10	4			71	/	12	2			86	/
Secondaire (n = 49)	41	8			84	/	43	6			88	/
Patient sans syphilis (n = 172)												
			145	0	/	100			145	0	/	100

^a Les écouvillons ont été testés en parallèle avec la nested PCR validée par le CNR pour la détection de *T. pallidum*. (VP : vrais positif ; FN : faux négatif ; VN : vrai négatif, FP : faux positif ; Se : sensibilité ; Sp : spécificité)

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

2.2.1 Evaluation de PCR multiplex pour la détection des IST

En 2020, les laboratoires de Bordeaux et de l'APHP Saint-Louis ont évalué 4 kits de PCR multiplex en temps réel marqués CE à partir d'échantillons négatifs et positifs pour *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *T. vaginalis*, *U. urealyticum*, *U. parvum* et *M. hominis*. Les résultats des kits ont été comparés aux résultats obtenus avec les kits cobas CT/NG (Roche Diagnostics) et cobas MG/TV utilisés sur l'automate cobas 6800. Pour les deux kits détectant aussi *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*, les résultats ont été comparés aux PCR Taqman maison publiées (Férandon et al., Clin. Microbiol. Infect. 2011 et Yi et al., Mol. Cell Probes, 2005).

Entre mars et octobre 2019, 404 échantillons cliniques (urines, écouvillonnage cervico-vaginaux, rectaux et de gorge) prélevés dans le milieu cobas PCR medium (Roche) reçus au CNR des IST bactériennes de Saint-Louis ont été systématiquement congelés à -80°C. Un total de 23 échantillons positifs à *T. vaginalis* collectés au CNR de Bordeaux ont complété ce recueil. Parmi les 427 échantillons, 106 était positifs à *C. trachomatis*, 104 à *N. gonorrhoeae*, 109 à *M. genitalium* et 42 à *T. vaginalis* avec la méthode cobas.

Après ajout des contrôles internes requis par chaque kit (Figure ci-dessous) et extraction avec le kit DSP Virus/Pathogen midi kit (Qiagen sur l'automate Qiasymphony, 4 kits ont été testés :

- Le kit STI PLUS ELITE MGB (ELITecGroup) sur ELITE InGenius
- Le kit *N. gonorrhoeae*/*C. trachomatis*/*M. genitalium*/*T. vaginalis* Real-TM (Sacace Biotechnologies) sur Rotor-Gene Q
- Le kit Allplex STI Essential (Seegene) sur CFX96 (Bio-rad)
- Le kit FTD Urethritis plus (Fast Track Diagnostics) sur ABI 7500.

Les deux derniers kits détectent aussi *U. parvum*, *U. urealyticum* et *M. hominis*.

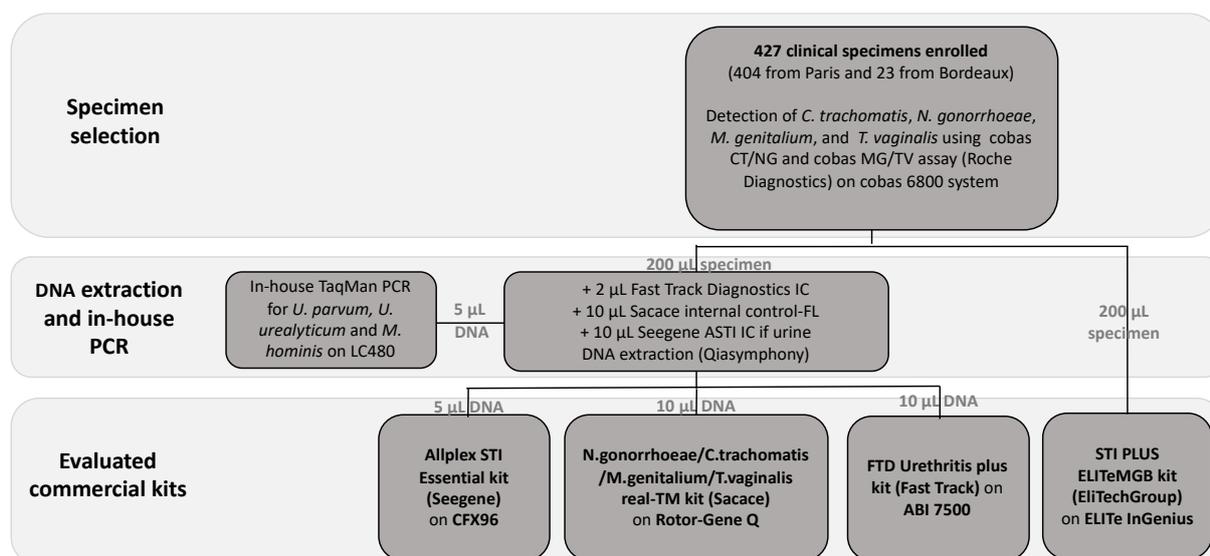


Figure. Schéma de l'étude comparative des kits multiplex de détection des IST.

Les 4 kits ont montré de bonnes performances pour la détection de *C. trachomatis*. Cependant, tous présentent une faible sensibilité pour la détection de *M. genitalium* (63,3% à 74,1% selon les kits) et la détection de *T. vaginalis* (50,0% à 68,4%), en comparaison avec le kit cobas MG/TV (Tableau ci-dessous). Les kits Seegene et Sacace montrent aussi de faibles sensibilités de détection pour *N. gonorrhoeae* (respectivement 71,1% et 63,1%). Les spécificités étaient bonnes et globalement homogènes malgré une spécificité un peu plus faible pour la détection de *N. gonorrhoeae* par le kit d'ELITech (92,6%) et pour la détection de *M. genitalium* par le kit Fast-Track (93,3%).

La détection de *U. parvum*, *U. urealyticum* et *M. hominis*, bactéries commensales du tractus urogénital, ne devrait pas être comprise dans ces kits multiplex de détection des infections sexuellement transmissibles pour éviter des recours inappropriés et trop fréquents à des traitements antibiotiques.

De plus, les utilisateurs de ces kits doivent être conscients d'une plus faible sensibilité pour la détection de *M. genitalium* et *T. vaginalis*.

Cette étude est en cours de rédaction pour le journal Clinical Microbiology and Infection et a été acceptée sous forme de poster au 31^{ème} congrès de l'ECCMID en juillet 2021.

Tableau. Performance des quatre kits de PCR multiplex détectant les IST.

		No. of sample	Detected positive	Detected negative	Detected positive	Detected negative	Overall % agreement [CI 95%]	Positive % agreement [CI 95%]	Negative % agreement [CI 95%]	κ
			with reference	with reference	with reference	with reference				
			Detected positive with the evaluated kit	Detected negative with the evaluated kit	Detected positive with the evaluated kit	Detected negative with the evaluated kit				
CT detection	STI PLUS ELITeMGB® Kit	423	95	2	11	315	96.9 [94.8-98.2]	89.6 [82.4-94.1]	99.4 [97.8-99.8]	0.92
	Allplex™ STI Essential Assay	423	85	5	19	314	94.3 [91.7-96.2]	81.7 [73.2-88.0]	98.4 [96.4-99.3]	0.84
	NG/CT/MG/TV Real-TM	423	90	8	16	309	94.3 [91.7-96.2]	84.9 [76.9-90.5]	97.5 [95.1-98.7]	0.85
	FTD Urethritis plus	366	84	4	11	267	95.9 [93.4-97.5]	88.4 [80.6-93.4]	98.5 [96.3-99.4]	0.89
NG detection	STI PLUS ELITeMGB® Kit	423	89	24	12	298	91.5 [88.4-93.8]	88.1 [80.4-93.1]	92.6 [89.2-94.9]	0.78
	Allplex™ STI Essential Assay	423	74	1	30	318	92.7 [89.8-94.8]	71.2 [61.8-78.9]	99.7 [98.3-99.9]	0.78
	NG/CT/MG/TV Real-TM	423	65	7	38	313	89.4 [86.1-92.0]	63.1 [53.5-71.8]	97.8 [95.6-98.9]	0.68
	FTD Urethritis plus	366	87	7	9	263	95.6 [93.0-97.3]	90.6 [83.1-95.0]	97.4 [94.8-98.7]	0.87
MG detection	STI PLUS ELITeMGB® Kit	423	80	1	28	314	93.1 [90.3-95.2]	74.1 [65.1-81.4]	99.7 [98.2-99.9]	0.80
	Allplex™ STI Essential Assay	423	69	3	40	311	89.8 [86.6-92.4]	63.3 [54.0-71.8]	99.0 [97.2-99.7]	0.70
	NG/CT/MG/TV Real-TM	423	74	6	34	309	90.5 [87.4-93.0]	68.5 [59.3-76.5]	98.1 [95.9-99.1]	0.73
	FTD Urethritis plus	366	72	18	27	249	87.7 [83.9-90.7]	72.7 [63.2-80.5]	93.3 [89.6-95.7]	0.68
TV detection	STI PLUS ELITeMGB® Kit	423	25	0	17	381	96.0 [93.7-97.5]	59.5 [44.5-73.0]	100 [99.0-100]	0.73
	Allplex™ STI Essential Assay	423	21	0	21	381	95.0 [92.5-96.7]	50.0 [35.5-64.5]	100 [99.0-100]	0.63
	NG/CT/MG/TV Real-TM	423	26	5	16	376	95.0 [92.5-96.7]	61.9 [46.8-75.0]	98.7 [97.0-99.4]	0.69
	FTD Urethritis plus	366	13	15	6	332	94.3 [91.4-96.2]	68.4 [46.0-84.6]	95.7 [93.0-97.4]	0.52
UU detection	Allplex™ STI Essential Assay	423	53	37	0	333	91.3 [88.2-93.6]	100 [93.2-100]	90.0 [86.5-92.7]	0.69
	FTD Urethritis plus	366	50	43	1	272	88.0 [84.3-90.9]	98.0 [89.7-99.7]	86.4 [82.1-89.7]	0.63

UP detection	Allplex™ STI Essential Assay	423	63	5	2	353	98.4 [96.6-99.2]	96.9 [89.5-99.2]	98.6 [96.8-99.4]	0.94
	FTD Urethritis plus	366	31	3	21	311	93.4 [90.4-95.6]	59.6 [46.1-71.8]	99.0 [97.2-99.7]	0.69
MH detection	Allplex™ STI Essential Assay	423	70	1	5	347	98.6 [96.9-99.4]	93.3 [85.3-97.1]	99.7 [98.4-100]	0.95
	FTD Urethritis plus	366	56	11	4	295	95.9 [93.4-97.5]	93.3 [84.1-97.4]	96.4 [93.7-98.0]	0.86

CT, *C. trachomatis*, NG, *N. gonorrhoeae*, MG, *M. genitalium*, TV, *T. vaginalis*, UU, *U. urealyticum*, UP, *U. parvum*, MH, *M. hominis*.

For a given micro-organism, the overall, positive and negative % agreements that are significantly different from agreement of the other evaluated kits are in bold.

Tableau. Résumé des performances des 4 kits commerciaux par kit.

Evaluated kit	Pathogen	No. of sample	Detected positive	Detected negative	Detected positive	Detected negative	Overall % agreement [CI 95%]	Positive % agreement [CI 95%]	Negative % agreement [CI 95%]	κ
			with reference	with reference	with reference	with reference				
			Detected positive with the evaluated kit	Detected negative with the evaluated kit						
STI PLUS ELITeMGB (ELITechGroup)	<i>C. trachomatis</i>	423	95	2	11	315	96.9 [94.8-98.2]	89.6 [82.4-94.1]	99.4 [97.8-99.8]	0.92
	<i>N. gonorrhoeae</i>	423	89	24	12	298	91.5 [88.4-93.8]	88.1 [80.4-93.1]	92.6 [89.2-94.9]	0.78
	<i>M. genitalium</i>	423	80	1	28	314	93.1 [90.3-95.2]	74.1 [65.1-81.4]	99.7 [98.2-99.9]	0.80
	<i>T. vaginalis</i>	423	25	0	17	381	96.0 [93.7-97.5]	59.5 [44.5-73.0]	100 [99.0-100]	0.73
Allplex STI Essential (Seegene)	<i>C. trachomatis</i>	423	85	5	19	314	94.3 [91.7-96.2]	81.7 [73.2-88.0]	98.4 [96.4-99.3]	0.84
	<i>N. gonorrhoeae</i>	423	74	1	30	318	92.7 [89.8-94.8]	71.2 [61.8-78.9]	99.7 [98.3-99.9]	0.78
	<i>M. genitalium</i>	423	69	3	40	311	89.8 [86.6-92.4]	63.3 [54.0-71.8]	99.0 [97.2-99.7]	0.70
	<i>T. vaginalis</i>	423	21	0	21	381	95.0 [92.5-96.7]	50.0 [35.5-64.5]	100 [99.0-100]	0.63
	<i>U. urealyticum</i>	423	53	37	0	333	91.3 [88.2-93.6]	100 [93.2-100]	90.0 [86.5-92.7]	0.69
	<i>U. parvum</i>	423	63	5	2	353	98.4 [96.6-99.2]	96.9 [89.5-99.2]	98.6 [96.8-99.4]	0.94
	<i>M. hominis</i>	423	70	1	5	347	98.6 [96.9-99.4]	93.3 [85.3-97.1]	99.7 [98.4-100]	0.95

N.gonorrhoeae/ C.trachomatis/ M.genitalium/ T.vaginalis Real TM (Sacace)	<i>C. trachomatis</i>	423	90	8	16	309	94.3 [91.7-96.2]	84.9 [76.9-90.5]	97.5 [95.1-98.7]	0.85
	<i>N. gonorrhoeae</i>	423	65	7	38	313	89.4 [86.1-92.0]	63.1 [53.5-71.8]	97.8 [95.6-98.9]	0.68
	<i>M. genitalium</i>	423	74	6	34	309	90.5 [87.4-93.0]	68.5 [59.3-76.5]	98.1 [95.9-99.1]	0.73
	<i>T. vaginalis</i>	423	26	5	16	376	95.0 [92.5-96.7]	61.9 [46.8-75.0]	98.7 [97.0-99.4]	0.69
FTD Urethritis plus (Fast Track Diagnostics)	<i>C. trachomatis</i>	366	84	4	11	267	95.9 [93.4-97.5]	88.4 [80.6-93.4]	98.5 [96.3-99.4]	0.89
	<i>N. gonorrhoeae</i>	366	87	7	9	263	95.6 [93.0-97.3]	90.6 [83.1-95.0]	97.4 [94.8-98.7]	0.87
	<i>M. genitalium</i>	366	72	18	27	249	87.7 [83.9-90.7]	72.7 [63.2-80.5]	93.3 [89.6-95.7]	0.68
	<i>T. vaginalis</i>	366	13	15	6	332	94.3 [91.4-96.2]	68.4 [46.0-84.6]	95.7 [93.0-97.4]	0.52
	<i>U. urealyticum</i>	366	50	43	1	272	88.0 [84.3-90.9]	98.0 [89.7-99.7]	86.4 [82.1-89.7]	0.63
	<i>U. parvum</i>	366	31	3	21	311	93.4 [90.4-95.6]	59.6 [46.1-71.8]	99.0 [97.2-99.7]	0.69
	<i>M. hominis</i>	366	56	11	4	295	95.9 [93.4-97.5]	93.3 [84.1-97.4]	96.4 [93.7-98.0]	0.86

2.2.2 Evaluation de la trousse CT/NG/MG/TV sur l'Alinity-m (Abbott)

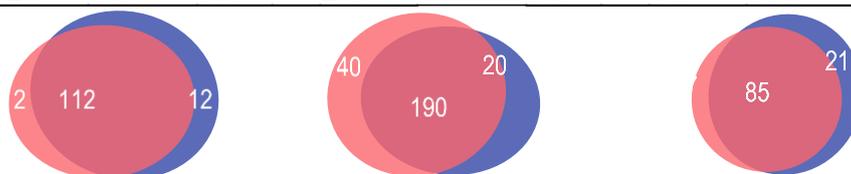
En 2019, les laboratoires de St Louis et de Bordeaux ont évalué la trousse CT/NG/MG/TV du nouveau système CE-IVD Alinity-m (Abbott) marqué CE-IVD pour la détection de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *M. genitalium* dans les sites urogénitaux et extragénitaux. Entre mars 2019 et juillet 2020, 662 échantillons cliniques ont été collectés provenant de 542 sites extragénitaux et 120 sites génitaux à l'hôpital Saint-Louis.

Au total, 662 échantillons ont été traités sur les systèmes cobas 6800 et Alinity-m. Vingt-deux échantillons ont été exclus en raison de résultats invalides pour le contrôle interne laissant 640 échantillons pour l'analyse finale avec 50,6% (324/640) de prélèvements rectaux et 31,1% (199/640) de prélèvements de gorge et 18,3% (117/640) de 1^{er} jets d'urine. Les 640 échantillons ont été recueillis auprès de 515 patients. Dans l'ensemble, 91,4% (585/640) des échantillons ont été collectés auprès de 469 hommes, 5,5% (35/640) auprès de 32 femmes, et les 3,1% restants (20/640) auprès de 14 patients de sexe inconnu. L'âge médian des patients était de 31 ans (IQR : 26-40 ans). La présence ou l'absence de symptômes était connue pour 21,6% (111/515) des patients et 8,2% (42/515) ont déclaré avoir des symptômes. Les CEGGID étaient les lieux de consultation les plus fréquents (58%), suivis par les centres IST/dermatologie en milieu hospitalier (18,0%) et les consultations de maladies infectieuses (13,0%).

Les tests Alinity-m et cobas 6800 ont donné des résultats concordants pour 547/640 spécimens (85,5%), donnant un excellent pourcentage de concordance globale (OPA) de 97,8% pour *C. trachomatis*, 95,6% pour *M. genitalium* et 90,6% pour *N. gonorrhoeae*. Le score kappa le plus élevé à 0,93 a été obtenu pour *C. trachomatis*, alors que les scores kappa pour *M. genitalium* et NG étaient plus faibles, à 0,83 et 0,79, respectivement. Les pourcentages de concordance positif (PPA) et négatif (NPA) globaux et par type d'échantillon sont montrés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau. Comparaison du test Abbott m-STI avec les tests cobas CT/NG et TV/MG pour la détection de *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG) et *M. genitalium* (MG) dans les écouvillons urogénitaux, oropharyngés et anorectaux.

Sample type	Cobas 6800 results								
	<i>C. trachomatis</i>			<i>N. gonorrhoeae</i>			<i>M. genitalium</i>		
	Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total
Urine (n = 117)									
Positive	29	0	29	30	11	41	29	1	30
Negative	2	86	88	2	74	76	4	83	87
Total	31	86	117	32	85	117	33	84	117
Anal swab (n = 324)									
Positive	82	2	84	85	20	105	55	5	60
Negative	10	230	240	1	218	219	13	251	264
Total	92	232	324	86	238	324	68	256	324
Pharyngeal swab (n = 199)									
Positive	ND	ND	ND	75	9	84	ND	ND	ND
Negative	ND	ND	ND	17	98	115	ND	ND	ND
Total	ND	ND	ND	92	107	199	ND	ND	ND
All samples (n = 640)									
Positive	112	2	114	190	40	230	85	7	92
Negative	12	514	526	20	390	410	21	527	548
Total	124	516	640	210	430	640	106	534	640



Le diagramme de Venn présente la concordance/discordance entre les deux techniques pour chaque pathogène. ND : non déterminé

Tableau. Concordances entre les tests NeuMoDx™ CT/NG et cobas™ CT/NG MG/TV en fonction de la nature du prélèvement.

	<i>C. trachomatis</i>				<i>N. gonorrhoeae</i>				<i>M. genitalium</i>			
	OPA	PPA	NPA	Kappa	OPA	PPA	NPA	Kappa	OPA	PPA	NPA	Kappa
	%	% [95% IC]	%	K	%	% [95% IC]	%	K	%	% [95% IC]	%	K
Total	98	90	100	0.93	91	90	91	0.79	96	80	99	0.83
n=640	[96-99]	[84-95]	[99-100]	[0.89-0.97]	[88-93]	[86-94]	[88-93]	[0.74-0.84]	[94-97]	[71-87]	[97-100]	[0.77-0.89]
Urine	98	94	100	0.96	89	94	87	0.74	96	88	99	0.89
n=117	[94-100]	[79-99]	[96-100]	[0.93-0.98]	[82-94]	[79-99]	[78-93]	[0.69-0.80]	[90-99]	[72-97]	[94-100]	[0.85-0.93]
Anus	96	89	99	0.91	94	99	92	0.85	94	81	98	0.82
n=324	[94-98]	[81-95]	[97-100]	[0.87-0.94]	[90-96]	[94-100]	[87-95]	[0.80-0.89]	[91-97]	[70-89]	[95-99]	[0.77-0.88]
Gorge	-	-	-	-	87	82	92	0.74	-	-	-	-
n=199	-	-	-	-	[81-92]	[72-89]	[85-96]	[0.68-0.79]	-	-	-	-

OPA : pourcentage de concordance globale ; PPA : pourcentage de concordance positive ; NPA : pourcentage de concordance négative ; IC : intervalle de confiance.

Des divergences ont été observées pour 14% (93/640) des échantillons, principalement extragénitaux (78,5%) et/ou des échantillons présentant une positivité tardive (Ct >35 cycles) (90,3%). Les taux de discordance étaient les plus élevés pour *N. gonorrhoeae* (58,1%, 54/93), suivi de *M. genitalium* (29% ; 27/93) et de *C. trachomatis* (12,9% ; 12/93).

Pour *N. gonorrhoeae*, 20/54 spécimens ont été retrouvés positifs uniquement avec le cobas 6800, majoritairement des écouvillons oropharyngés faiblement positifs. Treize des 20 échantillons ont été reclassés comme "infectés" selon le résultat de la clinique, des antécédents et la PCR nichée de référence. La plupart des 34 spécimens identifiés comme *N. gonorrhoeae* -positifs par l'Alinity-m étaient des écouvillons anorectaux faiblement positifs. Sept des 34 spécimens ont été reclassés comme "infectés".

Pour les 12 divergences de *C. trachomatis*, un résultat positif a été obtenu avec le seul cobas 6800 ; 10 étaient des écouvillons anaux, et 8 présentaient des signaux d'amplification après 35 cycles. La qPCR réalisée au niveau du CNR à Bordeaux a permis de reclasser 5 de ces échantillons comme infectés.

Pour les 27 échantillons discordants pour *M. genitalium*, 21 étaient cobas 6800-positifs/Alinity m-négatifs et 6 étaient cobas 6800-négatifs/Alinity m-positifs, 18 écouvillons anorectaux, 5 1^{er} jets d'urine et 4 écouvillons oropharyngés, avec une amplification tardive pour 81,5% de ces tests. La qPCR développée au niveau du CNR a conduit à la reclassification de 7 des 27 échantillons comme positifs.

En conclusion, Alinity-m et Cobas® 6800 montrent un taux de concordance élevé sur les échantillons génitaux et extra-génitaux, pour la détection des 3 IST. Néanmoins, des résultats divergents ont été observés entre les deux techniques, en particulier pour la détection du gonocoque dans les écouvillons extra-génitaux. Cette étude est en cours de rédaction et a été acceptée sous forme de ePoster au 31^{ème} congrès de l'ECCMID en juillet 2021.

2.2.3 Evaluation de l'automate NeumoDx pour la détection d'IST (Qiagen)

Le CNR des IST (site Saint Louis) a comparé le test NeuMoDx™ CT/NG associé à l'analyseur NeuMoDx™ 96 Molecular System (Qiagen) et le test cobas™ CT/NG associé à l'analyseur cobas™ 6800 (Roche). Pour cette étude comparative rétrospective, nous avons inclus 94 échantillons positifs pour *C. trachomatis*, 93 échantillons positifs pour *N. gonorrhoeae*, et 95 échantillons négatifs par la technique cobas™ CT/NG. Ces échantillons ont été collectés à Saint-Louis entre mai 2018 et juin 2019. La répartition des échantillons était indiquée dans le tableau ci-dessous. Les 282 échantillons ont été recueillis auprès de 253 patients, dont 176 hommes et 77 femmes. Dans l'ensemble, 71,3% (201/282) des échantillons proviennent d'hommes, et 28,7% (81/282) de femmes. L'âge médian des patients était de 28 ans (IQR : 24- 38 ans).

Tableau. Description des échantillons analysés par la technique NeuMoDx™ CT/NG.

Origine de prélèvement	Echantillons positifs en cobas CT/NG		Echantillons négatifs en cobas CT/NG	Total
	<i>C. trachomatis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>		
Génitaux	34	24	32	90
Urine	30	30	30	90
Anus	16	18	15	49
Gorge	14	21	18	53
Total	94	93	95	282

Pour les 282 échantillons testés par la technique NeuMoDx™ CT/NG, 280 étaient interprétables. Nous avons déterminé le taux de concordance global (OPA, pour « Overall Percentage Agreement), le taux de concordance positif (PPA pour « Positive Percentage Agreement »), le taux de concordance négative (NPA pour « Negative Percentage Agreement ») et le coefficient Kappa (tableau ci-dessous).

Tableau. Concordances entre les tests NeuMoDx™ CT/NG et cobas™ CT/NG en fonction de la nature du prélèvement.

	<i>C. trachomatis</i>				<i>N/ gonorrhoeae</i>			
	OPA	PPA	NPA	Kappa	OPA	PPA	NPA	Kappa
Génitaux	100%	100%	100%	100%	96,4%	91,7%	100%	92,6%
<i>n</i> = 90	[100%-100%]	[100%-100%]	[100%-100%]	[100%-100%]	[91,6%-100%]	[80,6%-100%]	[100%-100%]	[85,8%-99,5%]
Urines	100%	100%	100%	100%	98,3%	96,7%	100%	96,7%
<i>n</i> = 90	[100%-100%]	[100%-100%]	[100%-100%]	[100%-100%]	[95,1%-100%]	[90,2%-100%]	[100%-100%]	[92,1%-100%]
Rectum	96,8%	93,8%	100%	93,6%	87,5%	76,5%	100%	75,3%
<i>n</i> = 49	[90,6%-100%]	[81,9%-100%]	[100%-100%]	[84,9%-100%]	[76%-99%]	[56,3%-96,6%]	[100%-100%]	[60,3%-90,2%]
Gorge	93,5%	84,6%	100%	86,5%	89,7%	81,0%	100%	79,7%
<i>n</i> = 53	[84,9%-100%]	[65%-100%]	[100%-100%]	[74,4%-98,5%]	[80,2%-99,3%]	[64,2%-97,7%]	[100%-100%]	[67,1%-92,3%]
Total	98,4%	96,8%	100%	96,8%	94,1%	88,0%	100%	88,2%
<i>n</i> = 188	[96,6%-100%]	[93,2%-100%]	[100%-100%]	[94,3%-99,3%]	[90,7%-97,5%]	[81,4%-94,7%]	[100%-100%]	[83,6%-92,8%]

OPA : pourcentage de concordance globale. PPA : pourcentage de concordance positive. NPA : pourcentage de concordance négative. IC : intervalle de confiance.

Tous prélèvements confondus, le taux de concordance était très élevé pour *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* (>90%). Pour les prélèvements génitaux et urinaires, le taux de concordance était également élevé pour *C. trachomatis* (100%) et *N. gonorrhoeae* (>95%). Pour les prélèvements rectaux et oropharyngés, un taux de concordance global de plus de 90% était observé pour *C. trachomatis*. En revanche, pour le diagnostic de *N. gonorrhoeae*, nous avons déterminé un taux de concordance global à 87,5% et 89,7% et un taux de concordance positif de 76,5% et 81,0%, pour les prélèvements rectaux et oropharyngés, respectivement. Ces taux de concordance positive plus faibles étaient liés à des échantillons détectés faiblement positifs par le test cobas™ CT/NG et négatifs par la méthode NeuMoDx™ CT/NG (4/17 pour les prélèvements rectaux, et 4/21 pour les prélèvements oropharyngés). Ces discordances sont en cours d'investigation à Saint-Louis et à Bordeaux.

2.2.4 Evaluation de 3 trousses commerciales pour le diagnostic de *M. genitalium* et de sa résistance aux macrolides

Dans cette étude comparative rétrospective, nous avons inclus 239 échantillons testés pour la présence de *M. genitalium* (104 négatifs et 146 positifs) entre avril et décembre 2019 au CNR des IST bactériennes. Les échantillons d'urine, urogénitaux et rectaux ont été conservés à -80°C et ont été inclus s'il s'agissait d'échantillons primaires collectés en UTM ou dans le milieu Cobas PCR media et si le volume disponible était ≥ 1,5 ml.

L'ADN de ces échantillons a été extrait avec le kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume sur l'instrument MagNa Pure 96 (Roche) après ajout du contrôle interne IC2 (Seegene) dans les urines. Les extraits d'ADN ont été soumis à la PCR Taqman de détection de *M. genitalium* (Jensen et al. J. Clin. Microbiol. 2004) et les échantillons

positifs ont été soumis à l'amplification et au séquençage de l'ARNr 23S (Touati et al. J. Clin. Microbiol. 2014) qui a servi de méthode de référence.

Trois kits de détection de *M. genitalium* et des mutations associées à la résistance aux macrolides ont été testés :

- le kit **Allplex MG&AziR (Seegene, Corée) utilisé sur le CFX96 real-time PCR system (Bio-Rad)**. Ce kit détecte *M. genitalium* (cible confidentielle) et six mutations associées à la résistance aux macrolides (A2058G, A2058C, A2058T, A2059G, A2059C, A2059T, numérotation *E. coli*).

- le kit **Macrolide-R/MG ELITe MGB kit utilisé sur l'ELITe InGenius®(ELITechGroup)**. Ce kit permet de détecter *M. genitalium* (gène de l'ARN 23S) et cinq mutations associées à la résistance aux macrolides (A2058G, A2058C, A2058T, A2059G, A2059C, numérotation *E. coli*).

- le kit **ResistancePlus MG Flexible (SpeeDx, Australie) réalisé avec le GeneXpert (Cepheid)**. Ce kit permet de détecter *M. genitalium* (gène de l'adhésine MgPa) and quatre mutations associées à la résistance aux macrolides (A2058G, A2058C, A2058T, A2059G, numérotation *E. coli*).

Les deux derniers kits sont des systèmes entièrement automatisés « tout en un » qui réalisent l'extraction d'ADN et l'amplification à partir des prélèvements.

Pour la **détection de *M. genitalium***, le pourcentage global de concordance des trois kits avec la méthode maison était compris entre 94,6% et 97,6%, sans différence significative entre les kits.

Tableau. Evaluation de la détection de *M. genitalium* par les 3 kits en comparaison à la PCR Taqman maison.

Commercial assays	Mg detection	In-house TaqMan PCR <i>M. genitalium</i> detection			Overall agreement [95% CI]	Positive agreement [95% CI]
		Positive	Negative	Total		
Allplex MG & AziR (Seegene)	Detected	111	1	112	94.6 [90.9-96.9]	91.0 [84.6-94.9]
	Not detected	11	101	112		
	Total	122	102	224		
	Invalid	13	2	15	k=0.89	
Macrolide-R/MG ELITe MGB (ELITech)	Detected	128	3	131	95.7 [92.3-97.7]	94.8 [89.7-97.5]
	Not detected	7	96	103		
	Total	135	99	234		
	Invalid	0	5	5	k=0.91	
ResistancePlus MG Flexible (SpeeDx)	Detected	121	0	121	97.6 [94.6-99.0]	96.0 [91.1-98.3]
	Not detected	5	84	89		
	Total	126	84	210		
	Invalid	2	16	18	k=0.95	
	System error	7	4	11		

Un total de 97 échantillons *M. genitalium*-positif avec les 3 kits a été utilisé pour évaluer la détection de la résistance aux macrolides. **Les sensibilités cliniques pour la détection de la résistance étaient respectivement de 74,5%, 96,2% et 92,8%**, pour le kit Allplex MG&AziR, le kit Macrolide-R/MG ELITe MGB et le kit ResistancePlus MG Flexible. La sensibilité du kit Macrolide-R/MG ELITe MGB était significativement supérieure à celle du kit Allplex MG&AziR. **Les spécificités cliniques des trois kits étaient comprises entre 97,4 et 97,6%**, sans différence significative.

Tableau. Performance de la détection de la résistance aux macrolides pour les 3 kits.

Commercial assay	23S rRNA mutation detection	23S rRNA sequencing results			Overall agreement % [CI 95%]	Sensitivity % [CI 95]
		Mutated	WT	Total		
Allplex MG & AziR (Seegene)	Detected	41	1	42	84.5 [76.0-90.4] k=0.70	74.5 [61.7-8
	Not detected	14	41	55		
Macrolide-R/MG ELITe MGB (ELITech)	Detected	51	1	52	96.7 [90.8-98.9] k=0.93	96.2 [87.2-9
	Not detected	2	38	40		
	Typing not feasible	2	3	5		
ResistancePlus MG FlexiBle (SpeeDx)	Detected	51	1	52	94.9 [88.5-97.8] k=0.90	92.8 [82.7-9
	Not detected	4	41	45		

Outre les performances de sensibilité et de spécificité, l'utilisation en random access, le volume d'échantillon requis, la possibilité de récupérer ou non un extrait d'ADN pour rechercher la résistance à d'autres antibiotiques doivent aussi entrer en considération au moment du choix d'un kit par les laboratoires.

Cette étude sera publiée dans le Journal of Clinical Microbiology, en juin 2021, volume 59, issue 6 et présentée en poster au congrès HIV and STI world congress en juillet 2021.

2.2.5 Evaluation de plaques à façon pour la détermination de CMI des mycoplasmes urogénitaux

En collaboration avec le CNR Légionelles, Hospices Civils de Lyon, nous avons élaboré une plaque à façon destinée à la détermination des CMI en milieu liquide par microdilution pour les mycoplasmes et les légionelles. Ces microplaques Sensititre customisées sont fabriquées par la société Biocentric (Bruker).

En ce qui concerne le CNR IST, les antibiotiques et les concentrations ont été sélectionnés pour réaliser des CMI chez *M. hominis* et chez *Ureaplasma* spp., en tenant compte des concentrations critiques fournies pour ces bactéries par le CLSI et des molécules utilisées pour le traitement.

Les antibiotiques suivants ont été intégrés :

Tétracyclines

- Tétracycline (0,031-16 µg/ml)
- Doxycycline (0,015-16 µg/ml)

Macrolides et apparentés

- Érythromycine (0,015-16 µg/ml)
- Azithromycine (0,07-16 µg/ml)
- Télithromycine (0,003-8 µg/ml)

Fluoroquinolones

- Lévofoxacine (0,0019-4 µg/ml)
- Moxifloxacine (0,003-8 µg/ml)

La rifampicine, naturellement inactive chez les mycoplasmes, a été intégrée pour les besoins du CNR légionelles. Le milieu de culture Shepard est utilisé pour les uréaplasmes et le milieu Hayflick arginine pour *M. hominis*. L'inoculation des puits de la plaque est réalisée à l'aide de 100 µl de souche préalablement calibrée à l'exception du témoin négatif qui doit être inoculé avec 100 µl de milieu stérile.

Tableau. Plan de plaque.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	DOX 0.015	DOX 0.031	DOX 0.062	DOX 0.125	DOX 0.25	DOX 0.5	DOX 1	DOX 2	DOX 4	DOX 8	DOX 16	T+
B	TET 0.031	TET 0.062	TET 0.125	TET 0.25	TET 0.5	TET 1	TET 2	TET 4	TET 8	TET 16	RAM 4	T-
C	CLI 0.015	CLI 0.031	CLI 0.062	CLI 0.125	CLI 0.25	CLI 0.5	CLI 1	CLI 2	CLI 4	RAM 0.0019	RAM 0.0039	RAM 0.25
D	TEL 0.003	TEL 0.007	TEL 0.015	TEL 0.031	TEL 0.062	TEL 0.125	TEL 0.25	TEL 0.5	TEL 1	TEL 2	TEL 4	TEL 8
E	MOX 0.003	MOX 0.007	MOX 0.015	MOX 0.031	MOX 0.062	MOX 0.125	MOX 0.25	MOX 0.5	MOX 1	MOX 2	MOX 4	MOX 8
F	LEV 0.0019	LEV 0.003	LEV 0.007	LEV 0.015	LEV 0.031	LEV 0.062	LEV 0.125	LEV 0.25	LEV 0.5	LEV 1	LEV 2	LEV 4
G	ERY 0.015	ERY 0.031	ERY 0.062	ERY 0.125	ERY 0.25	ERY 0.5	ERY 1	ERY 2	ERY 4	ERY 8	ERY 16	LEV 8
H	AZM 0.007	AZM 0.015	AZM 0.031	AZM 0.062	AZM 0.125	AZM 0.25	AZM 0.5	AZM 1	AZM 2	AZM 4	AZM 8	AZM 16

Dox=Doxycycline ; TET=Tétracycline ; RAM= Rifampicine; CLI=Clindamycine ; TEL=Télithromycine ; MOX=Moxifloxacine ; LEV=Lévofloxacine ; ERY=Erythromycine ; AZM=Azythromycine ; T+=Témoin positif ; T-=Témoin négatif / Concentration en mg/L.

Après un premier essai concluant en 2019 sur trois souches de référence, nous avons élargi les tests à 60 souches (20 *M. hominis*, 20 *U. parvum*, 20 *U. urealyticum* incluant les souches de référence *M. hominis* PG21, *U. parvum* S3 et *U. urealyticum* S8). Toutes les souches ont été testées en utilisant en parallèle la méthode de détermination des CMI en milieu liquide par microdilution définie par le CLSI (Report M43-A, 2011) et la plaque Biocentric. Pour chaque souche, chaque méthode et les 7 antibiotiques testés, les inoculum 10^4 UCC/ml et 10^5 UCC/ml et les temps de lecture 24h et 48h ont été comparés, ce qui représente un total de 3360 lectures de CMI.

Les analyses sont en cours pour déterminer si l'utilisation des plaques Biocentric est conforme à la méthode de référence du CLSI et si un inoculum à 10^4 UCC/ml ou 10^5 UCC/ml, ou si une lecture à 24h ou 48h, doit être préférée.

Les plaques seront ensuite utilisées avec les paramètres arrêtés pour déterminer les CMI des antibiotiques pour les souches obtenues en culture à partir des échantillons positifs à *Ureaplasma* spp et/ou *M. hominis* de l'enquête MYCOMET 2020.

2.2.6 Trousses de diagnostic sérologique de la syphilis

- **Evaluation du test NADAL® VDRL Agglutination Slide Test pour la vérification de méthode d'analyse dans le LCR, 30 LCR testés.**

Deux critères pertinents à étudier pour cette méthode étaient :

- la répétabilité : les mesures des contrôles négatif et positif sur 30 lectures consécutives ont été effectuées.
- la comparaison avec la méthode déjà utilisée au laboratoire : 30 LCR de patients, testés avec la méthode du laboratoire (VRDL Biosynex) ont été analysés avec le réactif (NADAL® VDRL Agglutination Slide Test) et les résultats ont été comparés.

Résultats

- Répétabilité : tous les résultats des 30 lectures du contrôle négatif et du contrôle positif ont été respectivement négatifs et positifs.
- Comparaison de méthodes : tous les échantillons testés négatifs (n=19) en méthode VRDL Biosynex ont été trouvés négatifs en méthode NADAL® VDRL Agglutination Slide Test.
- 11 LCR positifs ont des titres totalement concordants.

Conclusion

La méthode VDRL NADAL est répétable et comparable à la méthode VRDL Biosynex. La vérification des performances est satisfaisante. Cette méthode a été adoptée au laboratoire en septembre 2020.

N° Dossier	Résultat VDRL BioSynex	Nouvelle référence VDRL Nadal
12457	N	N
13150	N	N
25506	PUR	PUR
35855	N	N
43734	N	N
47784	PUR	PUR
47789	N	N
47803	POS 1/4	POS 1/4
47817	N	N
47840	N	N
47847	POS 1/4	POS 1/4
47870	N	N
47889	N	N
47993	N	N
57515	N	N
60216	POS 1/16	POS 1/16
64159	POS 1/2	POS 1/2
66901	POS 1/16	POS 1/16
66933	N	N
66955	N	N
66962	POS 1/16	POS 1/16
67309	N	N
67315	N	N
69862	POS 1/2	POS 1/2
75163	N	N
77745	N	N
87393	POS 1/4	POS 1/4
87413	N	N
87458	N	N
87462	N	N

- **Validation des tests tréponémiques pour le diagnostic sérologique de la syphilis dans le LCR par la méthode Chimiluminescence CMIA et ImmunoBlot.**

Cette étude porte sur un nombre total de 305 LCR dont 49 sont positifs par PCR et/ou VDRL, analysés par le CNR

sur la période 2019-2020. Cette population comprend 232 hommes et 73 femmes, âge moyen 55 ans.

Les LCR utilisés sont renseignés pour les données de sérologie syphilis des patients, des données relatives au LCR (nombre de cellules, protéinorachie, glycorachie) ainsi que les signes cliniques neurologiques et/ou ophtalmologiques.

Pour l'instant 86 LCR de patients ont été testés par la méthode CMIA pour le test tréponémique, 48 LCR sont retrouvés négatifs et présentaient des résultats négatifs en VDRL et PCR, un LCR présentait un résultat douteux en CMIA mais un résultat négatif en VDRL et PCR. Trente-sept LCR sont retrouvés positifs en CMIA, parmi lesquels 7 LCR avaient un test VDRL positif et ou une PCR positive.

Cette étude est toujours en cours, elle se poursuivra sur l'année 2021-2022

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

2.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Aucune technique n'a été transférée en 2020.

2.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Aucune technique n'a été transférée en 2020.

2.3.3 Laboratoire APHP Cochin

Aucune technique n'a été transférée en 2020.

2.4 Collections de matériel biologique

2.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Matériel biologique envoyé au CRB Bordeaux Biothèque Santé (BBS) du CHU de Bordeaux, entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2020 :

- 2705 échantillons positifs à *C. trachomatis* dans le cadre du réseau LGV en 2020, dont 1349 échantillons anorectaux positifs à *C.* reçu dans le cadre de l'enquête Anachla 2020.
- 71 souches de *C. trachomatis* isolées au CHU de Bordeaux.
- 525 échantillons biologiques positifs à *M. genitalium* envoyés au CNR en 2020 (421 extérieurs et 104 CHU de Bordeaux) dans le cadre de la recherche de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones.
- 720 échantillons positifs à *M. genitalium* dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en 2019 dont 376 provenant de France métropolitaine (MYCOMET19) et 344 provenant des départements et régions d'outre-mer (DROM 2019).
- 205 souches de *Ureaplasma* spp. et 46 souches de *M. hominis* isolées dans le cadre de l'enquête de détermination de la sensibilité aux antibiotiques de ces 2 espèces en France métropolitaine (MYCOMET19) ainsi que 87 souches d'uréaplasmes et 21 souches de *M. hominis* isolées et antibiogrammées au CHU de Bordeaux en 2019.

2.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Matériel biologique conservé au CNR à l'hôpital Saint-Louis, entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2020 :

Collection de 537 souches de gonocoque

- o 432 souches isolées en 2020 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2020)
- o 10 souches provenant du contrôle de qualité de l'ECDC (UKNEQAS)
- o 33 souches issues de demandes d'expertise au CNR
- o 10 souches isolées chez des patients souffrant d'anorectites d'emblée abcédées à St Joseph
- o 52 souches provenant du Burkina Faso (partenariat avec le Pr Sylvain Godreuil, CHU de Montpellier)

Collection de 886 prélèvements cliniques positifs en qPCR à gonocoque et expertisés pour les études suivantes :

- 64 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* dans le cadre de la recherche de résistance dans l'étude Mémodépistages-REMIND en 2020
- 18 prélèvements positifs à gonocoque issus de cas cliniques expertisés au CNR
- 140 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* reçus dans le cadre de l'enquête de la résistance du gonocoque dans les départements et régions d'outre-mer
- 2 extraits d'ADN positifs à gonocoque issus d'infections à gonocoque chez des femmes HIV-positives et HIV-négatives au Mali (étude ANRS)
- 662 échantillons positifs à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *M. genitalium* issus de la comparaison de l'automate cobas (Roche) / alinity (Abbott)
- 284 échantillons positifs à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* issus de la comparaison de l'automate cobas (Roche) / NeumoDX (Qiagen).

Collection de séquences de génomes complets :

- 457 génomes séquencés en NGS en 2020
- 396 souches séquencées en NGS en 2019
- 355 souches séquencées en NGS en 2018
- 11 souches WHO A → Z

2.4.3 Laboratoire APHP Cochin

Matériel biologique envoyé au CNR en 2020:

- 540 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise moléculaire, dont 40 ont été positifs pour *T. pallidum*.

- 245 LCR, dont 5 positifs pour *T. pallidum*
- 136 échantillons périnataux dont 10 positifs
- 91 écouvillons lésions cutanéomuqueuses dont 16 positifs
- 23 biopsies dont 8 positives
- 30 sang totaux dont 1 positif
- 5 prélèvements « autres », aucun positif

- 339 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise sérologique, dont 695 ont été positifs pour la syphilis.

- 105 échantillons analysés dans le cadre du protocole GENOSYPH, dont 32 ont été positifs pour *T. pallidum*.

- 62 échantillons positifs pour *T. pallidum* provenant de l'expertise et de GENOSYPH analysés pour la recherche des marqueurs génétique de résistance à l'azythromycine : 63% des échantillons présentent la mutation A2058G (numérotation *Escherichia coli*).

2.5 Activités d'expertise

2.5.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

En 2020, dans le cadre du **réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis***, le CNR a reçu et typé 2708 échantillons dont 2688 d'origine anorectale. Cette activité est en légère augmentation par rapport en 2019 et est en lien avec l'activité de surveillance décrite 3.1.1 et 3.2.1.

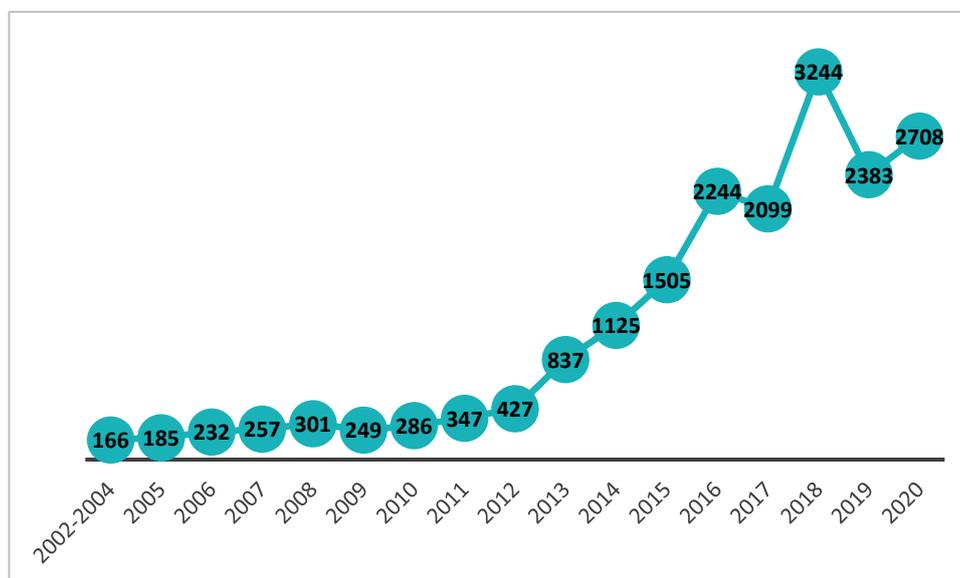


Figure. Évolution du nombre d'échantillons reçus au CNR depuis 2002.

Les 20 échantillons non rectaux se répartissent en 5 adénopathies, 4 échantillons pharyngés, 2 urines, 2 liquides péritonéaux, 2 biopsies coliques, 1 ulcération génitale, 1 ulcération buccale, 1 écouvillon vaginal, 1 urètre et 1 écouvillon conjonctival. Les résultats du typage sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau. Nature des échantillons extra-rectaux typés en 2020 dans le cadre du réseau de surveillance de la LGV.

Nature de l'échantillon	Souche L	Souche non L
Adénopathie	5	
Biopsie colique	1	1
Conjonctival		1
Liquide péritonéal		2
Pharyngé		4
Ulcération buccale		1
Ulcération génitale	1	
Urètre		1
Urine		2
Vaginal		1

L'activité d'expertise concernant les mycoplasmes urogénitaux est en très légère baisse. Si 529 échantillons avaient été pris en charge en 2019, un total de 493 échantillons provenant de l'extérieur a été analysé en 2020 (tableau ci-dessous) soit une diminution de 6,8%.

Tableau. Activité d'expertise, mycoplasmes urogénitaux, 2020

	Nombre d'échantillons
Culture, antibiogrammes et CMI de <i>Ureaplasma</i> spp. et <i>M. hominis</i>	
CH ARRAS	5
CHU ANGERS	3
CH DE LA SOURCE	3
CH PUBLIC DU COTENTIN	3
CH DAX	2
CHI CRETEIL	2
CH ROBERT DEBRE	2
CHU RENNES	2
CH ROUEN	1
CH LILLE	1
CH VALENCIENNES	1
CHU BREST	1
CHU LYON	1
HOPITAL SAINT ANTOINE	1
LABM BIOLAB AVENIR SELAS	1
Total	29
PCR <i>Ureaplasma</i> spp. et <i>M. hominis</i>	
CH ARRAS	5
CHU ANGERS	5
HOPITAL SAINT LOUIS	6
CH LIBOURNE	4
CH ROBERT DEBRE	4
CH LA SOURCE	3
CH PUBLIC DU COTENTIN	3
HOPITAL BICHAT CLAUDE BERNARD	3
CH PAU	2
CH CHOLET	1
CH CIVILS DE COLMAR	1
CH DAX COTE D'ARGENT	1
CH LE MANS	1
CHI CRETEIL	1
CHI MARMANDE	1
CHICRETEIL	1
CHU STRASBOURG	1
Total	43

Mutations associées à la résistance aux macrolides de *M. genitalium*

LABM LXBIO	92
LABM BASSIN POTASSIQUE	41
LABM BIOSITES MONTREUIL JUIGNE	33
LABM BIOFFICE	22
CHRU NANCY	20
CH TOULON	18
LABM CERBALLIANCE	18
CHU LILLE	15
HOPITAL SAINT ANTOINE	12
CHU NANTES	11
LABM EUROFINS	10
CHU DIJON	8
LABM EXALAB	8
HOPITAL COCHIN	8
HOPITAL SAINT LOUIS	7
CHD LA ROCHE SUR YON	6
HOPITAL PITIE-SALPETRIERE	6
CH BAYONNE	5
CHU POITIERS	5
HOPITAL ANDRE GREGOIRE	5
CH LIBOURNE	4
HOPITAL LOUIS MOURIER	4
CH SUD GIRONDE	3
INSTITUT ALFRED FOURNIER	3
CHU LYON	2
CH ANDRE GREGOIRE MONTREUIL	2
CH BESANCON	2
CH LE MANS	2
CH REUNION	2
CH ROBERT BALLANGER	2
CH SENS	2
CHRU BREST	2
CHU CAEN	2
CHU ROUEN	2
HIA BEGIN	2
CH ARRT DE MONTREUIL SUR MER	2
CH VALENCIENNES	2
LABM BIOLAM LCD MONTREUIL	2

LABM CERBA	2
CH SAINT DENIS	1
CH ANGOULEME	1
CH CHALON	1
CH CHARLEVILLE MEZIERES	1
CH DU HAVRE	1
CH NORD-MAYENNE	1
CH QUIMPER	1
CH TOURCOING	1
CHR METZ	1
CHU AMIENS	1
CHU CLERMONT FERRAND	1
CHU LIMOGES	1
CHU MONTPELLIER	1
CHU NICE	1
CHU RENNES	1
HOPITAL BICHAT	1
HOPITAL PRIVE DU CONFLUENT	1
LABM BIOFUTUR DES 3 SOURCES	1
LABM BIOLAM BRANCAS	1
LABM DE LA CPAM DE PARIS	1
LABM ESPACEBIO	1
LABM GERARD NOET	1
LABM ORIADE	1
LABM SELAS ALPHABIO	1
LABM SELAS CAB	1
LABORATOIRE QRIADE BRIANCON	1
LE LABO REPUBLIQUE	1

Total

421

Les résultats concernant les mycoplasmes urogénitaux sont transmis dans un délai de quatre jours ouvrables pour la culture et l'antibiogramme de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* ainsi que pour que la recherche de mutations associées à la résistance aux macrolides chez *M. genitalium*. Les PCR *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* et les CMI sont rendues en une semaine, la recherche de mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones en deux semaines.

2.5.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Au cours de l'année 2020, le CNR a reçu un total de 537 souches de gonocoque et 886 prélèvements cliniques provenant de 44 Centres Hospitaliers ou laboratoires pour une expertise dans le cadre d'une suspicion de gonococcie (cf. Tableau ci-dessous).

Tableau. Activités d'expertise gonocoques, 2020

LABM ou Hôpitaux	Nombre de souches
Cultures et antibiogrammes de <i>N. gonorrhoeae</i>	
CHU BICHAT	14
LABM ASTRALAB LIMOGES	5
LABM BIOCEANE-LE HAVRE	11
LABM BIOEXCEL BOURGES	4
LABM CBM25 - BESANÇON	8
CH AIX-EN-PROVENCE	4
CH DE VERSAILLES	2
CH LENS	9
CH METROPOLE SAVOIE	2
CH PUBLIC DU COTENTIN	3
CH TOURCOING	6
CH V.DUPOUY ARGENTEUIL	5
CHRU BRETONNEAU TOURS	9
CHRU NANCY	15
CHU ANGERS	4
CHU BORDEAUX	20
CHU BREST	9
CHU BESANÇON	5
CHU POITIERS	3
CHU GRENOBLE ALPES	3
CHU LIMOGES	3
CHU LYON	67
CHU NANTES	2
CHU RENNES	2
CHU TOULOUSE - IFB	27
LABM EXALAB	42
HOPITAL ANTOINE BECLERE	11
HOPITAL BEAUJON	7
HOPITAL FOCH	5
CHU HENRI MONDOR	8
CHU KREMLIN-BICETRE	10
CHU NECKER ENFANTS MALADES	1
CHU MONTPELLIER	52
CHU ROBERT DEBRE	1
CHU SAINT ANTOINE	35
CHU SAINT LOUIS - LARIBOISIERE	65
HOPITAL ST JOSEPH	10
HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG	6
LABM BIOPAJ VAUBAN - VALENCIENNES	1
LABM DES ANDAINES SELAS NORMABIO - LA FERTE MACE	1
LABM NOVABIO (NOTRE-DAME-DE-SANILHAC)	6
LABM DU GCS DE LA MAYENNE	2
LABM ORIADE NOVIALE	26
LABM SELAS BIO 86	5
TOTAL	537

PCR identification de *N. gonorrhoeae* et recherche de résistance sur prélèvements

LABM CERBA (Echantillons DROM)	140
CHU MONTPELLIER / ST LOUIS/LYON, MARSEILLE (Echantillons REMIND)	64
CHU PITIE SALPETRIERE	2
CH SENS	2
HOPITAL RAYMOND-POINCARE	2
LABM BIOPOLE	2
LABORIZON VENDEE - BIORYLIS	1
CHI TOULON - LA SEYNE SUR MER	1
CHU NICE - HOPITAL L'ARCHET 2	1
CH DU MANS	4
HOPITAL AMBROISE PARE	1
CHU GABRIEL MONTPIED / CH DE MONTLUÇON	4

TOTAL**224****2.5.3 Laboratoire APHP Cochin****Année 2020****Dans le cadre de l'expertise :**

- Nombre des centres participants :	141	>95% laboratoires hospitaliers
- Nombre total d'expertises :	1935	27,9% PCR et 72,1% sérologies
- Nombre total d'échantillons :	1159	
LCR	280	2% positifs par nPCR et 7,1% par sérologie
Périnataux ^a	136	7,3% positifs par nPCR
Écouvillon	91	16,5% positifs par nPCR
Biopsie	23	34,8% positifs par nPCR
Sérum	349	50% positifs par nPCR et/ou sérologie
Sang total	30	3,3% positifs par nPCR
Autre	5	0% positifs par nPCR

^a Placenta, liq. amniotique, cordon, sang cordon, écouvillons. nasaux/buccaux, sécrétions naso-pharyngées, sang total.

Le délai moyen de restitution des résultats est de 5,33 jours pour la PCR, de 6,86 jours pour la sérologie sanguine et de 10,21 jours pour la sérologie du LCR.

2.6 Activités de séquençage

2.6.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Nous n'avons pas eu d'activité de séquençage génomique en 2020. De tels séquençages à partir d'échantillons sans avoir de souche sont très difficiles à réaliser et restent du domaine de la recherche.

2.6.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

En 2020, le NGS a été de plus en plus utilisé pour le suivi épidémiologique des souches de *N. gonorrhoeae*. Il permet une analyse fine avec l'extraction *in silico* des gènes utiles au typage moléculaire pour déterminer le NG-MAST, MLST, le NG-NSTAR et les déterminants génétiques de la résistance aux antibiotiques. Le séquençage de génome depuis l'extraction jusqu'à l'analyse bio-informatique n'est réalisé à Saint-Louis que pour les souches de gonocoque. Pour les échantillons cliniques pour lesquels le NGS n'est pas encore disponible, le CNR a mis en place une PCR nichée suivie de Séquençage / Sanger permettant un typage NG-MAST et des PCR ciblées pour les déterminants de résistance aux antibiotiques.

Le tableau ci-dessous rapporte les 457 souches reçues pour séquençage NGS en 2020. Les résultats des séquençages sont décrits dans les chapitres surveillance et recherche.

Tableau. Nombre de génomes de gonocoques séquencés en 2020

Origine des souches de gonocoques séquencés	Nombre
Souches Burkina Faso	52
Souches anorectites Saint-Joseph	9
Souches EUROGASP	10
Souches ENGON2019	378
Souches résistantes / Sensibilité diminuée aux C3G	8
Total	457

Analyse des runs à l'aide du « pipeline » bioinformatique

Les données brutes issues du séquençage haut débit de *N. gonorrhoeae* sont stockées sur un serveur français agréé pour l'hébergement de données de santé et de recherche mise en place par la plateforme bioinformatique de l'APHP « MOABI » <http://idfseqit.fr/>

Les runs sont analysés avec le pipeline d'analyse des données de séquençage du génome de *N. gonorrhoeae* (NG-AR2T) situé sur le portail web G-route de la plateforme Moabi (figure ci-dessous).

Le déploiement du pipeline sur cette interface permet la génération d'un rapport épidémiologique complet automatisé. Ce rapport comprend :

- (I) Le contrôle qualité et l'assemblage *de novo* des données de séquençage
- (II) Le typage moléculaire *in silico* pour déterminer le NG-MAST, le MLST et le NG-STAR
- (III) La caractérisation des déterminants de la résistance aux antibiotiques ainsi que la détection des mutations chromosomiques connues et présentes sur ces gènes
- (IV) La construction d'un arbre phylogénétique et le calcul des distances génomiques pour tracer les liens épidémiologiques entre les isolats, comme l'indique le processus bioinformatique schématisé ci-dessous.

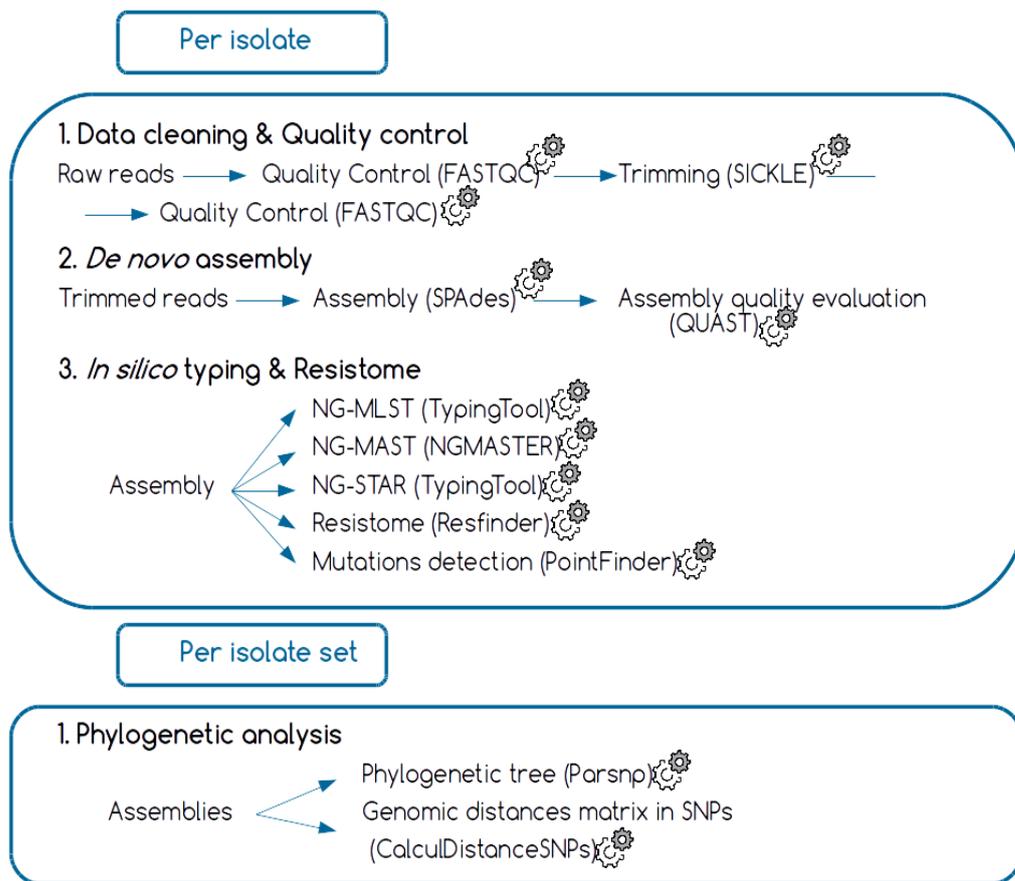


Figure. Schéma du pipeline personnalisé NG-AR2T (*Neisseria gonorrhoeae* genome Assembly, Resistome, Typing and Tree).

2.6.3 Laboratoire APHP Cochin

A ce jour, le séquençage du génome de *T. pallidum* par NGS ou WGS n'est pas possible du fait de l'incapacité de cultiver la souche sur milieu artificiel et de la très faible proportion de son matériel génétique dans les échantillons, qui sont contaminés par de l'ADN humain. A l'heure actuelle, la seule possibilité de séquençage repose sur une étape d'amplification préalable de l'ADN de *T. pallidum* à partir des échantillons cliniques à des fins de typage moléculaire épidémiologique, non réalisable en routine.

3. Activités de surveillance

Laboratoire CHU de Bordeaux : éléments clefs 2020

La surveillance des infections à *C. trachomatis* en 2020 a concerné les infections **anorectales** dans le cadre du **réseau LGV** et de l'enquête **Anachla**. Les points marquants sont :

- Une augmentation du nombre de nos correspondants cliniciens due à la dynamique de l'enquête Anachla.
- Un nombre de cas de LGV qui baisse. Au cours de l'enquête Anachla, la prévalence des souches L était de 13,4%, la LGV étant principalement diagnostiquée chez les patients symptomatiques et séropositifs pour le VIH.
- Un nombre de cas non LGV qui a diminué en 2019 en raison de l'arrêt de la surveillance des PrePeurs mais qui remonte en 2020 en raison de l'enquête Anachla.

La surveillance des infections urogénitales à *C. trachomatis* ayant porté sur 2 ans sur la métropole et l'Outre-Mer en 2017-18, il ne sera pas réalisé d'études supplémentaires sur le reste de la mandature. En effet, la répartition des génovars est stable et ne présente pas de phénomène inhabituel nécessitant une surveillance épidémiologique rapprochée. Un manuscrit a été publié par le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire le 16 mars 2021.

La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. genitalium* en France métropolitaine rapporte une prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* à respectivement 36,8% et 16% (résultats préliminaires) en 2020.

La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. en France métropolitaine en 2019 rapporte une prévalence de la résistance aux tétracyclines à 15,2% pour *M. hominis* et à 4% pour *Ureaplasma* spp. Ces chiffres sont en augmentation pour *M. hominis* par rapport à ceux de 2018 mais seulement 20 souches avaient été isolées. La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones est de 2,2% pour *M. hominis* et 5% pour *Ureaplasma* spp. ; ces chiffres sont stables par rapport à ceux de 2018.

Laboratoire GH Saint-Louis : éléments clefs 2020

La prévalence de la résistance du gonocoque en France métropolitaine est de 0% à la ceftriaxone, 0,2% au céfixime, 9,5%, à l'azithromycine, 59,8% aux fluoroquinolones, 64,1% à la tétracycline dont 32,1% avec un haut niveau de résistance et de 0% à la spectinomycine. Les valeurs de CMI de la gentamicine sont inférieures ou égales à l'Ecoff. Ces chiffres confirment un taux très faible de la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération en France. Une augmentation de la résistance à l'azithromycine se confirme et approche des 10% en 2020/

La surveillance de la résistance du gonocoque en Outre-Mer a été consolidée sur une collection de prélèvements plus importante confirmant une résistance aux fluoroquinolones plus faible dans les DROM qu'en France métropolitaine variant de 0 à 38% selon les départements. La résistance aux tétracyclines à haut niveau liée au gène *tetM* est similaire à celle observée en France métropolitaine. La circulation de souche de sensibilité diminuée aux céphalosporines est objectivée à partir de la prédiction moléculaire plus particulièrement en Martinique et doit être surveillée.

Le séquençage des souches par NGS résultant des **enquêtes ENGON 2018 et 2019** permet d'observer la circulation de plusieurs clusters de gonocoques sensibles à la ceftriaxone de MLST ST7822, ST1583, ST1599 et ST9363. Est observée en France une grande des clones internationaux multi-résistants, de MLST1901 et MLST7363.

En 2019, des **anorectites abcédées** liées à la seule présence de *N. gonorrhoeae* avaient été signalées au CNR et les souches ont été investiguées par NGS. Plusieurs MLST ont été retrouvés éliminant la circulation d'un seul clone. Cependant, une souche de MLST10314, NG-MAST12547 et NGSTAR1387 clustérisait avec plusieurs souches responsables d'infections invasives décrites en 2019. En parallèle, un cas de gonococcémie avec arthrite a été signalé en mars 2020 au niveau du Centre Hospitalier de Mayotte avec une souche très éloignée phylogénétiquement des souches virulentes isolées en 2019 en France métropolitaine.

Laboratoire APHP Cochin : éléments clefs 2020

Soixante-trois % des prélèvements positifs à *T. pallidum* testés en France hébergent une souche **résistante** à l'azithromycine.

Dix-huit alertes de neurosyphilis sont répertoriées.

Huit alertes de syphilis congénitales ont été lancées.

3.1 Description du réseau de partenaires

3.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux : réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis*

Le réseau de surveillance des anorectites est animé par le CNR des IST bactériennes et repose sur la participation volontaire des cliniciens et des laboratoires qui envoient leurs échantillons anorectaux CT positifs au CNR pour diagnostic de LGV.

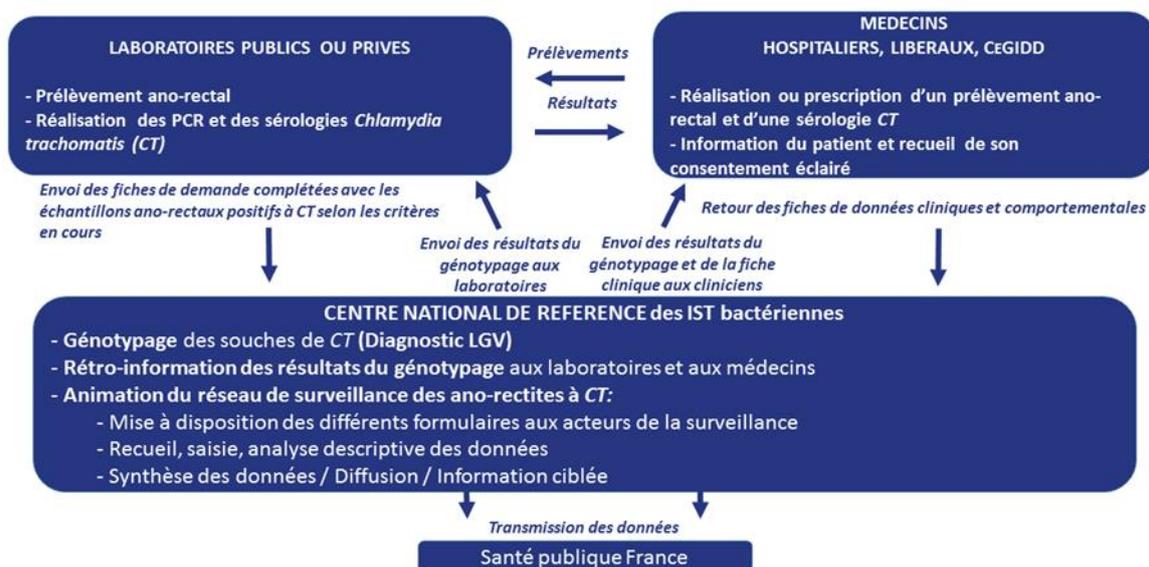


Figure. Coordination du réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis*.

L'implantation du réseau couvre la majeure partie du territoire métropolitain comme le montre la carte de densité géographique cumulée de nos correspondants cliniciens.

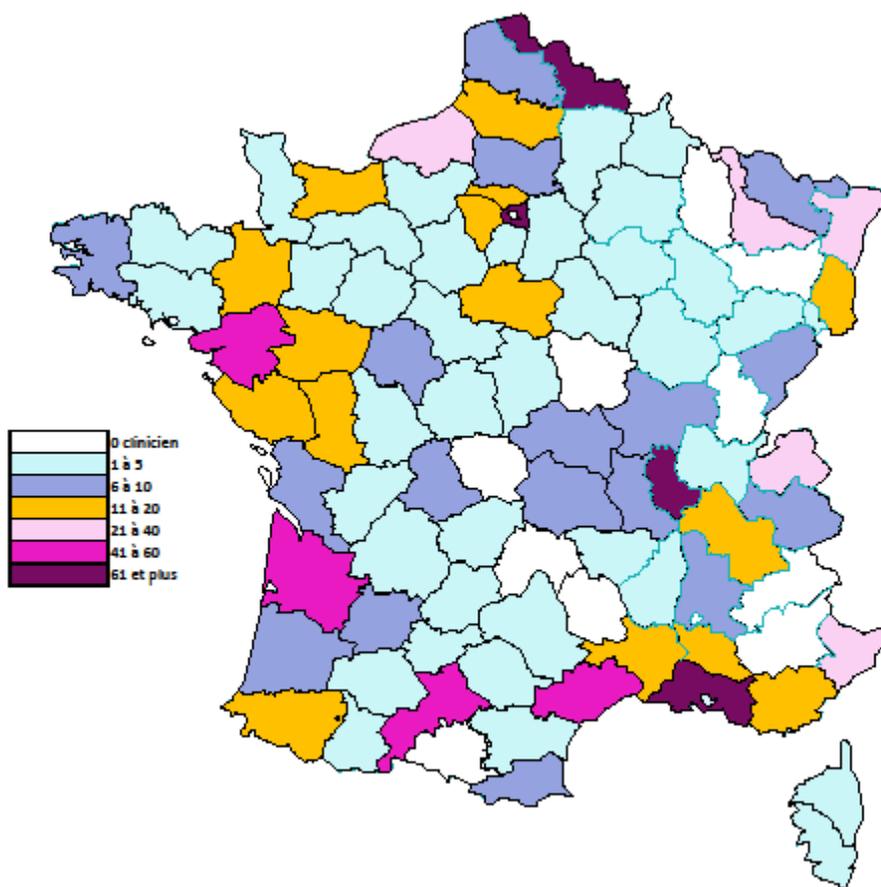


Figure. Implantation territoriale du réseau de cliniciens.

En 2020, le réseau comporte 1770 médecins correspondants ayant participé au moins une fois en demandant un typage de la souche présente dans le prélèvement d'un ou de plusieurs de leur(s) patient(s). Comme le montre la figure ci-dessous, en 2020, 509 médecins ont collaboré au réseau dont 186 nouveaux. Le nombre de cliniciens repart à la hausse grâce à l'enquête Anachla qui a mobilisé nos correspondants. Depuis 2010, 364 laboratoires ont contribué au réseau et en 2020, ce sont 101 laboratoires qui ont envoyé des échantillons dont 11 nouveaux participants.

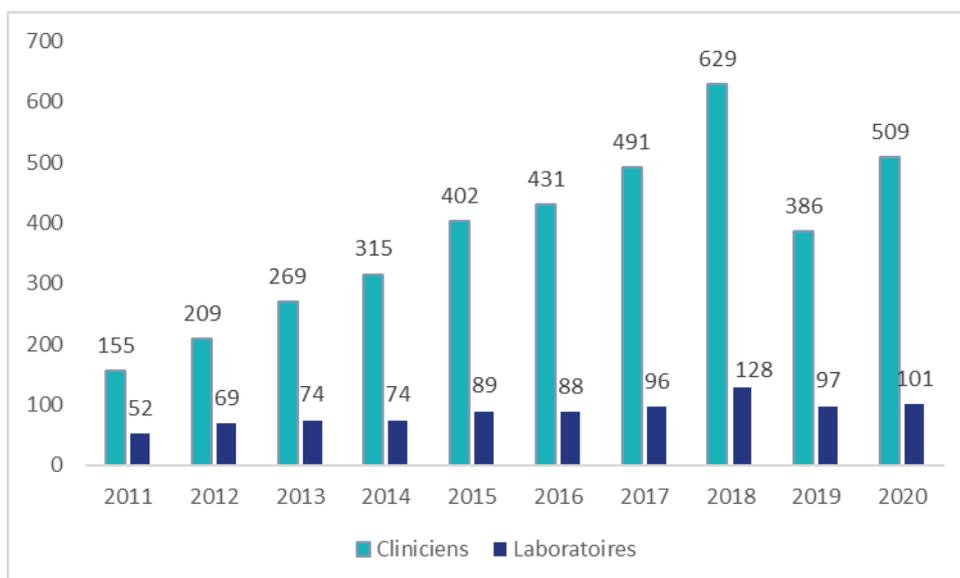


Figure. Évolution du nombre de correspondants actifs du réseau.

Les trois modes d'exercice, ville, hôpital et CeGIDD sont représentés dans la figure ci-dessous. La participation des cliniciens est en augmentation quel que soit le mode d'activité.

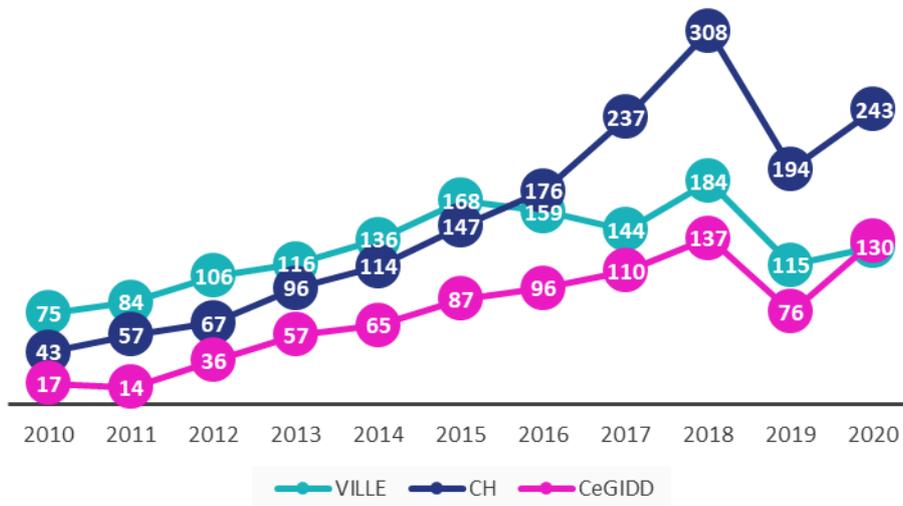


Figure. Évolution du nombre de cliniciens du réseau par mode d'exercice : Ville, Centre Hospitalier (CH) et CeGIDD.

L'année 2020 se caractérise par une augmentation globale du nombre de prélèvements par clinicien. Cette tendance est nettement plus marquée pour les médecins exerçant en CeGIDD. L'enquête Anachla qui a ré-ouvert la possibilité de faire typer des échantillons provenant de patients asymptomatiques en est la principale raison.

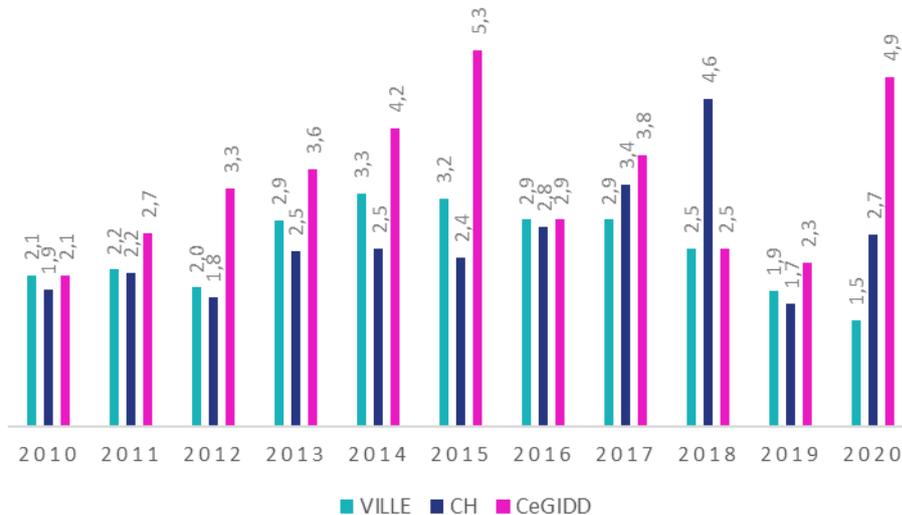


Figure. Évolution du nombre moyen d'échantillons/médecin/an en fonction du mode d'exercice.

Les différentes spécialités médicales sont décrites dans la figure ci-dessous. En 2020, le pourcentage de cliniciens infectiologues reste stable. La proportion de médecins exerçant en CeGIDD augmente de près de 9% par rapport à 2019, et ce, aux dépens des médecins généralistes et des hépato-gastro-entérologues et proctologues qui voient plutôt des patients symptomatiques.

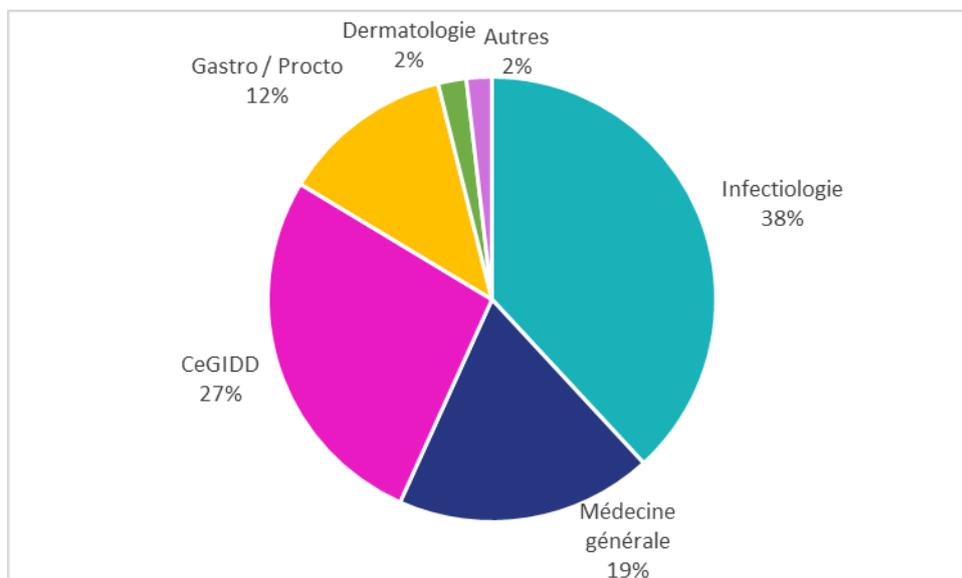


Figure. Répartition des médecins du réseau par spécialité.

3.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Le réseau Renago s'est arrêté fin 2018 et la surveillance a été remplacée par des enquêtes annuelles appelées ENGON en lien avec Santé publique France auxquelles participent les laboratoires publics et privés.

3.1.3 Laboratoire APHP Cochin

3.1.3.1 Dans le cadre du protocole GENOSYPH

L'étude GENOSYPH a reçu un avis favorable du CPP Ile de France 3 (no.IRB SC3005). Elle porte sur des prélèvements par écouvillonnage de lésions primaires ou secondaires de patients atteints de syphilis. Le sérum est collecté pour continuer à alimenter la sérothèque du CNR. La détection du gène *tp47* de *T. pallidum* par nPCR est réalisée systématiquement avec un rendu de résultat sur une base hebdomadaire à titre indicatif (l'anonymat est conservé).

Pour l'année 2020, le CNR a reçu un total de 105 échantillons (sérums et écouvillons) provenant des centres collecteurs de l'étude GENOSYPH (Services de Dermatologie-MST des hôpitaux Cochin, CeGIDD de Marseille, de Chalon s/ Saône, de La Réunion). Les échantillons proviennent principalement d'Ile-de-France et de Marseille (figure ci-dessous).



Figure. Provenance des échantillons des prélèvements GENOSYPH reçus en 2020.

Les centres collecteurs sont répartis sur le territoire français comme le montre la Figure ci-dessous. La participation des autres CeGIDD parisiens hors AH-HP est compromise du fait des contraintes du protocole pré-analytique car il n'existe pas de procédures adaptées à l'acheminement des prélèvements. Le CNR fournit les écouvillons dans un kit de transport pour matière biologique de catégorie B, norme UN 3373. Le retour du kit à température ambiante reste à la charge du centre préleveur par voie postale ou par transporteur agréé. Un total de 23 centres ont été contactés pour participer à l'étude GENOSYPH en plus des centres Parisiens.

En 2020, 3 centres préleveurs ont envoyés des échantillons (Cochin, Aix-Marseille et La Réunion). Cette année est marquée par une forte baisse d'envoi des échantillons sur les mois de mars jusqu'à juillet correspondant aux mois pendant lesquels la crise sanitaire a conduit le CNR à adapter son activité.

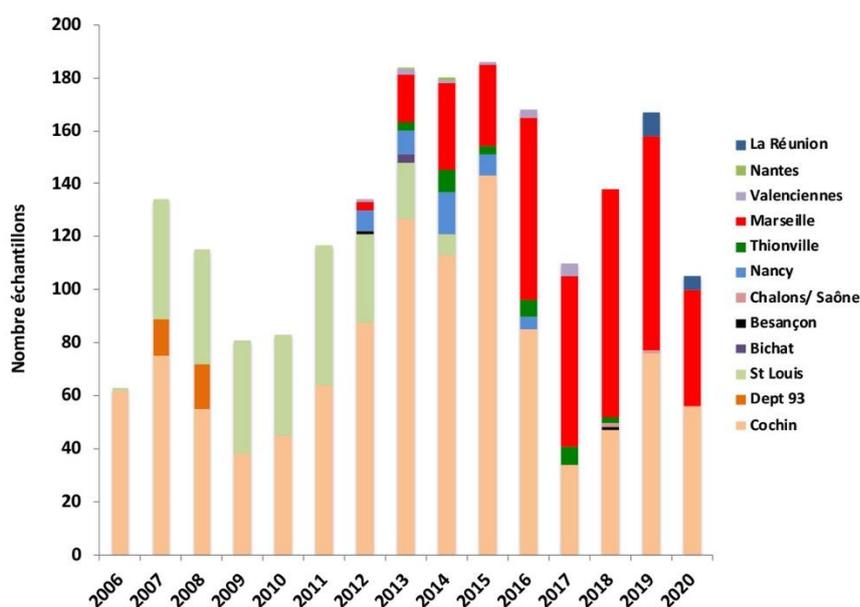


Figure. Répartition des prélèvements GENOSYPH en fonctions des centres pour l'année 2020.

3.1.3.2 Dans le cadre de l'expertise

Pour l'année 2020, le CNR a reçu 1159 échantillons correspondant à 885 patients répartis sur 141 centres différents. Les échantillons envoyés proviennent de l'ensemble du territoire avec principalement l'Île-de-France qui reste fortement représentée (figure ci-dessous).



Figure. Nombre et provenance des échantillon envoyés pour expertise pour l'année 2020.

A partir de l'année 2011, le nombres de centres envoyant des échantillons pour expertise n'a cessé d'augmenter graduellement pour atteindre 141 en 2020 (tableau ci-dessous).

Tableau. Evolution du nombre de centres participants depuis 2011.

Année	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Nb de centres	39	37	65	92	91	86	100	130	129	141

Sur la période 2006-2020, les envois proviennent de l'ensemble des régions (figure ci-dessous) avec une forte représentativité de l'Île de France, de la région PACA, du Grand-Est, des Hauts de France et de la Nouvelle Aquitaine.

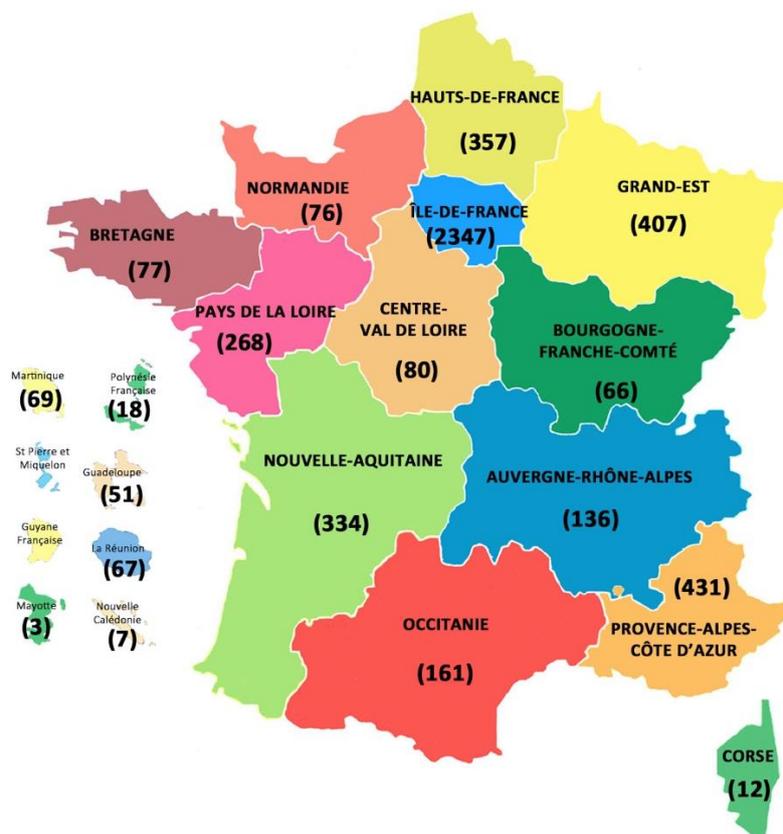


Figure. Provenance des échantillons reçus par le CNR syphilis pour expertise en 2006-2020.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.1 Anorectites à *C. trachomatis*

Dans le cadre du réseau de surveillance de la LGV, nous avons, depuis janvier 2019, limité la surveillance :

- à tous les patients séropositifs pour le VIH, symptomatiques ou non,
- et aux patients séronégatifs pour le VIH, uniquement symptomatiques.

La crise sanitaire a provoqué une baisse nombre de prélèvements reçus au CNR notamment sur les trimestres 2 et 3. L'enquête Anachla, initialement prévue d'avril à juin 2020, a été repoussée au mois de septembre et a permis de relancer l'activité comme le montre la figure ci-dessous.

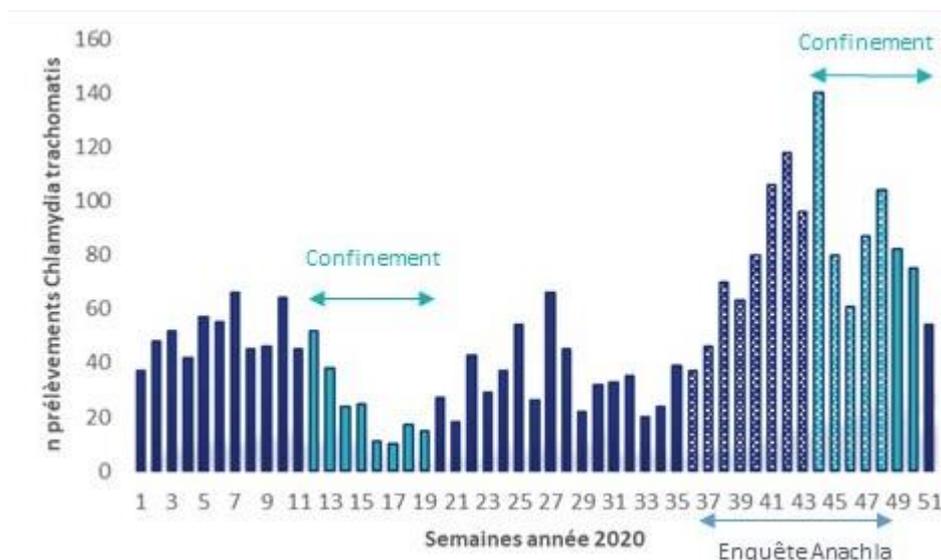


Figure. Frise chronologique des prélèvements reçus en 2020.

3.2.1.1 Anorectites à souches L

Le nombre de cas de LGV en 2020 est de 500, soit une baisse de 32,8% par rapport à 2019 (744 cas). Au total sur la période 2010-2020, le nombre de cas de LGV s'élève à 4774 (figure ci-dessous).



Figure. Evolution des cas de LGV en France 2010-2020.

Cette diminution du nombre de cas en 2020 s'observe également dans les laboratoires qui sont pérennes depuis 2015. Entre 2019 et 2020, on observe une baisse de 32,8% sur l'ensemble du territoire quasi identique à celle des laboratoires constants qui est de 32,4 % (figure ci-dessous).

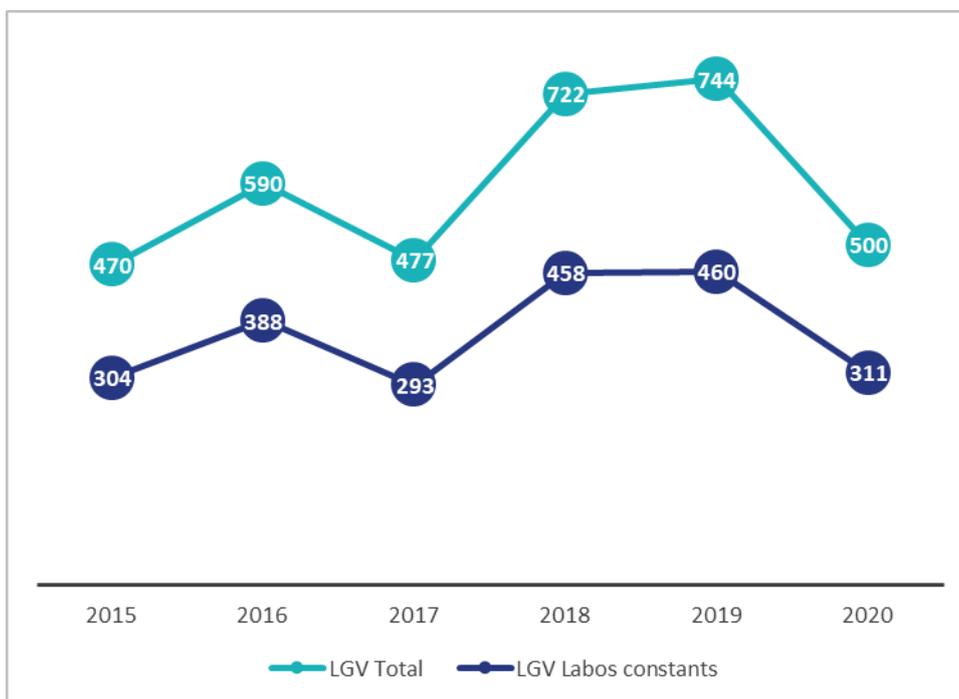


Figure. Évolution du nombre de cas de LGV sur l'ensemble du réseau et sur les laboratoires constants depuis 2015.

3.2.1.2 Anorectites à souches non L

L'augmentation du nombre de cas de 2018 était due à la surveillance accrue des HSH sous PrEP qui font partie de la population HIV-négative asymptomatique, puis le nombre d'anorectites typées avec une souche non L a fortement diminué en 2019 car nous avons cessé cette observation. En 2020, le nombre de cas remonte grâce à l'enquête Anachla qui a fourni plus de la moitié des sujets.



Figure. Evolution des cas d'anorectites non LGV en France 2010-2020.

3.2.1.3 Evolution du réseau des anorectites à *C. trachomatis* : enquête Anachla 2020

Dans le cadre du réseau de surveillance de la LGV, en raison d'une charge de travail trop importante nous avons, depuis janvier 2019, limité la surveillance :

- à tous les patients séropositifs pour le VIH, symptomatiques ou non,
- et aux patients séronégatifs pour le VIH, uniquement symptomatiques.

Les biais de sélection induits par ces critères ne nous permettent plus de suivre les tendances épidémiologiques de cette infection. De plus, des trousse commercialisées marquées CE-IVD pour le diagnostic des souches de *C. trachomatis* de génovar L viennent d'être évaluées au CNR et mettent le diagnostic de la LGV à disposition des laboratoires privés et hospitaliers. De fait, le diagnostic de la LGV ne devait plus rentrer dans les missions du CNR des IST bactériennes à partir de 2021. Les laboratoires et cliniciens du réseau ont été informés de cette évolution fin 2019 lors de l'envoi du poster annuel. Cependant, compte-tenu de la crise sanitaire actuelle, le timing de cette évolution a été revu et nous continuons le diagnostic au moins le temps de la mandature.

Une réunion a été organisée le 22 janvier 2020 entre le CNR IST et ses correspondants de Santé publique France, Florence Lot et Ndeindo Ndeikoundam, pour envisager l'évolution de ce réseau compte-tenu de ces données. Il a été ainsi décidé que **le CNR mette en place l'enquête Anachla qui consistera à collecter tous les échantillons positifs à *C. trachomatis* pendant 3 mois sans critère d'exclusion.** Cette enquête, initialement prévue d'avril à juin 2020, a été reportée à septembre en raison de l'épidémie COVID-19.

Objectifs

- Détermination de la prévalence de la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) anorectale dans la population française.
- Comparaison des patients infectés par une souche L versus ceux infectés par une souche non-L sur des variables démographiques, cliniques et comportementales.

Matériels et méthodes

Du 1er septembre au 30 novembre 2020, les laboratoires ayant accepté de participer de participer à l'étude ont envoyé au CNR l'ensemble de leurs échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* au moyen d'enveloppes T pré-adressées.

L'extraction d'ADN a été réalisée sur l'automate MagNaPure 96TM (Roche Diagnostics) à partir de 200 µl d'échantillon. Les acides nucléiques ont été élués dans 100 µl de tampon. Le diagnostic de LGV a été réalisé en utilisant une PCR en temps réel chimie TaqMan ciblant une délétion de 36 pb spécifique du génovar L sur le gène pmpH (cf annexes).

Les résultats obtenus ont été envoyés au médecin prescripteur. Celui-ci était invité à remplir un questionnaire à renvoyer au CNR, comportant des données relatives au patient (sexe, date de naissance, nature de l'échantillon, service demandeur, notion de dépistage, présence symptômes et des informations sur le comportement sexuel). Cette fiche de renseignements cliniques a été créée en collaboration avec Santé publique France et est annexée à ce rapport. Ces données ont été colligées de façon anonyme sur un fichier Excel.

Les caractéristiques des populations étudiées ont été décrites par des proportions et des médianes. Les tests du Chi² et de Fisher ont été utilisés pour comparer les variables qualitatives. Le test de Student a permis l'analyse comparative des variables quantitatives. Le seuil de significativité retenu est $p < 0,05$. Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le site Biostat TGV (<https://biostatgv.sentiweb.fr/>). Les intervalles de confiance des odds ratios ont été calculés selon la Méthode de Woolf.

Résultats

Un total de 1349 échantillons provenant de 1338 patients a été reçu de 94 laboratoires de France métropolitaine et des DROM (La Réunion, Guadeloupe et Guyane Française).

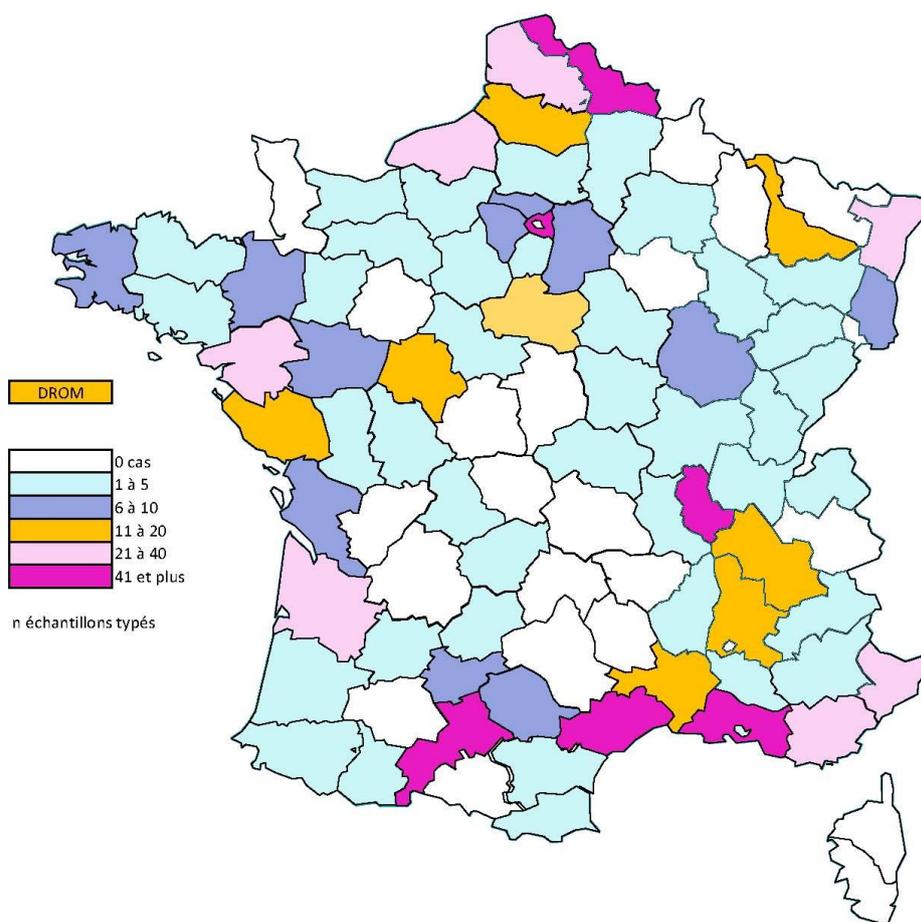


Figure. Répartition géographique des échantillons typés.

Population étudiée

Le CNR a reçu 1349 échantillons dont 1227 ont été amplifiés (90,9%). Les fiches cliniques n'ont été demandées aux cliniciens que pour les patients dont l'échantillon a été amplifié ; le taux de retour était de 67,3% (826/1227).

Les 1227 échantillons amplifiés appartenaient à 1216 patients (1145 hommes (94,2%), 47 femmes (3,9%), 22 transsexuels (1,8%) et 2 inconnus) et provenant de 94 centres répartis en métropole et DROM. L'âge médian était de 33,2 ans [16-75] chez les hommes, de 33,3 ans [16-58] chez les femmes et de 33,2 ans [22-62] chez les transsexuels (figure ci-dessous). L'ensemble des transsexuels avait un sens de conversion Homme vers Femme. Les échantillons typés étaient statistiquement comparables à ceux qui n'avaient pas amplifiés en termes de sexe (94,2% d'hommes vs 98,4% et 3,83% de femmes vs 1,63%, $p > 0,05$), et d'âge (médiane d'âge des hommes : 33,2 ans vs 33,0 ans et médiane d'âge des femmes : 33,3 ans vs 33,0 ans).

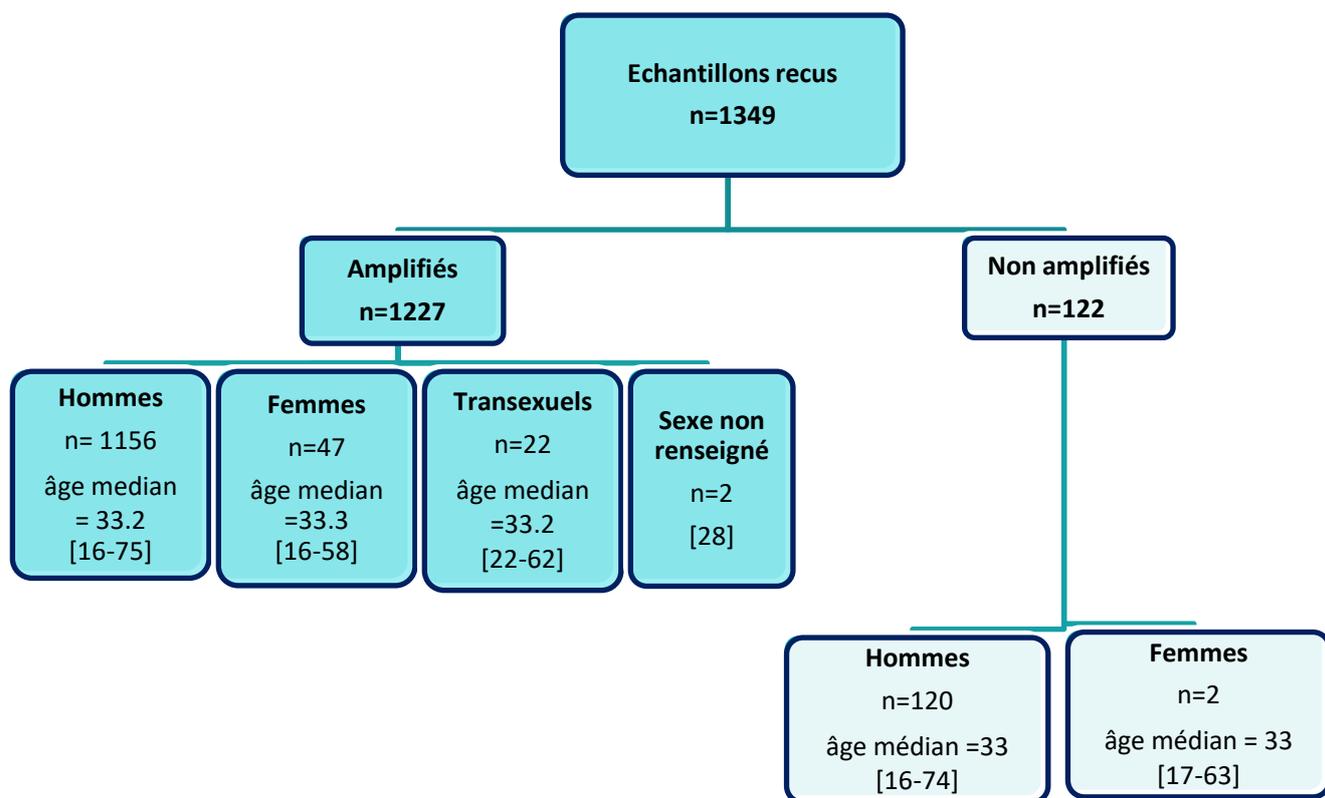


Figure. Distribution en sexe et en âge des prélèvements reçus.

Parmi les hommes ayant accepté de renseigner leur pratique sexuelle, 93,5% (706/755) étaient des Hommes ayant des relations Sexuelles avec des Hommes (HSH) et 5,7% avaient des relations avec des hommes et des femmes. Les 33 femmes ayant déclaré leurs pratiques avaient toutes des relations avec des hommes. Quant aux transsexuels, un quart d'entre eux se déclarait travailleur du sexe et tous avaient des relations avec des hommes.

Nous avons exclu de l'analyse 11 échantillons provenant de patients pour lesquels un premier échantillon avait déjà été reçu au cours de l'étude :

- * 6 patients ont été prélevés à moins de 5 semaines d'intervalle et sont donc considérés comme des doublons.
- * 4 patients ont été à nouveau prélevés 5 semaines plus tard et sont considérés comme des récidives.
- * un patient a été prélevé à 2 semaines d'intervalle et est considéré comme une nouvelle contamination.

Prévalence des souches L et non-L et caractéristiques des groupes de patients

Parmi les 1216 échantillons analysés, **163 (13,4%) étaient de géovar L** et 1053 (86,6%) de géovar non-L.

La comparaison des groupes de patients LGV et non LGV est présentée dans le tableau suivant.

Sexe

Sur les 163 cas de LGV, 98,8% étaient des hommes et 1,2% des transsexuels.

La prévalence de LGV était de 14,1% chez les hommes et de 9,1% chez les transsexuels ($p > 0.05$). Aucun cas de LGV n'a été détecté chez les femmes.

Age

Les patients ayant une LGV était statistiquement plus âgé que les patients non-LGV, avec respectivement un âge moyen de 38,9 ans vs 34,8 ans ($p < 0.001$).

Les hommes ayant une LGV avaient une moyenne d'âge de 39,1 ans vs 35,1 pour les non-LGV ($p < 0.001$) (figure ci-dessous).

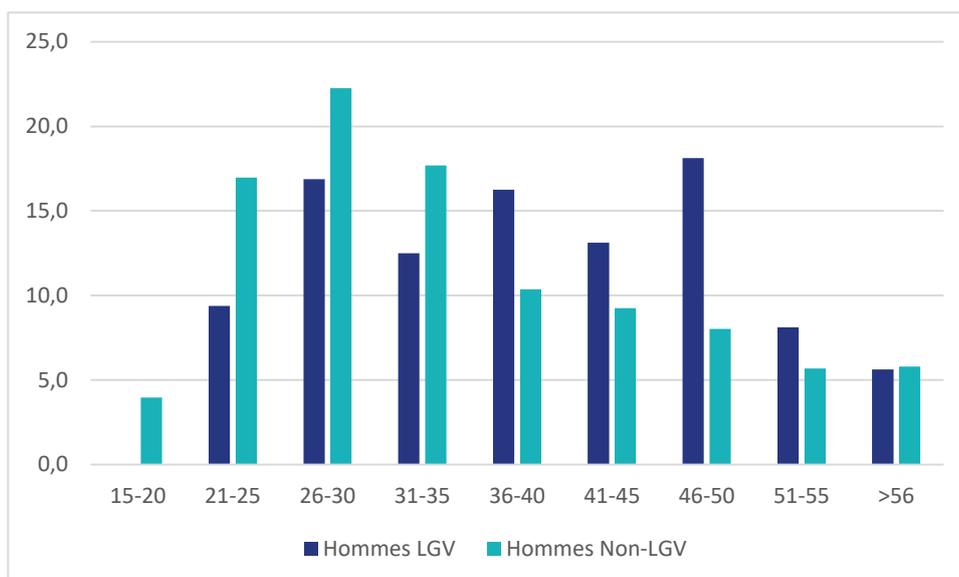


Figure. Répartition des classes d'âge chez les hommes.

Lieu de résidence

Nous ne trouvons pas de différence dans la provenance des échantillons entre l'Île de France et la province. Les souches L provenaient de l'Île de France dans 29,4% des cas vs 33,0% pour la province (non significatif, NS).

Parmi les 851 échantillons issus de province, 115 (14%) étaient de génovar L ; parmi les 395 échantillons venant de l'Île de France, 48 (12,2%) étaient de génovar L (NS). Aucun cas de LGV n'a été retrouvé dans les DOM.

Pratiques sexuelles chez les hommes

Les pratiques sexuelles des patients de sexe masculin étaient connues pour 71,4% des patients LGV vs 64,9% des non-LGV (NS). La proportion d'HSH est statistiquement supérieure chez les patients LGV, 71,1% vs 62,3% pour les non-LGV ($P < 0.05$).

Le nombre de partenaires rapportés dans l'année n'influe pas sur la présence d'une souche de génovar L ou non-L. Nous n'observons pas de différence en fonction du pays d'origine de la contamination : 96,8% des patients LGV ont été infectés en France vs 96,7% chez les non-LGV.

Services prescripteurs

Les patients porteurs d'une souche non-L provenaient des CeGIDD dans 54,3% des cas vs 36,2% pour les LGV ($P < 0.001$) (figure ci-dessous). À l'inverse, les patients LGV étaient plus issus de consultation de médecine générale et d'hépatogastro-entérologie/proctologie que les patients non-LGV, respectivement, 14,7% vs 9,6% et 8,0% vs 0,9% ($P < 0.001$). Aucune différence statistiquement significative n'était retrouvée pour les services de médecine infectieuse et tropicale et de dermatologie.

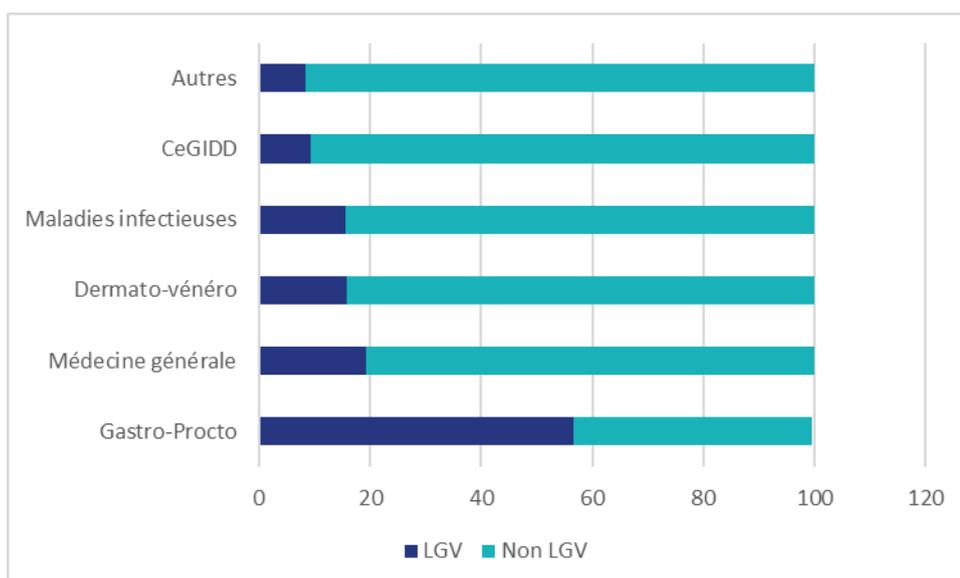


Figure. Prévalence des patients LGV et non LGV en fonction des services demandeurs.

Motif de consultation

Les patients LGV présentaient plus souvent des symptômes anorectaux que les patients non-LGV (respectivement 44,9% vs 11,4%, $p < 0.001$) ou d'autres symptômes (respectivement 5,1% vs 2,2%, $p < 0.05$). Une proportion supérieure de patients sous PrEP a été retrouvée chez les porteurs de souche non-L vs ceux porteurs d'une souche L, respectivement 24,0% vs 13,6% ($p < 0.05$), ainsi que chez les patients consultant pour un dépistage d'IST (36,6% vs 20,3%, $p < 0.001$). Il n'y a pas de différence statistiquement significative de répartition des souches L et non-L chez les patients consultant pour une prise de risque sexuel, pour une IST chez le partenaire, ou pour un contrôle post-traitement.

Nous ne retrouvons pas de différence statistiquement significative entre la prévalence de LGV parmi les PrEPeurs vs l'ensemble de la population étudiée, respectivement 14,6% et 13,4% ($p > 0.05$).

La proportion la plus importante de patients ayant une LGV était retrouvée dans le groupe de patients consultant pour une symptomatologie anale (42%).

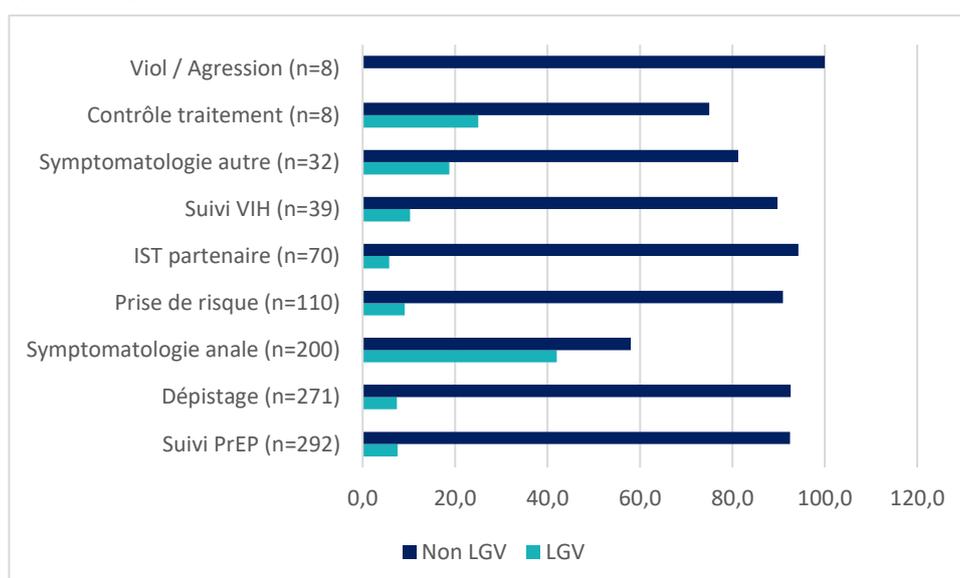


Figure. Prévalence des souches L et non-L en fonction des motifs de consultation.

Statut VIH

Les patients LGV étaient plus fréquemment séropositifs pour le VIH que les patients non-LGV ($p < 0.001$).

Autre coinfection virale

Nous ne notons pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes de patients pour une coinfection virale active autre que le VIH.

Coinfection bactérienne

Environ la moitié des patients LGV et non-LGV ne présentait aucune coinfection bactérienne. Un quart des patients de chaque groupe était coinfecté par *Neisseria gonorrhoeae*. Une coinfection avec une syphilis active était plus fréquemment rapportée chez les patients LGV que les patients non-LGV (respectivement, 13,6% vs 8,3%, $p < 0,05$).

Tableau. Caractéristiques des patients LGV et non-LGV.

Paramètres	Souche L (n=163)	Souche non L (n=1053)	OR (95% CI)	P-value
Genre	N (%)	N (%)		
Homme	161 (98,2)	984 (93,4)		
Femme	0 (0)	47 (4,5)		
Transsexuel	2 (1,22)	20 (1,9)		
Non renseigné	0	2 (0,2)		
Age (années)				
Écart	[21-71]	[16-75]		
Moyenne	38,9	34,8		<0,001
Médiane	38	32		
Lieu de résidence				
Paris	48 (29,4)	347 (33,0)	0,85 [0,59-1,22]	NS
Province	115 (70,6)	706 (67,0)		
Orientation sexuelle				
HSH	116	657	1,37 [0,95-1,97]	NS
Non renseigné	46	358		
Service prescripteur				
CeGIDD	59 (36,2)	572 (54,3)	0,48 [0,34-0,68]	<0,001
SMIT	63 (38,7)	343 (32,6)	1,3 [0,92-1,83]	NS
Médecine générale	24 (14,7)	101 (9,6)	1,63 [1,01-2,63]	<0,05
Gastro-entérologie/proctologie	13 (8,0)	10 (0,9)	9,04 [3,89-20,98]	<0,001
Dermatologie	3 (1,8)	16 (1,5)	1,22 [0,35-4,23]	NS
Autres	1 (0,6)	11 (1,1)	0,58 [0,07-4,52]	NS
Non renseigné	0	0		
Motif de consultation				
Consultation PrEP	27 (13,6)	279 (24,0)	0,50 [0,33-0,77]	<0,05
Dépistage IST*	40 (20,3)	425 (36,6)	0,44 [0,30-0,64]	<0,001
Symptômes anorectaux	89 (44,9)	132 (11,4)	6,37 [4,56-8,89]	<0,001
Autres symptômes	10 (5,1)	26 (2,2)	2,32 [1,10-4,89]	<0,05
Contrôle post-traitement	2 (1,0)	6 (0,5)	1,96 [0,39-9,78]	NS
Autres	3 (1,5)	25 (2,2)	0,70 [0,21-2,34]	NS
Non renseigné	27 (13,6)	268 (23,1)	0,53 [0,35_0,81]	<0,05
VIH				
Positif	64 (39,3)	264 (25,1)	1,93 [1,37-2,72]	<0,001
Négatif	91 (55,8)	699 (66,4)	0,56 [0,41-0,76]	<0,001
Non renseigné	8 (4,9)	90 (8,5)	0,50 [0,24-1,05]	NS

Autre co-infection virale				
HB-HC	4 (2,5)	13 (1,2)	2,01 [0,6566,24]	NS
HSV-HPV	6 (3,6)	20 (1,9)	1,97 [0,78-4,98]	NS
Non	127 (77,9)	826 (78,4)	0,97 [0,65-1,44]	NS
Non renseigné	26 (16,0)	194 (18,4)	0,84 [0,54-1,31]	NS
Co-infection bactérienne				
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	46 (27,2)	250 (23,1)	1,25 (0,87-1,80]	NS
Syphilis	23 (13,6)	90 (8,3)	1,77 [1,08-2,89]	<0,05
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3 (1,8)	11 (1,0)	1,78 [0,49-6,45]	NS
Aucune	81 (47,9)	617 (57,0)	0,75 [0,54-1,04]	NS
Non renseigné	16 (9,5)	115 (10,6)	0,92 [0,53-1,60]	NS

NS : non significatif.

*Regroupe les motifs de dépistage dans le cadre de viol/agression, prise de de risque, IST chez le partenaire et le dépistage systématique.

Facteurs de risques d'acquisition d'une souche L

Nous voyons que, dans cette étude, la LGV est rencontrée chez les patients symptomatiques (OR = 6,37) et séropositifs pour le VIH (OR = 1,93).

Comparaison des données 2020 et 2015.

Nous avons comparé les données obtenues en 2015 (dernière année où tous les échantillons anorectaux reçus au CNR étaient typés, sans critères de restriction) à celle de cette enquête pour les patients LGV et non-LGV chez les hommes. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	LGV			Non LGV		
	2015 (n=470)	2020 (n=161)	P-value	2015 (n=791)	2020 (n=984)	P-value
Localisation						
Paris / Ile de France	63,4% 295/465	29,9% 46/159	<0,001	43,3% 341/788	32,5% 320/984	<0,001
Age						
Moyenne	41,1	39,1	<0,05	33,8	35,1	<0,05
Min-Max	20-67	21-71		17-72	16-75	
Médiane	41	38		32	33	
HIV						
Positif	74,4% 274/368	40,5% 62/153	<0,001	28,4% 198/696	27,4% 246/899	NS
Signes cliniques						
Présence	92,5% 245/265	64,9% 87/134	<0,001	36,4% 206/566	19,4% 142/732	<0,001
Orientation sexuelle						
HSH	99,2% 262/264	99,1% 114/115	NS	96,8% 547/565	100% 639/639	NS

Nous voyons ainsi qu'en 2020 les patients LGV sont plus souvent issus de la province, sont plus jeunes et sont plus souvent asymptomatiques qu'en 2015. Les patients LGV sont également moins souvent séropositifs pour le VIH en 2020 qu'en 2015.

Nous avons ensuite comparé la valeur prédictive positive d'avoir une LGV en 2015 et en 2020. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Caractéristiques	Valeur prédictive positive (%) d'avoir une LGV	
	2015	2020
VIH+ symptomatiques	76,3	49,3
VIH+ asymptomatiques	12,8	10,2
VIH- symptomatiques	32,8	32,7
VIH- asymptomatiques	1,5	5,9

Nous voyons que la valeur prédictive positive d'avoir une LGV chez les patients VIH+ et symptomatiques en 2015 était de 76,3% vs 49,3% en 2020. Chez les patients VIH- asymptomatiques, cette valeur était de 1,5% en 2015 vs 5,9% en 2020.

Discussion

L'enquête Anachla 2020 nous montre que la LGV est principalement diagnostiquée chez les patients symptomatiques et séropositifs pour le VIH.

Concernant les PrePeurs, la prévalence de LGV est similaire à celle de l'ensemble de la population (respectivement, 14,6% vs 13,6%, $p > 0,05$), ce qui confirme nos précédentes données (Peuchant et al., Sex Transm Infect. 2020).

Depuis 2019, nous ne réalisons le typage LGV que des échantillons anorectaux provenant de patients VIH + et/ou symptomatiques. D'après les données d'Anachla 2020, en respectant ces critères, la valeur prédictive de notre diagnostic est de 94,1%. En 2015, selon ces mêmes critères, la valeur prédictive positive était de 98,5%.

L'épidémiologie de la LGV change et exige une surveillance continue.

Un poster présentant les résultats sera envoyé aux participants d'ici fin juin 2021.

3.2.2 Infections à gonocoque

3.2.2.1 Cas d'infections recensées dans l'enquête ENGON 2020

Les souches de *N. gonorrhoeae* isolées en culture en France métropolitaine du 1 septembre au 31 décembre 2020 ont été collectées, conservées à -80°C, puis envoyées au CNR via un transporteur mandaté (TSE express médical). Le CNR au laboratoire de l'hôpital Saint-Louis a reçu 496 recueils de données cliniques anonymisées auxquels 447 souches ont pu être associées avec 423 obtenues en culture pour analyse.

Les cas cliniques provenaient de 42 centres hospitaliers ou laboratoires privés dont la répartition géographique est localisée sur la carte ci-dessous.

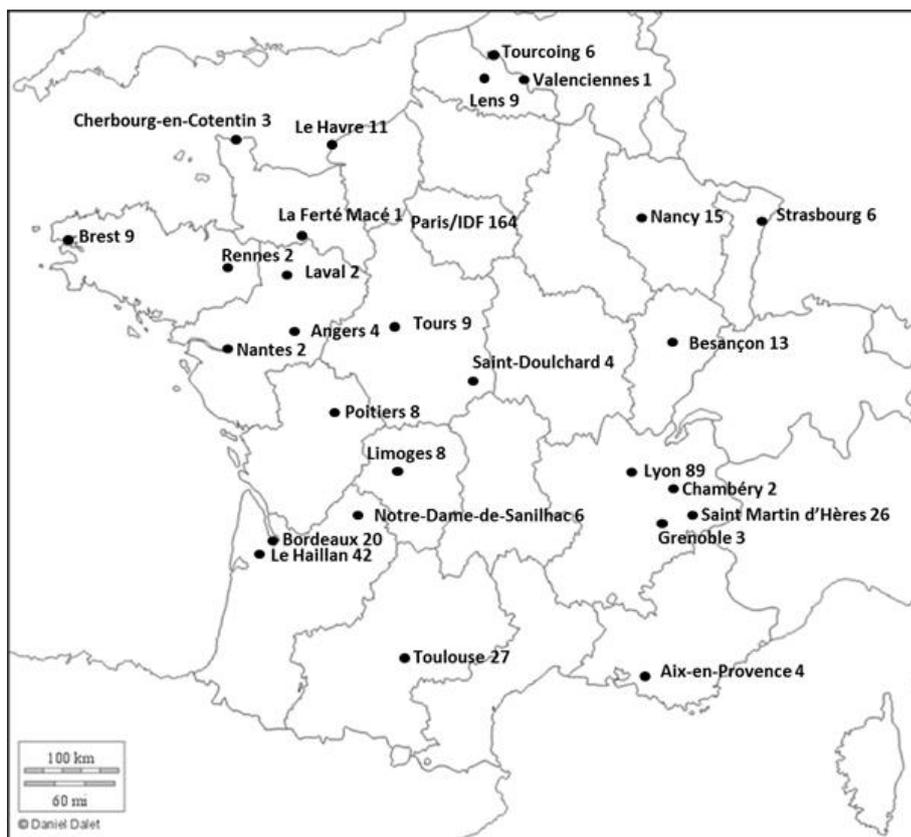


Figure. Répartition géographique des participants de l'enquête ENGON 2020

Sur les 496 cas de gonococcies déclarés pour lesquels une souche a été isolée, 79,2% (393/496) proviennent d'hommes, 19,8% (98/496) de femmes et 1% (5/496) d'individus transgenres. Dans 62,3% (309/496) des cas, les informations cliniques étaient renseignées rapportant 77% (238/309) de patient(e)s symptomatiques et 23% (71/309) patient(e)s asymptomatiques venu(e)s pour un dépistage.

L'orientation sexuelle était renseignée dans moins de la moitié des cas (36,9% ; 183/496). On observe que 66,1% (121/183) des cas signalés sont rapportés chez des homosexuels ou bisexuels dont 93,4% (113/121) sont des hommes, 2,5% (3/121) des femmes et 4,1% (5/121) des transsexuels. *A contrario*, les 33,9% (62/183) des cas rapportés chez des hétérosexuels provenaient de 62,9% (39/62) de femmes et 37,1% (23/62) d'hommes.

L'âge moyen des patients était de 29 ans et l'âge médian était de 27 ans avec une amplitude allant de 0 à 75 ans. Les hommes étaient statistiquement plus âgés que les femmes, respectivement 30 ans vs 27 ans. La classe d'âge la plus représentée sur l'ensemble de la population était la classe 20-24 ans, suivie de la classe 25-29 ans. Dans la classe la plus représentée, 29,9 % des femmes et 25,5% des hommes avaient entre 20 et 24 ans, comme indiqué dans la figure ci-dessous.

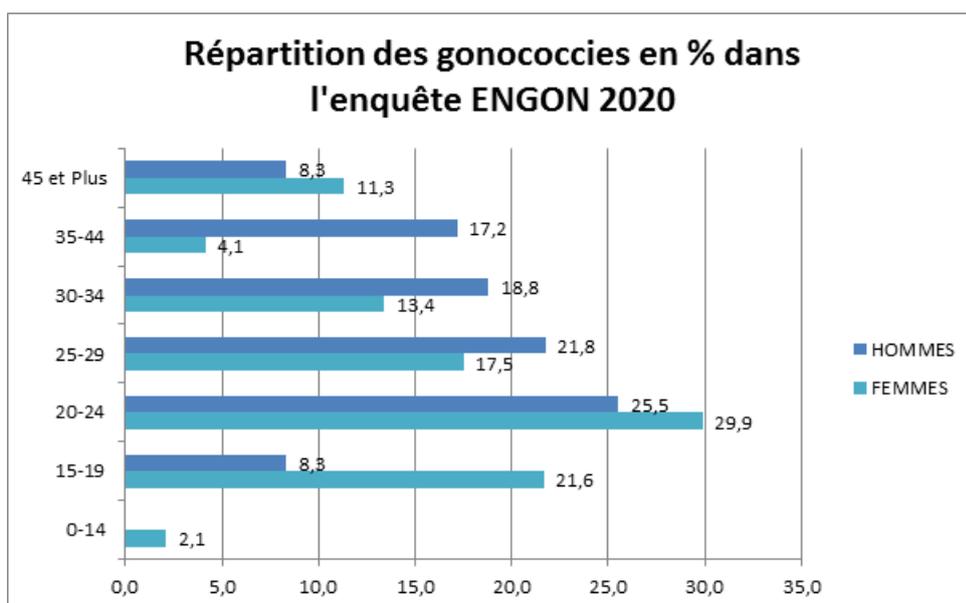


Figure. Répartition des gonococcies en pourcentage selon l'âge et le sexe des patient(e)s de l'enquête ENGON 2020

Parmi les prélèvements répertoriés, 85,9% (426/496) sont issus d'un prélèvement urogénital (282 urètres, 92 prélèvements vaginaux, 46 urines et 6 autres), 11,9% (59/496) sont issus d'un prélèvement extragénital (52 rectaux, 7 pharyngés), 7/496 (1,4%) sont issus d'autre types de prélèvements (5 liquides articulaires, 2 prélèvements oculaires chez des nouveaux-nés) et 4/496 sont d'origine inconnue (0,8%).

Dans cette cohorte de patients, une coinfection avec *C. trachomatis* est fréquemment observée, soit dans 14,9% (74/496) des cas comportant 20 cas de syphilis, 10 infections à *M. genitalium*, 3 infections à *T. vaginalis*, 1 infection à *M. hominis* et 1 infection à *U. parvum*. Un nombre important de patients soit 6% (30/496) était VIH-positif.

La répartition en fonction de la structure de consultation et du type de prescripteur est visualisée dans la figure ci-dessous. Plus d'un tiers des données recueillies proviennent de patient(e)s consultant(e)s en CeGIDD, suivi par les services d'urgences (15%) et de maladies infectieuses.

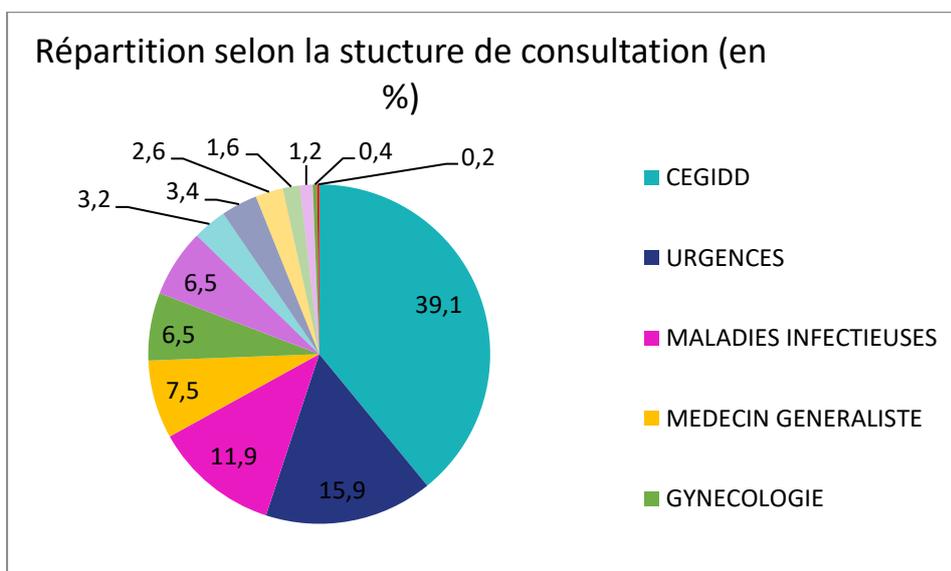


Figure. Répartition des gonococcies en % selon la structure consultée par les patient(e)s de l'enquête ENGON 2020

Le profil des 423 souches associé aux données cliniques est rapporté paragraphe 3.3.4.2 et le séquençage des souches est en cours.

3.2.2.2 Cas de gonococcies invasives expertisées au CNR

Etude des présentations particulières d'anorectites abcédées à gonocoque

Depuis 2017, des présentations très particulières d'anorectites d'emblée abcédées liées à la seule présence de *N. gonorrhoeae* et très difficiles à traiter a été observée à l'Institut de proctologie de Léopold Bellan (GH Paris - St Joseph) en collaboration avec le Pr Alban Lemonnier. Dans certains cas, le recours à la chirurgie s'avère nécessaire. Dans cette cohorte, il a été retrouvé en bactériologie classique et/ou PCR uniquement la présence de gonocoque et l'absence de *C. trachomatis*.

Une cohorte prospective de patients symptomatiques a été constituée depuis janvier 2019 afin de recueillir une collection de souches de gonocoques. En 2020, le CNR a ainsi analysé 9 souches de gonocoques isolées dans des anorectites compliquées chez des patients HSH dont 8 obtenues en subculture. Les souches étaient toutes sensibles à la spectinomycine, gentamicine, au céfixime et à la ceftriaxone. Les CMI à l'azithromycine variaient de 0,125 à 1 mg/L. La résistance aux quinolones et à la tétracycline était observée pour 62% (5/8 souches).

Un séquençage a pu être effectué pour 9 de ces souches permettant d'étudier leur clonalité (figure ci-dessous) et leur contenu en gènes de résistance.

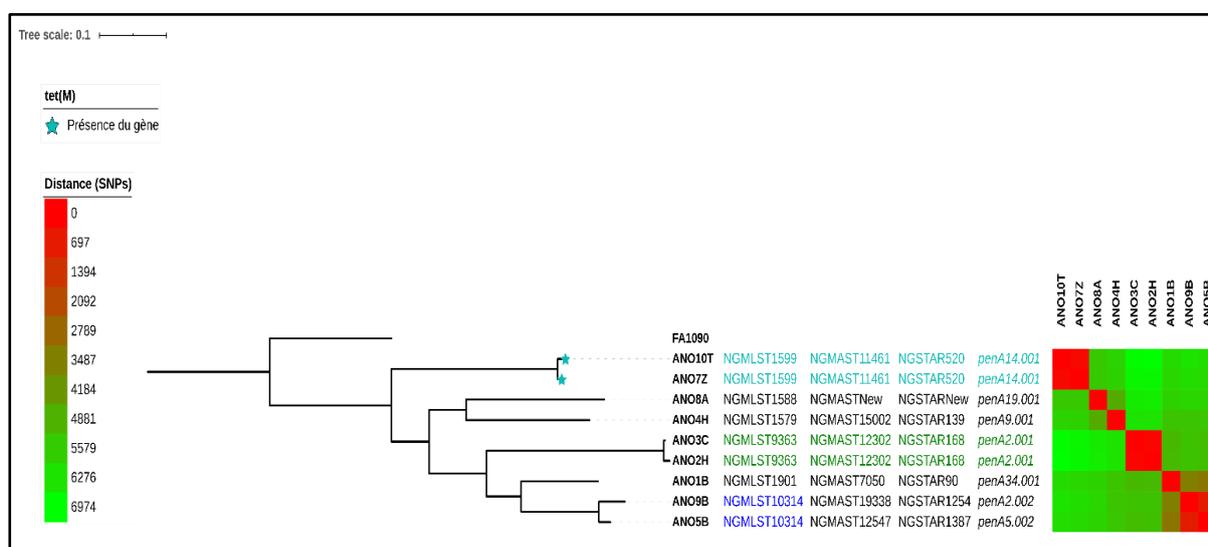


Figure. Arbre phylogénétique des souches responsables d'anorectites abcédées à gonocoque.

Six MLST différents ont été retrouvés dont 3 clusters de 2 isolats portant les MLST1599, de MLST9363 et MLST10314. De manière intéressante, la souche ANO5B de MLST10314, NG-MAST12547 et NGSTAR1387 est très proche (9 SNP d'écart) d'une souche invasive isolée d'une hémoculture d'un patient de 49 ans hospitalisé à La Rochelle dans un contexte d'arthrite de cheville en août 2019 qui portait les mêmes MLST. Elle est également proche (172 SNPs d'écart) d'une souche responsable de 2 kératoconjunctivites décrites toujours dans la région de Bordeaux en 2019 (Mehlen M et al, Clin Microbiol Infect, 2020). Ce rapprochement argue sur le fait que des souches virulentes circulent actuellement sur le territoire et cette virulence pourrait expliquer ce tableau d'anorectite abcédée. Le CNR est en alerte par rapport à la circulation de souches invasives.

Un cas de gonococcémie dans un contexte d'arthrite (Centre hospitalier de Mayotte)

En mars 2020, une souche de gonocoque invasive a été isolée d'une hémoculture chez une patiente homosexuelle âgée de 21 ans dans un contexte de suspicion d'arthrite de l'épaule. La souche était sensible à la ceftriaxone et au céfixime, résistante aux fluoroquinolones et résistante à haut niveau aux tétracyclines. La patiente a été traitée par amoxicilline 2g/j pendant 6 jours, puis par ceftriaxone. Le NGS a mis en évidence la présence de nouveaux ST MLST, NG-MAST et NGSTAR et le MLST le plus proche est le MLST8120, cette souche a plus de 5000 SNP d'écart à celle décrite dans le cadre des anorectites et des 13 souches virulentes isolées en 2019 en France métropolitaine.

3.2.3 Syphilis

Sur la période 2006-2020, le laboratoire associé syphilis a réceptionné 482 sérums et 1939 écouvillons dans le cadre des protocoles d'étude et 6025 échantillons au titre de l'expertise. Santé publique France, qui reçoit toutes les données biologiques, cliniques et comportementales dans le cadre des protocoles, gère la surveillance épidémiologique.

3.2.3.1 Dans le cadre du protocole GENOSYPH

Pour l'année 2020, le CNR a reçu un total de 105 écouvillons provenant de 105 patients (89,5% d'hommes, d'âge moyen 35,4 ans) testés par nPCR du gène *tp47*. La majorité des prélèvements réceptionnés sont des écouvillons d'origine génitale (57,1%) et anale (23%) alors que les écouvillons d'origine buccale ou cutanée sont moins représentés à 10,5 et 9,5%, respectivement (figure ci-dessous). La détection du génome de *T. pallidum* par nPCR dans l'ensemble des écouvillons est de 30,5% (32/105) se répartissant à 21,9% (23/105) d'échantillons positifs dans les écouvillons génitaux, à 3,8% (4/105) pour les écouvillons anaux, 1,9% (2/105) pour les écouvillons buccaux et 2,8% (3/105) pour les écouvillons cutanés.

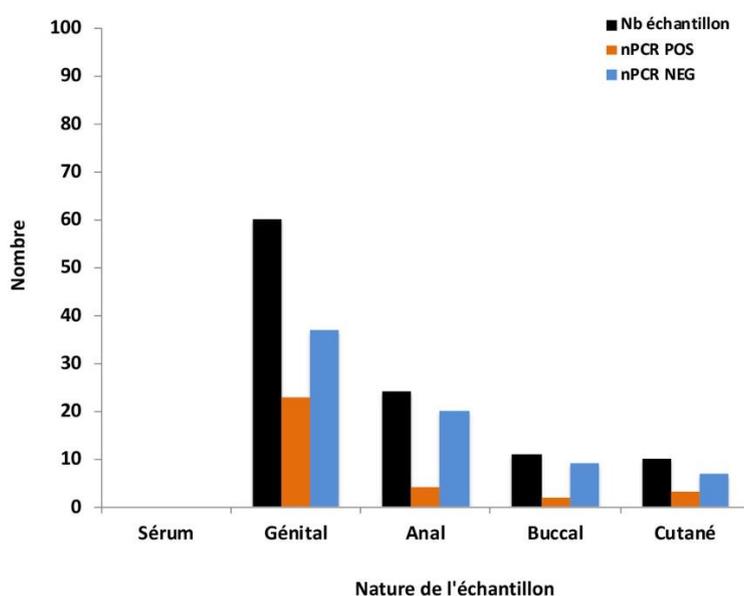


Figure. Répartition de la nature des échantillons et détection du résultat nPCR en 2020.

La population incluse dans l'étude microbiologique de la syphilis et GENOSYPH est en majorité masculine avec un total de 1634 hommes (92,6%) et de 131 femmes (7,4%). Le sexe ratio H/F est de 12,5:1 (figure ci-dessous).

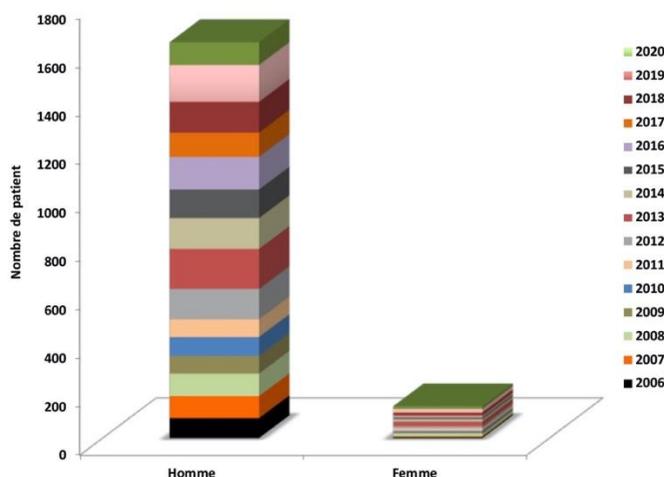


Figure. Répartition du sexe des patients recrutés sur la période 2006-2020.

Les patients se répartissent entre 18 et 80 ans avec une proportion très marquée pour les tranches d'âges de 21 à 50 ans. Les tranches d'âge les plus représentées étant celles des 21-30 et 31-40 ans (figure ci-dessous). Il faut noter cependant que le critère d'exclusion de ces études est un âge inférieur à 18 ans.

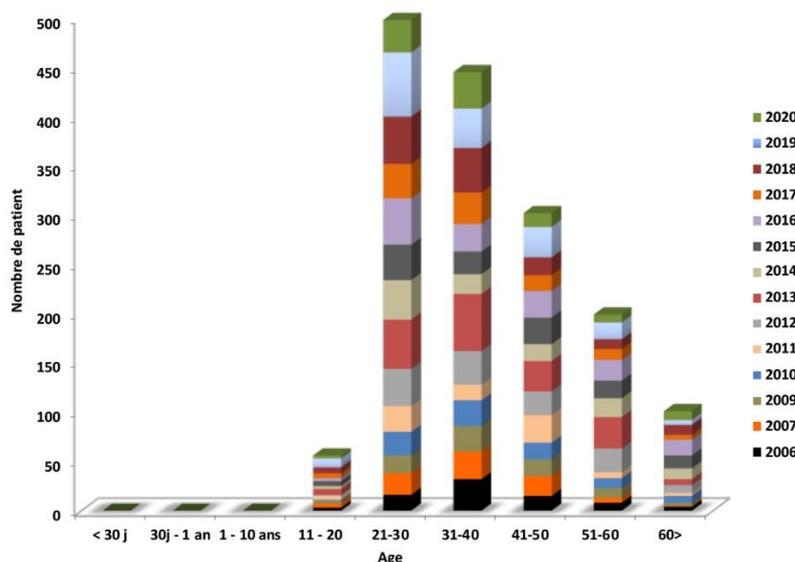


Figure. Répartition en fonction de l'âge des patients sur la période 2006-2020.

A partir de 2011, l'étude GENOSYPH a été concentrée sur la collecte des écouvillons et des sérums. Les écouvillons génitaux sont majoritaires dans les prélèvements de lésions cutané-muqueuses de syphilis primaire et secondaire. Un effort particulier a été demandé aux centres préleveurs pour envoyer également des écouvillons d'origine buccale et anale. Depuis 2013, la proportion d'écouvillons d'origine anale et buccale a progressé pour se stabiliser autour de 15% et 20% pour les écouvillons d'origine anale et buccale, respectivement (figure ci-dessous).

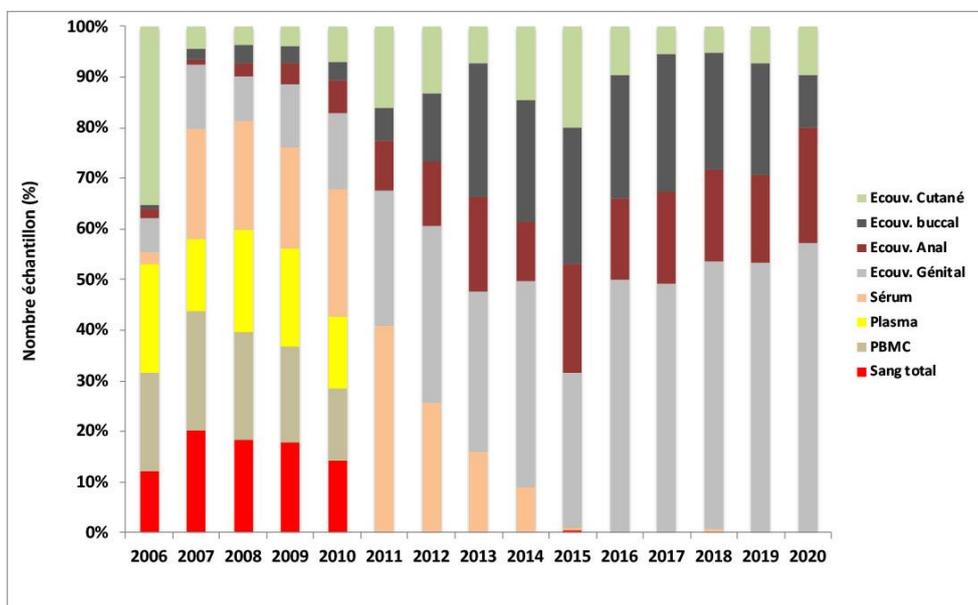


Figure. Répartition du site de prélèvement sur la période 2006-2020.

3.2.3.2 Dans le cadre de l'expertise

Pour l'année 2020, le laboratoire associé syphilis a reçu 1159 échantillons correspondant à 885 patients (54,7% d'hommes) d'âge moyen 45,8 ans. La détection du génome de *T. pallidum* par nPCR du gène *tp47* correspond à 537 analyses dont 7% de résultats positifs. Les expertises sérologiques représentent 1395 analyses dont 50% de résultats positifs, portant à un total de 1932 analyses réalisées pour expertise par le CNR IST en 2020.

Les échantillons reçus pour expertise moléculaire se répartissent comme suit : sérums (1,8%), sang total (5,5%), LCR (45,6%), écouvillons (16,9%), biopsies (4,3%) et autres (0,9%). Les échantillons «autre» correspondent à : humeur aqueuse (1), cytophérèse (1), liquide pleural (1), lavage BA (1), frottis cornée (1).

Les prélèvements périnataux représentent dans leur totalité à 11,8% des échantillons reçus sur l'année. Ils se répartissent en liquide amniotique (0,9%), placenta (9,1%), sang cordon et cordon (6,5%), liquide gastrique, écouvillon et/ou sécrétions nasopharyngées (7,6%). Dans ce cadre, du LCR est prélevé et représente 1,1% de l'ensemble des LCR reçus au CNR.

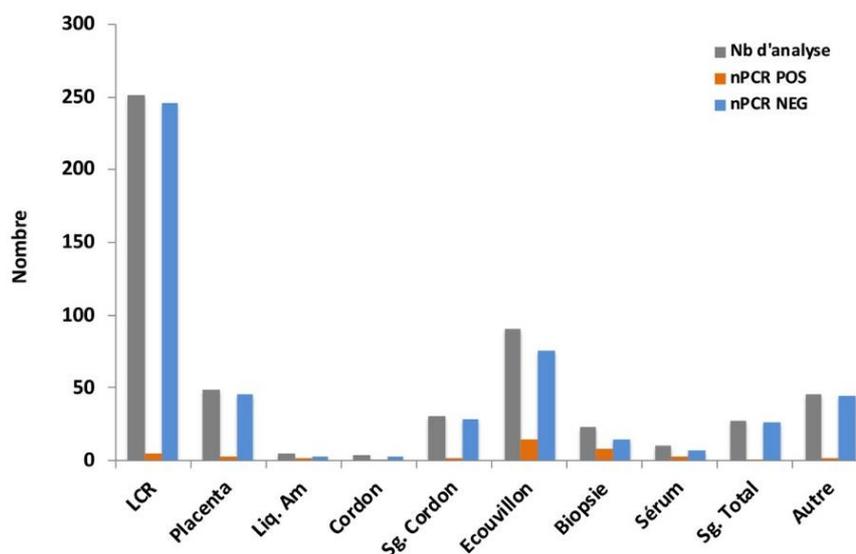


Figure. Répartition de la nature des échantillons reçus pour expertise en 2020 et analysés par nPCR.

Depuis 2012, le CNR répond à toutes demandes d'expertises sérologiques pour analyse en première intention ou pour confirmation de tests pratiqués dans d'autres laboratoires d'analyse biologique. De plus, depuis novembre 2013, le CNR prend en charge la réalisation du TNT VDRL sur les LCR reçus pour expertise et dont la sérologie sanguine pour la syphilis est positive. En effet, de par sa nature manuelle et opérateur dépendant, beaucoup de laboratoires d'analyses médicales ne souhaitant pas dans l'immédiat accréditer ce test et nous demande de le prendre en charge. Par ailleurs, il a été montré dans la littérature que le test non tréponémique RPR ne pouvait pas remplacer le VDRL (Marra *et al*, (2012) Sex Trans Dis 39:453) qui est toujours considéré comme test classant pour le diagnostic de neurosyphilis.

En 2020, nous avons reçus 1395 demandes d'expertise sérologique qui ont été testées par un TNT et par au moins un TT (figure ci-dessous). Ces demandes d'expertise sérologiques représentent 72,2% de l'ensemble des analyses réalisées avec une positivité globale de 50%.

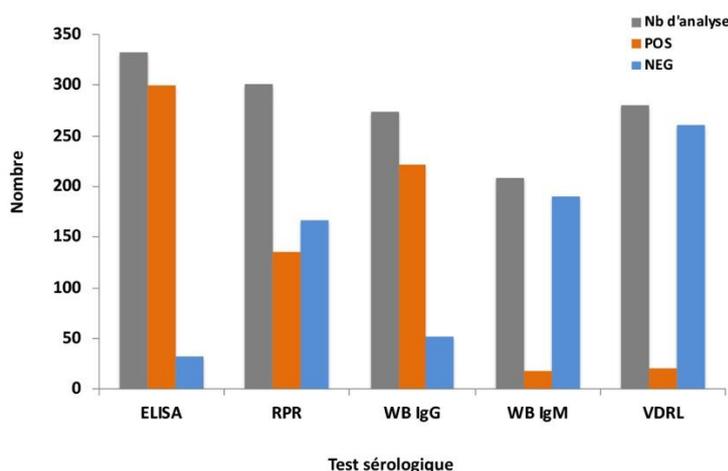


Figure. Répartition de la nature des analyses sérologiques effectuées en 2020.

Depuis sa création, le laboratoire associé syphilis a reçu un nombre croissant d'échantillons pour expertise. Depuis 2013, le CNR a vu le nombre d'expertise augmenter tous les ans avec une progression de 53% en 2014, 22% en 2015, 28% en 2016, de 32% en 2017, de 22% en 2018 de 14% en 2019. En 2020, malgré la crise sanitaire, le nombre total d'échantillon reçu a augmenté de 11% traduisant l'augmentation des envois pour expertise depuis plusieurs années (figure ci-dessous).

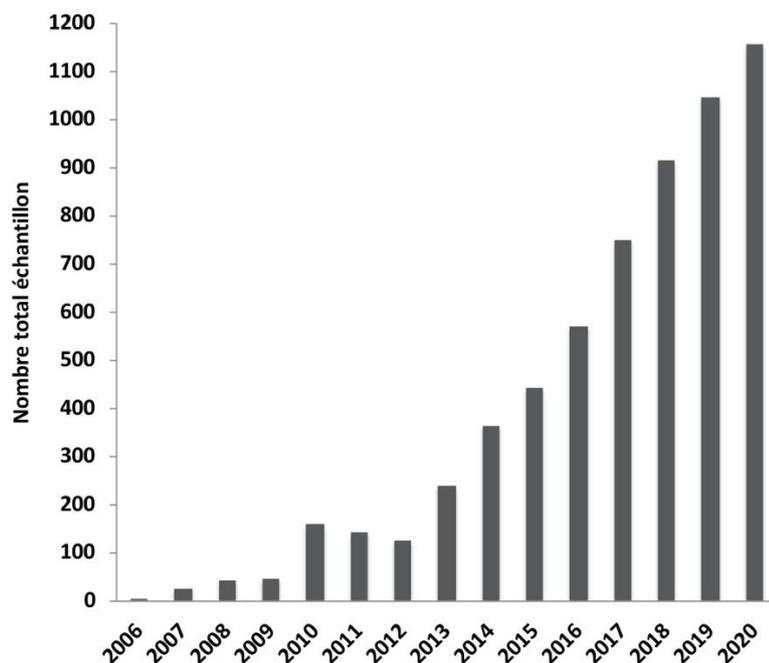


Figure. Echantillons extérieurs répertoriés par le CNR syphilis sur la période 2006-2020.

C'est une population à dominante masculine (figure ci-dessous) avec un total de 3009 hommes (60,4%) et de 1974 femmes (39,6%). Le ratio sexe H/F est de 1,5:1. La tranche d'âge 21-50 ans est majoritaire et représente 45,6% des individus. Les nouveau-nés d'un âge inférieur à 30 j représentent 17% de la population analysée alors que la population âgée de 60 ans et plus représente 18,8% des échantillons envoyés (figure ci-dessous).

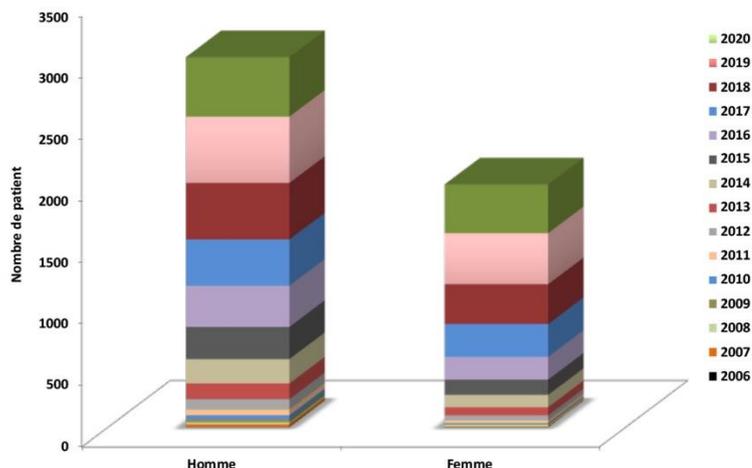


Figure. Répartition du sexe des patients sur la période 2006-2020.

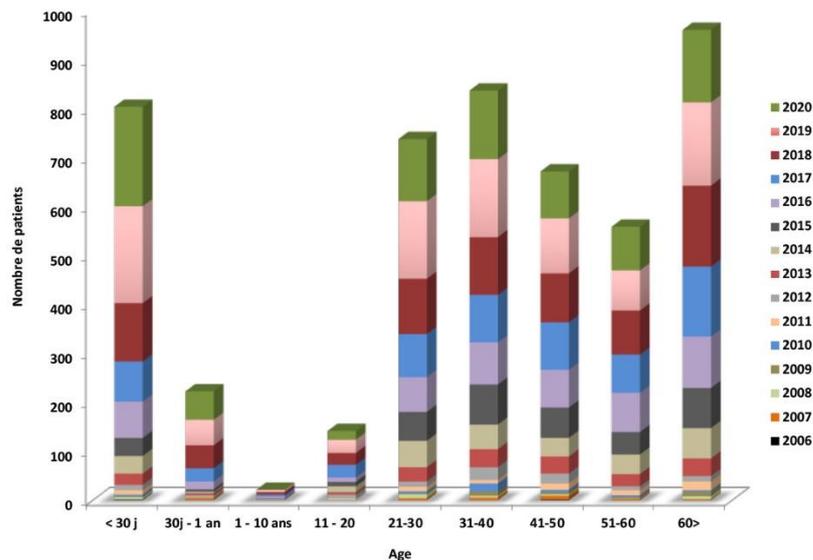


Figure. Répartition en fonction de l'âge des patients sur la période 2006-2020

Il est intéressant de noter l'évolution de la nature des échantillons reçus par le laboratoire associé syphilis sur la période 2006-2020 (figure ci-dessous). L'ensemble des échantillons répertoriés et analysés par le CNR est caractérisé par une grande diversité des sites de prélèvements. Sur la période, les écouvillons et les prélèvements sanguins représentent 12,4% et 31% des échantillons, respectivement. Les biopsies, hors prélèvements périnataux, représentent 12%. Les prélèvements périnataux (liquide amniotique, placenta, cordon) sont assez stables sur la période et représentent 10.3% des prélèvements. Les LCR représentent 31% des échantillons sur la période 2006-2020 en décroissance depuis 2016. En revanche la part des sérums augmente et s'établit à 22% sur la période 2006-2020 et 38% pour l'année 2020.

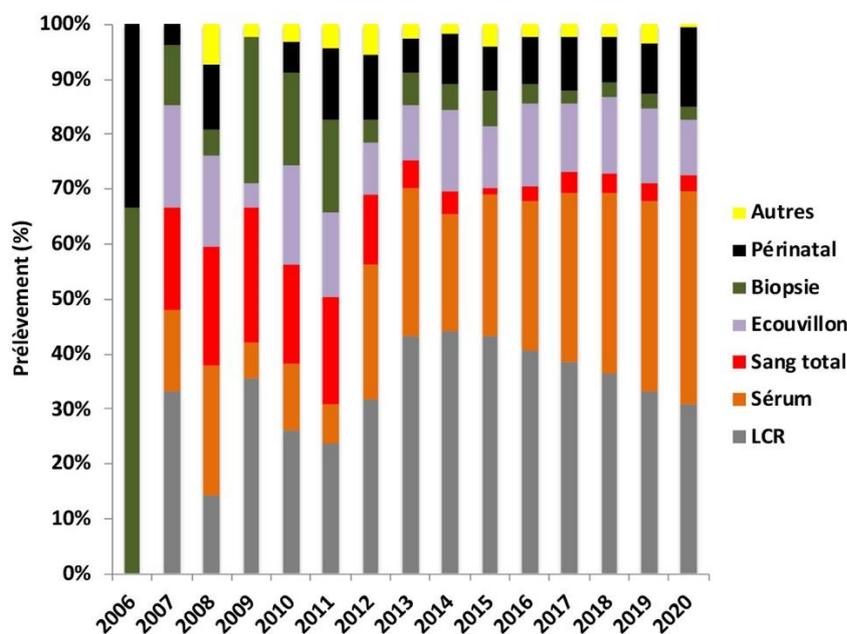


Figure. Répartition de la nature des échantillons reçus par le CNR sur 2006-2020.

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Cette année, les enquêtes de surveillance de la résistance aux antibiotiques pour les mycoplasmes et le gonocoque ont été lancées de façon concomitante.

3.3.1 Surveillance de la résistance de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* aux antibiotiques en France métropolitaine en 2019 (MYCOMET 2019)

Dans les centres participants, du 15 septembre au 15 octobre 2019, les laboratoires cultivant *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* ont collecté les échantillons positifs en culture. Les échantillons ont été conservés à -20°C puis envoyés au CNR via un transporteur mandaté (BioLogistic). La mise en culture a été réalisée dans du milieu Hayflick arginine pour isoler *M. hominis* et dans du milieu Shepard pour isoler *Ureaplasma* spp. Les CMI des souches ayant pu être isolées par culture ont été déterminées avec des plaques à façon Sensititre fabriquées par la société Biocentric (Bruker). Les CMI de la tétracycline, doxycycline, lévofloxacine, moxifloxacine, érythromycine, azithromycine et clindamycine ont ainsi été évaluées.

3.3.1.1 Résultats – Détermination des CMI des antibiotiques vis-à-vis de *M. hominis* et *Ureaplasma* spp.

Un total de 346 échantillons cliniques, issus de 340 patients, positifs à *Ureaplasma* spp. et/ou *M. hominis* ont été collectés en France métropolitaine du 15 septembre au 15 octobre 2019 dans 13 centres de métropole (Voir figure et tableau ci-dessous). Un total de 271 échantillons (265 patients) étaient positifs à *Ureaplasma* spp., 29 échantillons étaient positifs à *M. hominis* et 46 échantillons avaient une coinfection *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*.

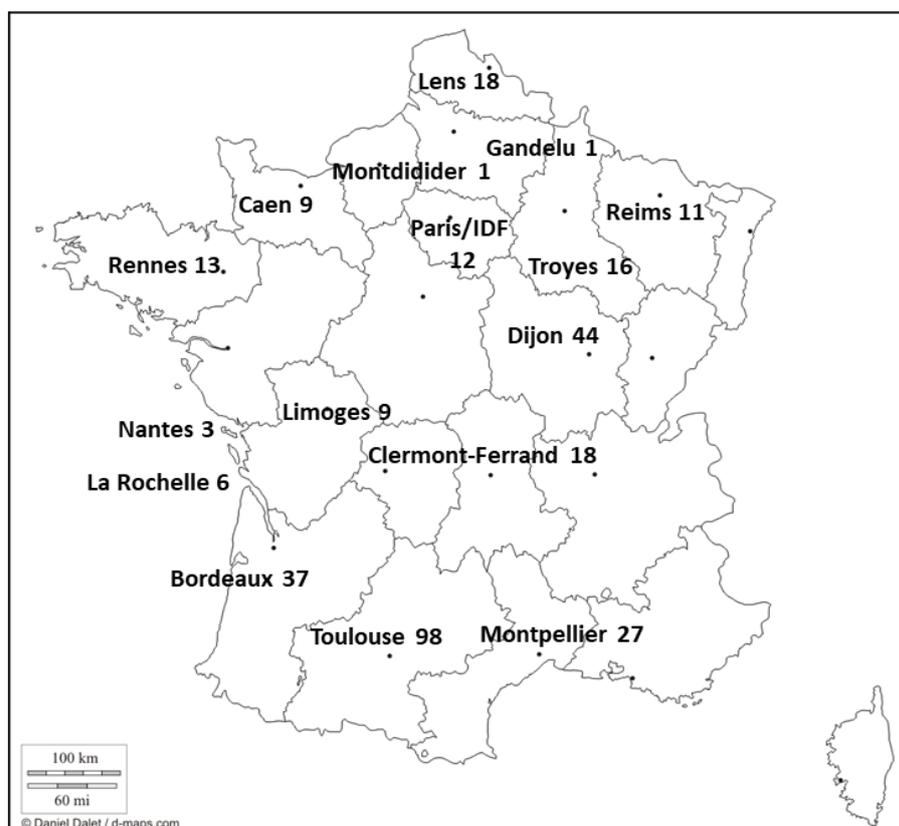


Figure. Répartition géographique des centres participants et nombre d'échantillons reçus par ville.

Tableau. Répartitions des échantillons reçus par centre et des souches cultivées.

Centres participants	Nombre d'échantillons reçus				Nombre de souches cultivées				
	Mh	U spp	Mh et U spp	Total	Mh	Up	Uu	Up et Uu	Total
BORDEAUX	1	30	6	37	7	22	14	0	43
CERBA	13	38	17	68	17	38	3	2	60
CH LENS	1	14	0	15	1	11	2	0	14
CHU Caen	4	5	0	9	1	3	0	0	4
CHU Clermont-Ferrand	0	18	1	19	0	12	4	0	16
CHU DIJON	1	39	5	45	4	21	6	1	32
CHU LIMOGES	1	7	1	9	1	4	2	0	7
CHU MONTPELLIER	3	24	2	29	2	6	1	0	9
CHU NANTES	0	2	1	3	1	3	0	0	4
CHU RENNES	1	12	0	13	1	6	5	0	12
CHU TOULOUSE	0	25	0	25	0	9	3	0	12
CLINIQUE PASTEUR	4	57	12	73	11	19	7	1	38
LOUIS MOURIER	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Total	29	271	46	346	46	154	47	4	251

Mh : *M. hominis* ; U spp : *Ureaplasma spp* ; Up : *U. parvum* ; Uu : *U. urealyticum*

Un total de 251 souches, issues de 221 patients, ont pu être isolées par culture au CNR des IST bactériennes soit 64,0% des échantillons reçus (251/346+46). En 2018, 40,3% des prélèvements reçus avaient permis d'obtenir des souches. Ce meilleur taux est probablement dû aux recommandations de conservation que nous avons faites aux laboratoires entre les deux enquêtes.

3.3.1.2 Souches analysées

Pour la suite de l'analyse, nous avons réalisé un dédoublement afin d'éliminer les souches identiques isolées chez un même patient. De ce fait, nous avons travaillé sur 249 souches.

Tableau. Répartition des 249 souches cultivées par sexe des patients.

Sexe	<i>M. hominis</i>	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>U. parvum et U. urealyticum</i>	Total
Femme	35	92	17	4	148
Homme	11	61	29	0	101
Total	46	153	46	4	249

L'âge moyen des patients était de 33 ans et l'âge médian de 32,8 ans (avec une amplitude de 4 jours à 65 ans). L'âge moyen des femmes était de 31,6 ans et celui des hommes de 34,4 ans ($p < 0.05$)

Tableau. Répartition des natures d'échantillons ayant permis d'obtenir les 249 souches.

Type de prélèvement	<i>M. hominis</i>	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>U. parvum</i> et <i>U. urealyticum</i>	Total
Ech. vaginal	29	72	12	2	115
Sperme	10	55	23	-	88
Endocol	5	14	2	1	22
Urines	1	8	6	1	16
Débris placentaires	1	3	3	-	7
Ech. ORL	-	1	-	-	1
Total	46	153	46	4	249

3.3.1.3 Répartition des CMI pour les isolats cliniques positifs à *M. hominis*

Parmi les 75 échantillons cliniques positifs à *M. hominis*, issus de 75 patients, 46 souches ont pu être isolées par culture et les CMI des antibiotiques déterminées (voir tableau ci-dessous).

Tableau. Répartition des CMI chez *M. hominis*.

Famille antibiotique	Agent antibiotique	Nombre d'isolat en fonction de la CMI (µg/mL)											Nombre (%) de souches résistantes selon CLSI	IC [95%]	
		>0,03	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16			32
Tétracyclines	Tétracycline	-	-	10	20	7	-	-	-	2	3	4	-	15,2% (7/46)	[4,8-25,6]
	Doxycycline	8	23	6	-	2	6	1	-	-	-	-	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofloxacine	-	-	-	2	42	1	-	1	-	-	-	-	2,2% (1/46)	[0,0-6,4]
	Moxifloxacine	-	1	9	36	-	-	-	-	-	-	-	-	0	ND
Macrolides	Clindamycine	-	13	25	8	-	-	-	-	-	-	-	-	0	ND

En rouge : résistant selon les concentrations critiques du CLSI

IC : Intervalle de confiance ; NA : non applicable (pas de concentrations critiques pour les mycoplasmes) ; ND : non déterminé.

Pour *M. hominis*, la prévalence de la résistance phénotypique à la tétracycline était de 15,2% (7/46) en 2019 vs 5% (1/20) en 2018 ($p > 0.05$). La prévalence de la résistance phénotypique à la lévofloxacine était de 2,2% (1/46) en 2019, nous n'avons pas trouvé de souche résistante en 2018. Il n'y avait pas de résistance phénotypique ni à la moxifloxacine ni à la clindamycine en 2019.

3.3.1.4 Répartition des CMI pour les isolats cliniques positifs à *Ureaplasma* spp.

Parmi les 317 échantillons cliniques positifs à *Ureaplasma* spp., issus de 311 patients, 203 souches (153 *U. parvum*, 46 *U. urealyticum* et 4 *U. urealyticum/U. parvum*) ont pu être isolées par culture en milieu liquide et la CMI déterminée. Pour les analyses, les quatre mélanges de *U. parvum* et de *U. urealyticum* ont été exclus. Les tableaux ci-dessous reprennent la répartition des CMI chez chaque espèce.

Tableau. Répartition des CMI chez *Ureaplasma* spp.

Famille antibiotique	Agent antibiotique	Nombre d'isolat en fonction de la CMI (µg/mL)												Nombre (%) de souches résistantes selon le CLSI	IC [95%]
		0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32		
Tétracyclines	Tétracycline	-	-	1	90	58	33	9	5	2	1	-	-	4,0% (8/199)	[1,3-6,8]
	Doxycycline	1	77	73	29	9	6	1	3	-	-	-	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	-	-	-	-	1	88	97	3	9	1	-	-	5,0% (10/199)	[2,0-8,0]
	Moxifloxacine	-	-	-	2	98	86	12	1	-	-	-	-	0	ND
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	-	-	14	88	73	21	3	-	-	0	ND
	Azithromycine	-	-	-	-	2	38	136	21	2	-	-	-	NA	NA

En rouge : résistant selon les concentrations critiques du CLSI

IC : Intervalle de confiance ; NA : non applicable (pas de concentrations critiques pour les mycoplasmes) ; ND : non déterminé.

Tableau. Répartition des CMI chez *U. parvum*.

Famille antibiotique	Agent antibiotique	Nombre d'isolat en fonction de la CMI (µg/mL)												Nombre (%) de souches résistantes selon le CLSI	IC [95%]
		0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32		
Tétracyclines	Tétracycline	-	-	1	90	48	10	1	2	-	1	-	-	2,0% (3/153)	[0,0-4,2]
	Doxycycline	1	76	58	10	4	2	-	2	-	-	-	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	-	-	-	-	1	81	60	2	8	1	-	-	5,9% (9/153)	[2,2-9,6]
	Moxifloxacine	-	-	-	1	74	67	10	1	-	-	-	-	0	ND
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	-	-	14	81	49	9	-	-	-	0	ND
	Azithromycine	-	-	-	-	2	33	112	6	-	-	-	-	NA	NA

En rouge : résistant selon les concentrations critiques du CLSI

IC : Intervalle de confiance ; NA : non applicable (pas de concentrations critiques pour les mycoplasmes) ; ND : non déterminé.

Tableau. Répartition des CMI chez *U. urealyticum*.

Famille antibiotique	Agent antibiotique	Nombre d'isolat en fonction de la CMI (µg/mL)												Nombre (%) de souches résistantes selon le CLSI	IC [95%]
		0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32		
Tétracyclines	Tétracycline	-	-	-	-	10	23	8	3	2	-	-	-	10,9% (5/46)	[1,9-19,8]
	Doxycycline	-	1	15	19	5	4	1	1	-	-	-	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	-	-	-	-	-	7	37	1	1	-	-	-	2,2% (1/46)	[0,0-6,4]
	Moxifloxacine	-	-	-	1	24	19	2	-	-	-	-	-	0	ND
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	-	-	-	7	24	12	3	-	-	0	ND
	Azithromycine	-	-	-	-	-	5	24	15	2	-	-	-	NA	NA

En rouge : résistant selon les concentrations critiques du CLSI

IC : Intervalle de confiance ; NA : non applicable (pas de concentrations critiques pour les mycoplasmes) ; ND : non déterminé.

Pour *Ureaplasma* spp., la prévalence de la résistance phénotypique à la tétracycline en 2019 était de 4,0% (8/199) avec 2,0% (3/153) chez *U. parvum* et 10,9% (5/46) chez *U. urealyticum*. Elle était de 2,7% (3/111) en 2018 ($p > 0,05$).

La résistance phénotypique à la lévofloxacine en 2019 était de 5,0% (10/99) avec 5,9% (9/153) chez *U. parvum* et 2,2% (1/46) chez *U. urealyticum*. Elle était de 5,4% en 2018 ($p>0,05$). Aucune résistance phénotypique à la moxifloxacine et à l'érythromycine n'a été retrouvée.

Les taux de résistance observés chez les hommes et les femmes sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Hormis pour la résistance à la tétracycline, plus fréquente pour les souches de *U. urealyticum* issues des femmes que celles des hommes (29,4% versus 0% chez les hommes), il n'y avait pas de différence de résistance entre les hommes et les femmes voir tableau ci-dessous.

Il est à noter que les souches de *U. urealyticum* étaient plus résistantes à la tétracycline que les souches de *U. parvum* ($p<0,01$). Ce qui n'était pas le cas pour la lévofloxacine ($p=0,3$).

Tableau. Taux de résistance phénotypique en fonction du sexe.

	Femmes	Hommes	p value	Population totale	
Tétracyclines	<i>M. hominis</i>	17,1% (6/35)	9,0% (1/11)	NS	15,2% (7/46)
	<i>U. parvum</i>	1,1% (1/92)	3,3% (2/61)	NS	2,0% (3/153)
	<i>U. urealyticum</i>	29,4% (5/17)	0% (0/29)	<0.05	10,9% (5/46)
	<i>Ureaplasma spp.</i>	5,5% (6/109)	2,2% (2/90)	NS	4% (8/199)
Lévofloxacine	<i>M. hominis</i>	2,9% (1/35)	0% (0/11)	NS	2,2% (1/46)
	<i>U. parvum</i>	7,6% (7/92)	3,3% (2/61)	NS	5,9% (9/153)
	<i>U. urealyticum</i>	0% (0/17)	3,4% (1/29)	NS	2,2% (1/46)
	<i>Ureaplasma spp.</i>	6,4% (7/109)	3,3% (3/90)	NS	5% (10/199)

3.3.1.5 Récapitulatif des CMI₅₀, CMI₉₀ et des taux de résistance pour *M. hominis*, *U. parvum* et *U. urealyticum* en 2019

Tableau. CMI₅₀ et CMI₉₀ des antibiotiques pour les souches de *M. hominis* et *Ureaplasma* spp.

Famille antibiotique	Antibiotique	<i>M. hominis</i>			<i>Ureaplasma</i> spp.			<i>U. parvum</i>			<i>U. urealyticum</i>		
		CMI ₅₀	CMI ₉₀	% résistance [IC 95%]	CMI ₅₀	CMI ₉₀	% résistance [IC 95%]	CMI ₅₀	CMI ₉₀	%résistance [IC 95%]	CMI ₅	CMI ₉₀	% résistance [IC 95%]
Tétracyclines	Tétracycline	0.125	8	15,2 [4,8-25,6]	0.25	0.5	4 [1,3-6,8)	0.125	0.25	2 [0,0-4,2]	0.5	2	10,9 [1,9-19,8]
	Doxycycline	0.03	0.5	NA	0.06	0.125	NA	0.03	0.125	NA	0.125	0.5	NA
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	0.25	0.25	2,2 [0,0-6,4]	1	1	5 [2,0-8,0]	0.5	1	5,9 [2,2-9,6]	1	1	2,2 [0,0-9,6]
	Moxifloxacine	0.125	0.125	0	0.25	0.5	0	0.5	0.5	0	0.25	0.5	0
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	1	4	0	1	2	0	2	4	0
	Azithromycine	-	-	-	1	2	NA	1	1	NA	1	2	NA
	Clindamycine	0.06	0.125	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

IC : intervalle de confiance ; NA : non applicable (pas de concentrations critiques) ; ND : non déterminé.

3.3.1.6 Mécanismes de résistance

Concernant la résistance à la tétracycline, la recherche par PCR du gène *tet(M)* sur l'ensemble des souches a montré que 14 souches de *M. hominis*, 9 souches de *U. parvum* et 5 souches de *U. urealyticum* possédaient le gène *tet(M)* (voir tableau ci-dessous).

L'ensemble des souches ayant une résistance phénotypique pour la tétracycline possédaient le gène *tet(M)*. A l'inverse, nous avons observé que certaines souches possédant le gène *tet(M)* ne présentaient pas de résistance phénotypique à la tétracycline. C'était le cas de 7 souches de *M. hominis* et de 6 souches de *U. parvum*.

Tableau. Comparaison entre les souches possédant le gène *tet(M)* et leurs résultats de CMI de la tétracycline.

N° Souche	Espèce	Sexe	Type de prélèvement	CMI TET	PCR gène <i>tet(M)</i>
MM19-072	<i>M. hominis</i>	M	URINES	16	+
MM19-101	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	8	+
MM19-139	<i>M. hominis</i>	F	ENDOCOL	16	+
MM19-161	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	4	+
MM19-167	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,25	+
MM19-175	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,25	+
MM19-234	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,25	+
MM19-238	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	16	+
MM19-242	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	8	+
MM19-254	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,25	+
MM19-256	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	16	+
MM19-258	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,25	+
MM19-260	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	8	+
MM19-354	<i>M. hominis</i>	M	SPERME	4	+
MM19-150	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	8	+
MM19-028	<i>U. parvum</i>	M	SPERME	2	+
MM19-051	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	1	+
MM19-229	<i>U. parvum</i>	M	VAGIN	2	+
MM19-277	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	0,5	+
MM19-289	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	0,5	+
MM19-302	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	0,5	+
MM19-304	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	0,5	+
MM19-342	<i>U. parvum</i>	M	SPERME	0,5	+
MM19-147	<i>U. urealyticum</i>	F	VAGIN	2	+
MM19-160	<i>U. urealyticum</i>	F	VAGIN	2	+
MM19-172	<i>U. urealyticum</i>	F	VAGIN	2	+
MM19-182	<i>U. urealyticum</i>	F	VAGIN	4	+
MM19-257	<i>U. urealyticum</i>	F	VAGIN	4	+

Les discordances entre la présence du gène *tet(M)* et la sensibilité phénotypique à la tétracycline sont grisées et les CMI des souches résistantes apparaissent en gras.

Concernant la résistance aux fluoroquinolones, nous avons recherché les mutations par PCR/séquençage des QRDRs des gènes *parC/gyrA/gyrB/parE* pour l'ensemble des souches possédant une CMI strictement supérieure à la CMI majoritaire de la lévofloxacinine (soit les souches ayant des CMI de la lévofloxacinine $\geq 0,5$, 1 et 2 pour respectivement *M. hominis*, *U. parvum* et *U. urealyticum*) et de la moxifloxacinine (soit les souches ayant des CMI de la moxifloxacinine ≥ 1 , 1 et 0,5 pour respectivement *M. hominis*, *U. parvum* et *U. urealyticum*). Cela a concerné 2 souches de *M. hominis*, 12 souches de *U. parvum* et 2 souches de *U. urealyticum*. Les mutations retrouvées sont répertoriées dans le tableau ci-dessous. L'ensemble des souches ayant une résistance phénotypique pour la lévofloxacinine possédaient une mutation dans le gène *parC* (S83(80)L, E87(84)K ou K144(134)R). Les souches possédant seulement des mutations dans *GyrA*, *GyrB* ou *ParE* possédaient une CMI sensible à la lévofloxacinine. Ces mutations n'entraînaient donc pas de résistance. Il est à noter que les 11 souches résistantes ont toutes une mutation *ParC*, 9 souches sur 11 en position 83 (tableau ci-dessous).

Tableau. Comparaison entre les souches possédant une ou des mutation(s) dans les QRDRs et leurs résultats de CMI de la lévofloxacinine et la moxifloxacinine.

N° Souche	Espèce	Sexe	Type de prélèvement	CMI LVX	CMI MXF	GyrA	GyrB	ParC	ParE
MM19-042	<i>M. hominis</i>	M	SPERME	0,25	0,125	A131(61)V	ND	WT	WT
MM19-161	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	2	0,125	WT	ND	K144(134)R	WT
MM19-108	<i>U. parvum</i>	M	SPERME	8	2	WT	P502(487)S	S83(80)L	WT
MM19-165	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	2	1	WT	WT	WT	P446(439)S
MM19-180	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	4	1	WT	WT	S83(80)L	WT
MM19-237	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	4	1	WT	WT	S83(80)L	V417(410)T
MM19-239	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	4	1	WT	WT	S83(80)L	WT
MM19-275	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	4	1	WT	E462(446)C	S83(80)L	V417(410)T
MM19-281	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	4	1	WT	WT	S83(80)L	V417(410)T
MM19-291	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	4	1	WT	WT	S83(80)L	WT
MM19-299	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	1	1	WT	WT	WT	WT
MM19-341	<i>U. parvum</i>	F	ENDOCOL	4	1	WT	WT	S83(80)L	WT
MM19-356	<i>U. parvum</i>	M	SPERME	4	1	WT	WT	E87(84)K	WT
MM19-357	<i>U. parvum</i>	F	ENDOCOL	2	0,5	WT	WT	WT	D427(420)E
MM19-066	<i>U. urealyticum</i>	M	URINES	4	1	WT	WT	S83(80)L	ND
MM19-257	<i>U. urealyticum</i>	F	VAGIN	1	1	WT	WT	WT	ND

Les CMI des souches résistantes apparaissent en gras.

3.3.2 Surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine en 2020

3.3.3.1 Surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et fluoroquinolones à Bordeaux

La résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones est étudiée sur l'ensemble échantillons positifs à *M. genitalium* collectés au laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux avec un an d'écart, les résultats étant analysés en juin de chaque année. Nous avons pu inclure les résultats 2019 lors du rapport 2019 puisque le rapport a été rendu en septembre 2020. Les résultats 2020 du CHU de Bordeaux seront inclus dans le rapport 2021.

3.3.3.2 Surveillance de la résistance de de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine (MGMET 2020)

L'objectif était de déterminer la prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine en 2020.

Dans les centres participants, pendant un mois, du 15 septembre au 15 octobre 2020, tous les échantillons positifs à *M. genitalium* (urine, vagin, col, écouillons rectaux et de gorge) ont été envoyés au CNR au moyen d'enveloppes T pré-adressées. Les données concernant les échantillons ont été colligées de façon anonyme sur un fichier Excel comportant le sexe, la date de naissance, la nature de l'échantillon, le service demandeur, la notion de dépistage et de symptômes, le traitement antérieur par macrolides.

Au CNR, les extraits d'ADN des échantillons ont été obtenus avec le kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume sur l'instrument MagNA Pure 96 (Roche Diagnostics). La résistance aux macrolides a été recherchée par PCR en temps réel de type FRET ou par une PCR multiplex commercialisée (MG ResistancePlus, SpeedX) en cas d'absence d'amplification avec la PCR FRET. Les échantillons présentant une bactérie mutée ont été soumis à un séquençage de l'ARNr 23S pour déterminer la nature précise de la mutation. Les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones ont été recherchées par amplification et séquençage de la QRDR (« Quinolone Resistance Determining Region ») du gène *parC*.

Un total de 315 échantillons positifs à *M. genitalium* a été reçu de 21 centres en France métropolitaine.

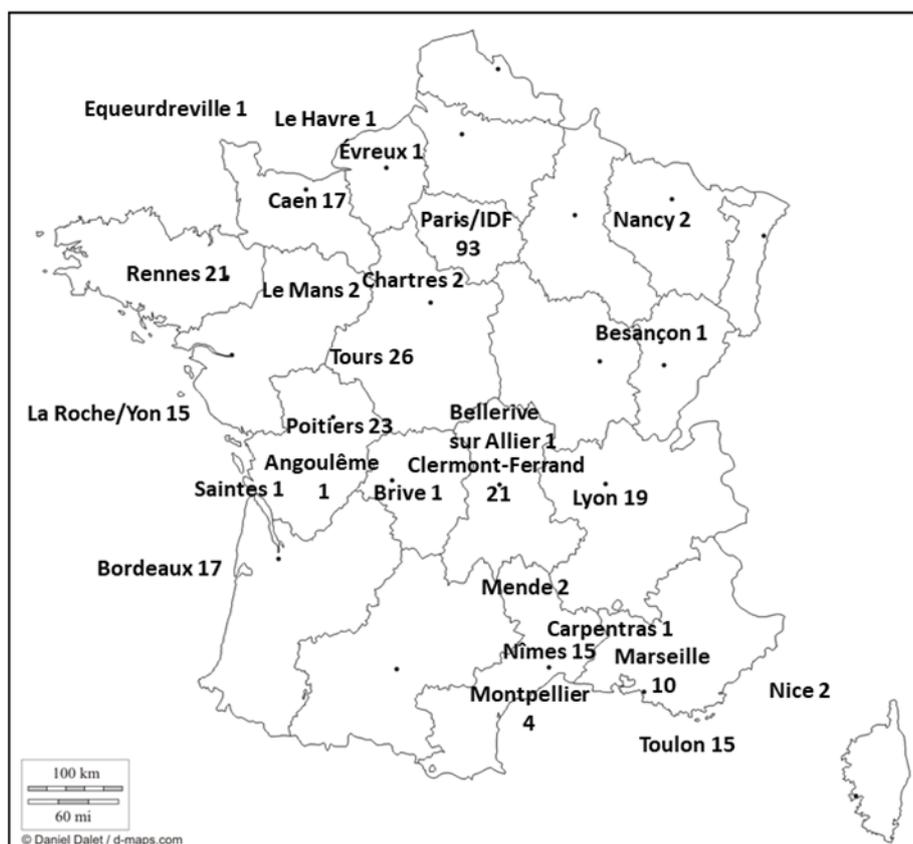


Figure. Répartition géographique des centres participants et nombre d'échantillons reçus par ville.

Population étudiée

Au total, **315 échantillons provenant de 302 patients** ont été collectés entre le 15 septembre et le 15 octobre 2020. La répartition par genre était la suivante : 150 hommes (49,7%), 142 femmes (47%), 1 transsexuel (0,3%) et 9 patients dont le sexe n'était pas renseigné (3%).

Parmi les échantillons féminins, 83,8% (119/142) étaient des écouillons cervico-vaginaux, 11,3% (16/142) des premiers jets d'urine et 4,9% (7/142) des échantillons d'endomètre. Les échantillons masculins comprenaient 58%

(87/150) d'urine de premier jet, 34,6% (52/150) d'échantillons anorectaux, 4% (6/150) d'écouvillonnage urétraux, 2,7% (4/150) d'écouvillonnage de gorge et 0,7% (1/150) de prélèvements génitaux. Le site de prélèvement du patient transsexuel était le rectum, quant aux 9 patients pour lesquels le sexe était inconnu, 55,6% (5/9) d'entre eux avaient eu un prélèvement rectal et 44,4% (4/9) un prélèvement urinaire.

L'âge moyen des patients était de 31,6 ans et l'âge médian était de 29,2 ans (avec une amplitude de 15 à 67 ans). Les hommes étaient statistiquement plus âgés que les femmes, respectivement 36,0 ans vs 26,9 ans ($p < 0,001$; test de Student). Nous n'avions pas d'information concernant l'âge pour trois patients, six patientes et neuf patients pour lesquels le sexe n'était pas renseigné. La classe d'âge la plus représentée sur l'ensemble de la population était la classe 21-25 ans (23,9%) suivi de la classe 26-30 ans (22,2%) ; 31,4% des femmes avaient entre 21 et 25 ans et 20,4 % des hommes étaient âgés de 26 à 30 ans.

Les prescriptions émanaient à 32,5% (98/302) de CeGIDD, 17,9% (54/302) de services de gynécologie, 16,2% (49/302) de services de maladies infectieuses et tropicales (SMIT), 4,6% (14/302) de services d'urgences, 4,3% (13/302) d'établissements pénitentiaires, 3% (9/302) de cabinets de médecine générale, 1,3% (4/302) d'orthogénie, 1,3% (4/302) de services de biologie de la reproduction, et 1% (3/302) d'obstétrique. Enfin, 1,7% des prélèvements étaient issus d'autres types de services (5/302) et l'information était inconnue pour 16,2% (49/302).

Parmi la population étudiée, les dépistages systématiques ont été le motif de consultation pour 21,9% des patients (66/302). Les plaintes de symptômes génitaux représentaient aussi 20,2% des patients (61/302), les interruptions volontaires de grossesse 3,6% (11/302) les prises de risques sexuels antérieures 2,6% (8/302), les patients présentant des symptômes autres que génitaux 2,6% (8/302), un contrôle après traitement 0,7% (2/302), présence d'une IST chez le partenaire 0,3% (1/302), consultation de médecine légale suite à un viol ou une agression 0,3% (1/302) et autres motifs 1,3% (4/302). Pour 46,4% des patients, la raison du dépistage était non renseignée (140/302).

Parmi les patients ayant accepté de renseigner leur orientation sexuelle, 59,5% (44/74) déclaraient avoir des pratiques hétérosexuelles. Sur les 33 hommes ayant déclaré leurs pratiques, 87,9% (29/33) étaient des HSH. À noter que 75,5 % (228/302) des patients avaient des pratiques inconnues.

Enfin parmi les patients pour lesquels une recherche de *C. trachomatis* a été faite, 11,8% étaient positifs (35/296). La prévalence de la coinfection *M. genitalium* et *C. trachomatis* était de 16,9% chez les femmes (24/142) vs 6,9% chez les hommes (10/144) ($p < 0,05$; test du Chi²).

En ce qui concerne *N. gonorrhoeae*, 5,1% des patients testés (15/295) étaient positifs. La prévalence de la coinfection *M. genitalium* et *N. gonorrhoeae* était de 4,9% chez les femmes et chez les hommes (7/142 vs 7/143) (NS). Le patient transsexuel était aussi infecté par *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*.

Parmi les patients pour lesquels le statut VIH était connu, une séronégativité était notée pour 81,2% (138/170) des patients, tandis que 18,8% (32/170) d'entre eux était séropositifs au VIH. Le statut sérologique au VIH était inconnu pour 43,7% (132/302) des patients. Une différence statistiquement significative était à noter entre les hommes et les femmes ; en effet, 25,9% des hommes (28/108) pour lesquels nous avons le statut VIH étaient positifs vs 5,8% des femmes (3/52) ($p = 0,002$; test de Chi²).

Prévalence de la résistance aux macrolides

Les échantillons positifs à *M. genitalium* ont été soumis à une PCR en temps réel pour rechercher les mutations associées à la résistance aux macrolides.

Chez les femmes, la sensibilité de la détection de la résistance aux macrolides était de 100,0% (7/7) pour les biopsies d'endomètre, 84,2% (101/120) dans les prélèvements cervico-vaginaux, 62,5% (10/16) dans les urines. Chez les hommes, la sensibilité de la détection de la résistance aux macrolides était de 88,5% (77/87) dans les urines, 83,3% (5/6) pour les prélèvements urétraux, 61,5% (32/52) pour les anus et 50,0% (2/4) dans les gorges.

Aucune amplification du gène de l'ARNr 23S n'a pu être obtenue chez 19,8 % (60/302) des patients.

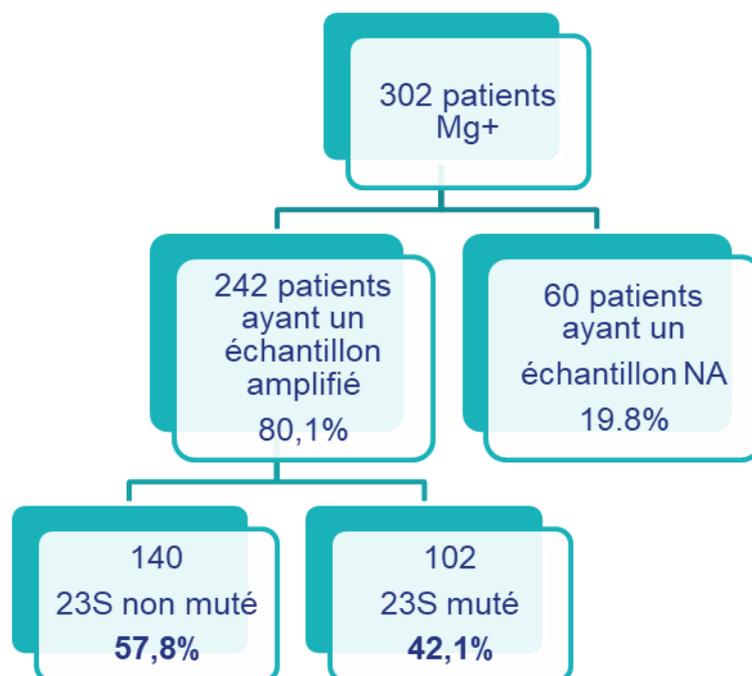


Figure. Analyse de la résistance aux macrolides des patients positifs à *M. genitalium*. NA : non amplifié.

Parmi les 241 patients pour lesquels une amplification a été obtenue, 5,8 % (140/241) étaient sensibles aux macrolides tandis que **42,1% (102/241) d'entre eux étaient résistants aux macrolides.**

Parmi les 102 patients présentant une mutation associée à la résistance, **les mutations A2058G et A2059G (numérotation *E. coli*) étaient les plus fréquentes** dans 69,6% (71/102) des cas (48 A2059G ; 21 A2058G ; 1 A2058G/A2059G ; 1 A2059G/T2081C), suivi des substitutions A2058T dans 13,7% (14/102) des cas, A2062T dans 2% (2/102) des cas. Les substitutions suivantes ont été retrouvées une fois et représente moins de 1% des cas A2058C, A2058T, A2059G/T2081C et A2059T. Dans 11,8% (12/102) des cas, la position exacte de la mutation n'a pas pu être déterminée.

Aucune différence statistiquement significative n'apparaissait entre le taux de résistance aux macrolides dans les CeGIDD 48,1% (38/79), le secteur privé 42,4% (14/33), les centres hospitaliers 42% (50/119) ; ($p > 0,05$; test du Chi2).

La prévalence de la résistance aux macrolides était de 60,2% chez les hommes (71/118) vs 22,2% chez les femmes (26/117) ($p < 0,001$; test du Chi2). En ce qui concerne les hommes, la prévalence de la résistance était de 75,8% (25/33) sur les prélèvements anaux vs 54,1% (46/85) pour les autres sites de prélèvement ($p < 0,05$; test du Chi2). Aucune résistance n'a été retrouvée chez les femmes sur les prélèvements d'endomètre ou d'endocol.

Il n'y avait pas de différence significative de la résistance aux macrolides chez les patients d'Ile de France (33/73=45,2%) vs les patients de métropole hors Ile de France (68/168=40,5%), ($p = 0,4$; test du Chi2).

Les pratiques sexuelles des patients n'étaient connues que pour soixante-quatorze d'entre eux. **Parmi les HSH, 72,7% (16/22) étaient résistants aux macrolides vs 18,4% (7/38) dans la population hétérosexuelle** ($p < 0,001$; test du Chi2). Un meilleur recueil des données aurait pu donner plus de robustesse à cette significativité.

La résistance aux macrolides chez les hommes VIH-négatif était de 61,8% (42/68) versus 85,0% (17/20) chez les patients VIH-positif ($p = 0,051$; test du Chi2).

Tableau. Prévalence de la résistance aux macrolides par centre participant.

Centre	Type de centre	Nb de prélèvements	Nb de patients	Nb (%) de patients avec résistance aux macrolides*	Nb (%) de patients avec sensibilité aux macrolides*	Nb (%) de patients avec ARNr 23S non amplifié
BIORYLIS	Privé	15	14	3 (25)	9 (75)	2 (14)
CERBA	Privé	31	30	11 (52)	10 (48)	9 (30)
CH TOULON	CH	15	15	13 (93)	1 (7)	1 (7)
CH VERSAILLES	CH	16	16	6 (43)	8 (57)	2 (12)
APHM MARSEILLE	CHU	9	9	2 (22)	7 (78)	0
APHP A. BECLERE	CHU	13	13	3 (23)	10 (74)	0
APHP A. PARE	CHU	1	1	0	0	1(100)
APHP COCHIN	CHU	27	22	9 (56)	7 (44)	6 (27)
APHP L. MOURIER	CHU	14	13	5 (42)	7 (58)	1 (8)
APHP SAINT-LOUIS	CHU	11	11	5 (50)	5 (50)	1 (9)
CHU BESANCON	CHU	1	1	1 (100)	0	0
CHU BORDEAUX	CHU	17	15	4 (27)	11 (73)	0
CHU CAEN	CHU	16	15	3 (30)	7 (70)	5 (33)
CHU CLERMONT FERRAND	CHU	20	20	7 (44)	9 (56)	4 (20)
CHU LYON	CHU	18	18	3 (33)	6 (66)	9 (50)
CHU MONTPELLIER	CHU	4	4	2 (50)	2 (50)	0
CHU NANCY	CHU	2	2	0	2 (100)	0
CHU NIMES	CHU	15	14	7 (64)	4 (36)	3 (21)
CHU POITIERS	CHU	23	23	7 (44)	9 (56)	7 (30)
CHU RENNES	CHU	20	20	6 (40)	9 (60)	5 (25)
CHU TOURS	CHU	26	26	5 (28)	13 (72)	8 (31)
21		315	302	102 (42.1)	140 (57.8)	60(19.8)

En conclusion, la prévalence de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* a atteint 42,1 %, valeur élevée pouvant paraître en hausse par rapport à 2019 où nous rapportons une prévalence à 34,5 %. Cependant si nous comparons les résultats en laboratoires constants, c'est-à-dire les treize qui ont participé les trois années, nous obtenons un **taux de résistance aux macrolides de 33,13% en 2018, 34,76% en 2019 et 36,36% en 2020. Cette hausse n'est pas significative (p>0.05).**

Prévalence de la résistance aux fluoroquinolones (résultats préliminaires)

Les échantillons positifs à *M. genitalium* ont été soumis à une PCR en point final ciblant le gène *parC*, suivie d'un séquençage pour rechercher les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones.

Parmi les 188 échantillons déjà analysés par séquençage du gène *parC*, 78,2% (147/188) étaient sauvages tandis que 21,8% (41/188) présentaient une mutation dans la QRDR.

Tableau. Description des mutations de la protéine ParC.

Mutation de la protéine ParC	Nombre d'échantillons porteurs de la mutation	Nombre de patients porteurs de la mutation	Données de la littérature concernant la résistance aux fluoroquinolones
Ser83(80)Ile	27	25	« Hotspot » associé à la résistance aux fluoroquinolones
Asp87(84)Asn	1	1	« Hotspot » associé à la résistance aux fluoroquinolones
Asp87(84)Tyr	3	3	« Hotspot » associé à la résistance aux fluoroquinolones
His80(77)Arg	1	1	Non décrite dans la littérature, association à la résistance non déterminée.
His80(77)Asp	1	1	Non décrite dans la littérature, association à la résistance non déterminée.
Ser83(80)Asn	3	3	Décrite récemment comme non associée à la résistance à la moxifloxacine chez <i>M. genitalium</i>
Ser95(92)Asn	1	1	Décrite dans les études MYCOMET19 et DROM18 du CNR, association à la résistance non déterminée.
Gly107(104)Asp	1	1	Non décrite dans la littérature, association à la résistance non déterminée.
Total général	38	36	

D'après les connaissances actuelles, seules les substitutions d'acides aminés en position 83 et 87, à l'exception de Ser83Asn, sont associées à une augmentation de la CMI de la moxifloxacine et à un échec thérapeutique. De fait, la proportion de patients déjà testés ayant un échantillon contenant une souche mutée en *parC* aux fluoroquinolones était de **21,5% (39/181)** et la **prévalence de la résistance aux fluoroquinolones chez les patients déjà testés en France métropolitaine en 2020** de 16% (29/181).

Compte-tenu de la crise sanitaire COVID-19 et de la faible résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolone en outre-mer, nous n'avons renouvelé en 2020 l'enquête dans les DROM. Cette enquête sera reprise en 2021.

3.3.3 Surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* en France

3.3.3.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération en 2020 (ENGON 2020)

Le CNR expertise gonocoque réalise une surveillance reposant sur des enquêtes appelées ENGON qui relie les informations cliniques aux collections de souches recueillies avec une analyse phénotype/génotype.

Les données de résistance en 2020 reposent sur un total de 496 informations cliniques et 447 souches collectées provenant de 42 centres dont 423 cultivables qui ont pu être analysées dans notre laboratoire. La période de recueil de l'enquête ENGON 2019 s'étendait du 1 septembre au 31 décembre 2020.

Parmi les 423 souches investiguées, la production de bêta-lactamase a été observée pour 59/423 souches (14%). La détermination des CMI de 8 antibiotiques (céfixime, ceftriaxone, tétracycline, ciprofloxacine, azithromycine, cefoxitine, spectinomycine, gentamicine) a été effectuée par la technique de E-test (Biomérieux/i2A, France). Les résultats ont été compilés dans le tableau ci-dessous.

Tableau. Sensibilité aux antibiotiques des 423 souches de gonocoques isolées en 2020

Antibiotiques	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Céfixime	422/423 (99,8%)	-	1/423 (0,2%)
Ceftriaxone	423/423 (100%)	-	0/423 (0%)
Tétracycline	41/423 (9,7%)	111/423 (26,2%)	271/423 (64,1%) ^a

Ciprofloxacine	170/423 (40,2%)	0	253/423 (59,8%) ^b
Gentamicine	423/423 (100%)		0
Spectinomycine	423/423 (100%)		0
Azithromycine ^c	-	-	40/423 (9,5%) ^d

^a La résistance de haut niveau aux cyclines ($\geq 16\mu\text{g/ml}$) est de 32,1% (87/271)

^b La résistance de haut niveau aux fluoroquinolones ($\geq 1\mu\text{g/ml}$) est de 92,1% (233/253)

^c Disparition des breakpoints pour l'azithromycine selon les recommandations de l'EUCAST avec conservation d'un ECoff à 1mg/L. Afin de comparer avec les études précédentes, les souches ayant une CMI strictement supérieure à 1 mg/L seront considérées résistantes, les valeurs inférieures restent sans interprétation.

^d 3 souches ont une résistance de haut niveau avec une CMI $>256\mu\text{g/ml}$.

Parmi les souches isolées lors de l'enquête ENGON 2020, toutes sont sensibles à la ceftriaxone et 3 souches (0,7%) présentent une CMI de la ceftriaxone supérieure à l'Ecoff (0,032 mg/L). Une seule souche est résistante au céfixime (0,2%). La répartition des CMI du céfixime et de la ceftriaxone est objectivée dans la figure ci-dessous. Ces données indiquent un contrôle de propagation de souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération en France, une légère diminution de souches dont la CMI est supérieure à l'Ecoff (1,3% en 2019), signifiant la circulation de moins d'isolats avec des PLP remaniées.

Nous avons testé la céfoxitine qui est proposée dans les recommandations pour le traitement des infections génitales hautes (CNGOF et SPILF 2018). Les CMI de la céfoxitine pour le gonocoque sont beaucoup plus élevées que celles du céfixime et de la ceftriaxone.

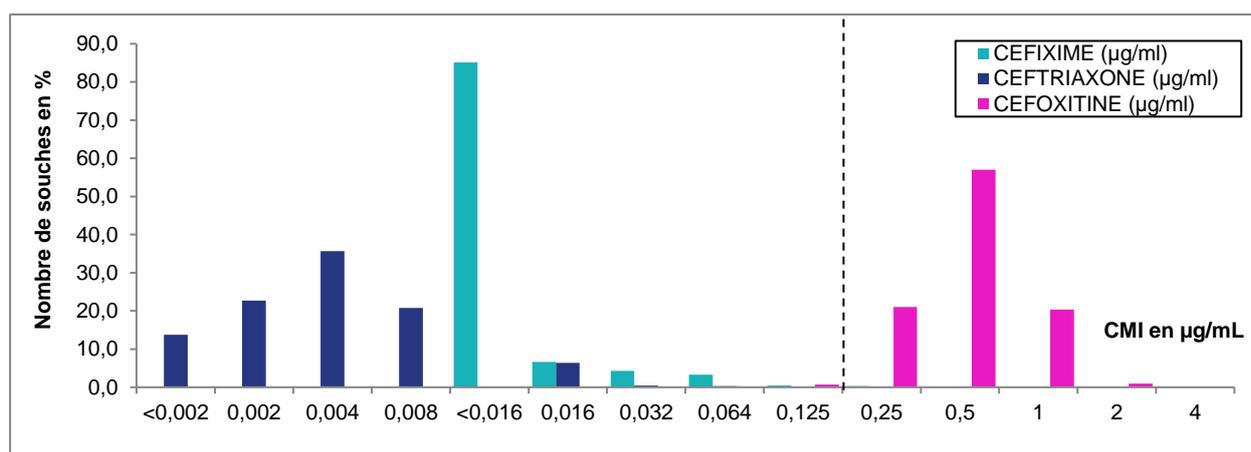


Figure. Répartition des CMI du céfixime, de la ceftriaxone et de la céfoxitine pour les 423 souches de gonocoques isolées dans l'enquête ENGON 2020. La barre pointillée représente la concentration critique du céfixime et du ceftriaxone.

Pour les autres molécules, la répartition des CMI est visualisée dans la figure ci-dessous. On observe une stabilisation des résistances aux fluoroquinolones (59,8% vs 60,1% en 2019) et aux tétracycline (64,1 % vs 65,2% en 2019), avec une diminution des souches à haut niveau de résistance (32,1% vs 38,4% en 2019). Aucune résistance à la gentamicine ou à la spectinomycine n'a été observée.

La répartition des CMI de l'azithromycine est comprise entre 0,016 et $>256\mu\text{g/ml}$; 9,5% (40/423) des souches pourraient être considérées comme résistantes à l'azithromycine si on se réfère aux années précédentes car leur CMI est strictement supérieure à l'Ecoff de 1 mg/L proposé par EUCAST pour l'azithromycine.

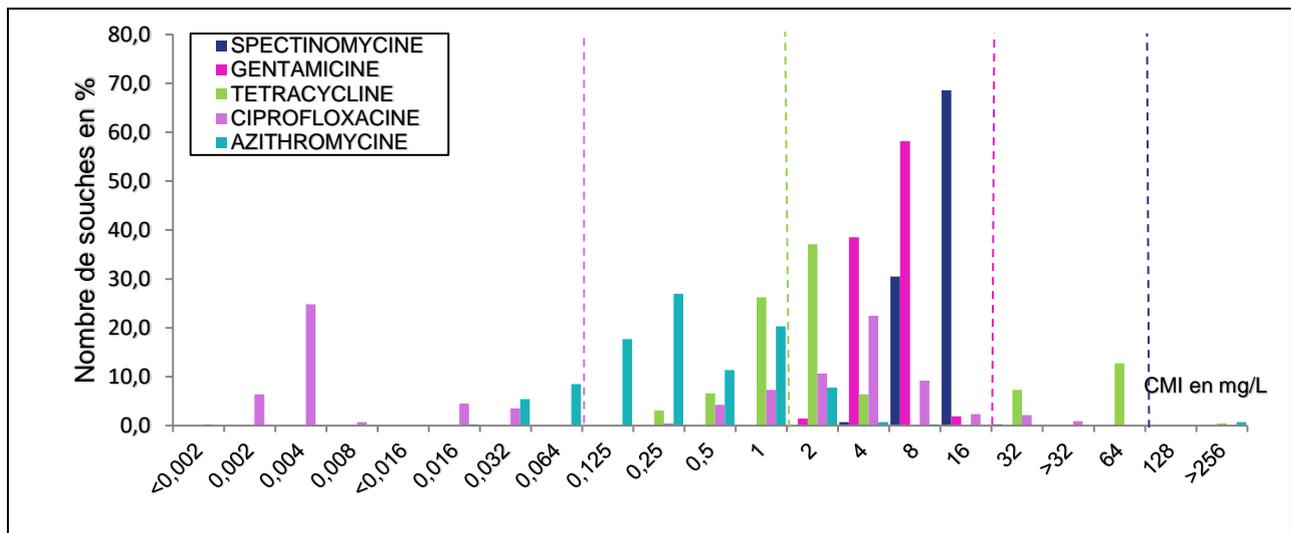


Figure. Répartition des CMI de l'azithromycine, la gentamicine, la spectinomycine, la ciprofloxacine et la tétracycline des 423 gonocoques de l'enquête ENGON 2020. Les barres pointillées représentent les concentrations critiques.

Le séquençage NGS des génomes des 423 souches de l'enquête ENGON 2020 est en cours et l'ensemble des résultats des 3 enquêtes 2018-2019-2020 sera regroupé pour publication.

3.3.3.2 Surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* en France métropolitaine (enquête ENGON 2019) : analyse NGS comparative

En 2020, le CNR a réalisé le séquençage complet de 373 souches cliniques de *N. gonorrhoeae* cultivées de l'enquête 2019. Ces souches ont été explorées pour leur clonalité par l'extraction du MLST et du NG-MAST in silico. Les isolats étaient séparés en 52 types de MLST référencés avec peu de clustérisation, les ST7822 (n=40; 10,7%), le ST1583 (n=34; 9,1%), le ST1599 (n=32, 8,6%) et le ST9363 (n=28, 7,5%) étant les plus fréquents. En comparaison avec l'enquête de l'année précédente portant sur les souches de 2018, on retrouve les deux ST qui étaient majoritaires le MLST1583 et MLST9363, respectivement 12,7% et 10,8% en 2018 (cf figure ci-dessous).

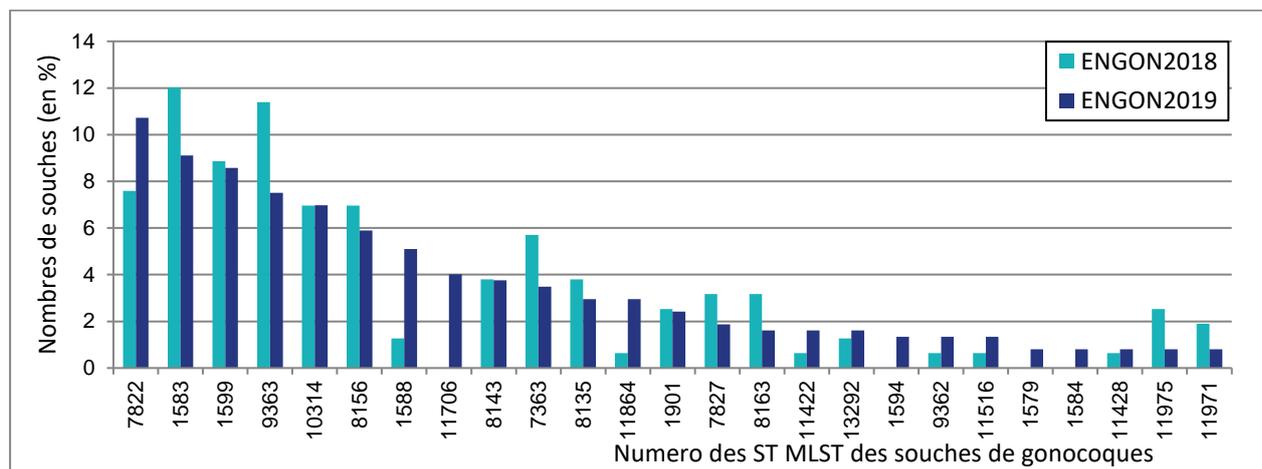


Figure. Principaux MLST retrouvés pour les souches des enquêtes EnGON 2018 et 2019.

Concernant les NG-MAST, les souches présentaient une diversité importante avec 93 numéros NG-MAST référencés, 29 non déterminés et 50 nouveaux ST. Le ST12547 était le plus fréquent [n=18 ; 4,8% - stable par rapport à 2018 (5,1%)] avec le ST14494 (n=18 ; 4,8%), suivi du ST11461 (n=17 ; 4,6%, stable depuis 2017 (4,5%)) et du ST17972 (n=17 ; 4,6%). Le NG-MAST1407 (clone international multirésistant) n'était pas retrouvé et une partie des ST reste non répertoriée (nouveau ST ou non déterminé) dans les bases de données (n=79 ; 21,2%). Les 373 génomes séquencés ont permis de dresser l'arbre phylogénétique ci-dessous.

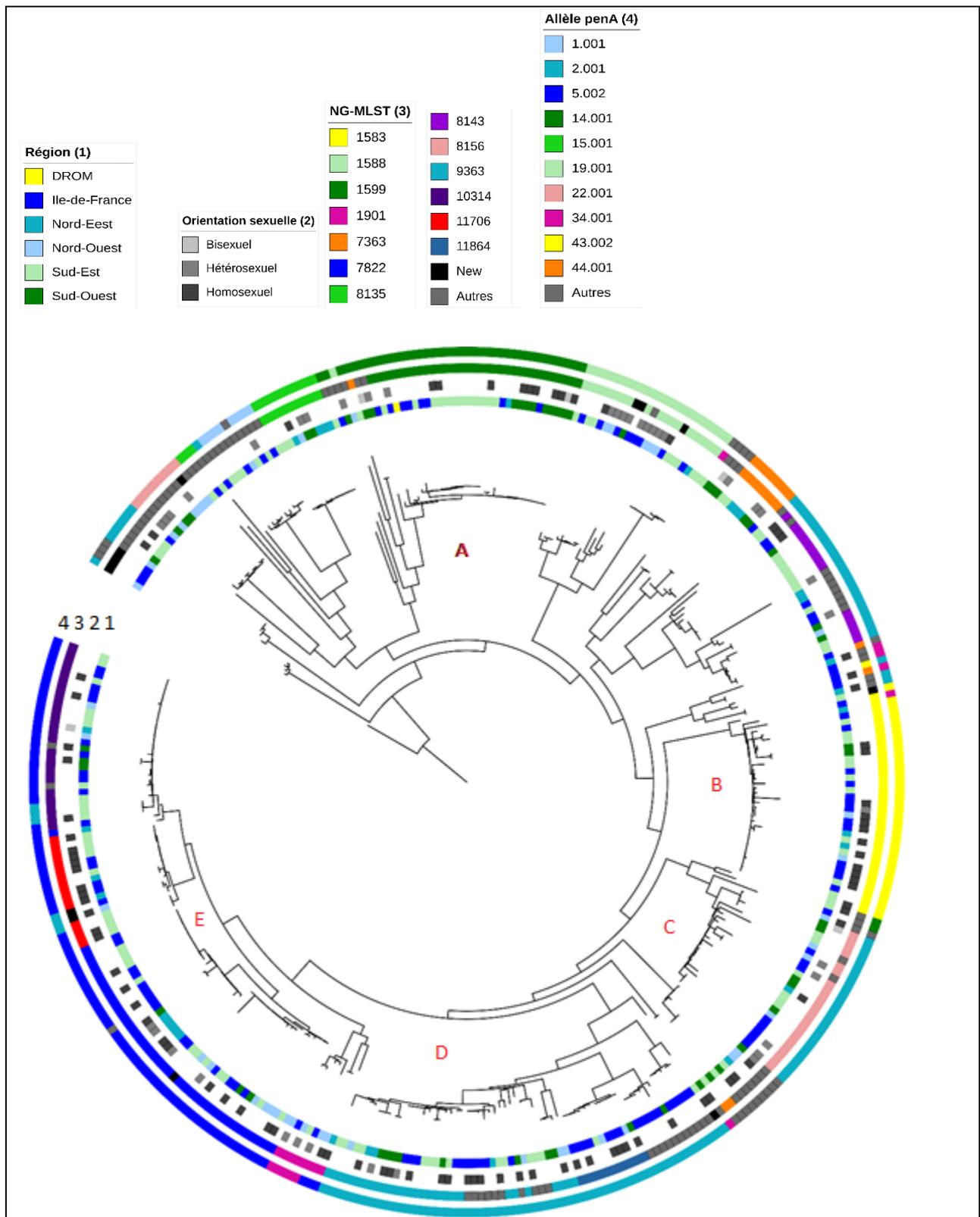


Figure 1. Arbre phylogénétique généré par le séquençage des 373 souches ENGON2019. Les cercles allant de l'intérieur vers l'extérieur décrivent la région (cercle 1 interne), l'orientation sexuelle (cercle 2), le MLST (cercle 3) puis l'allèle *penA* (cercle 4).

L'arbre obtenu montre une grande diversité de souches. Néanmoins, il est possible d'observer 5 clades principaux classés de A à E) :

Le clade A correspondait au MLST1599 (n= 32 souches). Il est majoritairement associé au Sud de la France métropolitaine. Deux NG-MAST principaux s'y distribuaient. Le NG-MAST11461 regroupait 16 souches (50% du clade), davantage liées au Sud-Ouest de la France, avec 8 de Nouvelle-Aquitaine (4 souches de Bordeaux) 2 souches d'Occitanie. Le NG-MAST11461 était également présent en Île de France (4 souches). Le second, NG-MAST14764

était plus petit avec 9 souches, associées au Sud-Est (5 de Marseille et 2 de Lyon). Ce clade A est majoritairement associé à des patients hommes (28/32). Il était porteur d'un allèle non-mosaïque *penA*-14.001, 100% avaient une CMI₉₀ de la ceftriaxone à 0,002 mg/l, donc sensibles. Toutes étaient sensibles aux fluoroquinolones (CMI₉₀=0.016 mg/L), sensibles à l'azithromycine (CMI₉₀=0.25 mg/L) ; toutes portaient le gène *tet(M)*, responsable de la résistance à haut niveau aux tétracyclines. Huit souches possédaient une pénicillinase TEM (6 souches dans le NG-MAST11461, aucune dans le NG-MAST14764).

Le clade B correspondait au MLST1583 (n= 32 souches) et semblait moins hétérogène que le clade A. Deux NG-MAST principaux s'y distribuaient : NG-MAST15589 (n=16 souches 50% du clade) et NG-MAST14769 (n=6 souches). Parmi ces isolats, 31 étaient isolées d'hommes dont 13 HSH. Le clade B montrait une dispersion géographique plus marquée. Treize souches provenaient d'Île-de-France, 7 de Rhône-Alpes-Auvergne, les autres provenaient Occitanie (n=3), Provence-Alpes-Côte d'Azur (n=3), Grand-Est (n=2), Bretagne (n=1), Hauts-de-France (n=1), Nouvelle-Aquitaine (n=1), Pays-de-la-Loire (n=1). Parmi ces 32 souches, 31 étaient isolées d'hommes dont 13 étaient des HSH. L'allèle *penA* le plus fréquent (31/32) était le non-mosaïque *penA*-43.001 porteur de l'altération A501V. La CMI₉₀ de la ceftriaxone pour ces souches pour était de 0,008 mg/l.

Il est à noter qu'une souche portait l'allèle mosaïque *penA*-34.007 avec une CMI élevée pour le céfixime (0,032 mg/L) et basse pour la ceftriaxone (0,008 mg/L). L'absence de mutation dans les loci *mtrR* et *porB* expliquerait la sensibilité conservée pour les C3G. Toutes les souches étaient sensibles à l'azithromycine (CMI₉₀=0,25 mg/L). Toutes étaient résistantes à haut niveau à la tétracycline et à la ciprofloxacine. La présence de pénicillinase était détectée chez 28 souches sur 32.

Le clade C regroupait 22 souches du MLST8156. Le NG-MAST prédominant était le ST5441, déjà décrit dans les précédentes enquêtes ENGON. Ce clade est présent dans 9 régions de France métropolitaine. La plupart des isolats provenaient d'hommes (18/22). Toutes les souches du clade C portaient un allèle non mosaïque *penA*-2.001, associées à des CMI₉₀ du céfixime et de la ceftriaxone ≤0.016 mg/, donc très sensibles. Toutes étaient sensibles à la ciprofloxacine (CMI₉₀=0,004 mg/L) et la plupart étaient sensibles à la tétracycline, à l'exception de 6 souches. On note une souche résistante à l'azithromycine avec une CMI à 4 mg/L, associée à la présence de mutation en position C2611T dans le gène de l'ARNr 23S, la CMI₉₀ de l'azithromycine pour des autres souches était égale à 0,25 mg/l.

Le clade D contenait 28 souches de MLST9363 dont le NG-MAST majoritaire est le NG-MAST12302, déjà caractérisé en 2017. Les 9 souches de NG-MAST12302 ont été envoyées par des laboratoires d'Occitanie (n=3), Île de France (n=3), Auvergne-Rhône-Alpes (n=2) et Nouvelle-Aquitaine (n=1). La majorité (8/9) étaient isolées d'hommes. Les 9 isolats de NG-MAST12302 portaient l'allèle non mosaïque *penA*-2.001, toutes étaient sensibles aux C3G. L'une d'elle avait une CMI de la ceftriaxone au cut-off épidémiologique fixé par l'EUCAST (CMI=0,032 mg/L) et une CMI du céfixime élevée à 0,064 mg/L. Toutes avaient une CMI de l'azithromycine supérieure ou égale au cut-off épidémiologique fixé par l'EUCAST (CMI ≥ 1 mg/l), dont 6 souches résistantes (avec des CMI comprises entre 2 et 4 mg/l). Toutes étaient résistantes à la ciprofloxacine (bas niveau de résistance) et à la tétracycline (bas niveau de résistance). Aucune souche ne possédait de pénicillinase.

Le clade E comprenait 81 isolats cliniques répartis en 3 MLST différents : ST7822 (n=40), ST10314 (n=26) et ST11706 (n=15). Ces isolats provenaient majoritairement des régions d'Île-de-France (n=30) et Rhône-Alpes-Auvergne (n=20) et Provence-Alpes-Côte d'Azur (n=9). La majorité des souches étaient isolées de site uro-génitaux (prélèvements urétraux, urines de 1^{er} jet, prélèvements cervicaux – 60/82). Les patients étaient majoritairement des hommes (72/81) dont 26 étaient des HSH. Onze patients vivaient avec le VIH. L'allèle *penA* prédominant était le variant non mosaïque *penA*-5.001 (75/81). La CMI₉₀ de la ceftriaxone était à 0,008 mg/l. La CMI₉₀ de l'azithromycine était égale à 1 mg/L et 7 souches étaient résistantes avec une CMI à 2 mg/l. Toutes les souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (haut niveau de résistance) et à la tétracycline (bas niveau de résistance). Aucune n'avait de pénicillinase.

Deux MLST font l'objet d'une surveillance en raison de leur association fréquente à la **multirésistance** au niveau international. La proportion de souches de sensibilité diminuée (CMI=0,125 mg/L) ou résistantes au céfixime étaient peu fréquentes dans la collection ENGON2019, 1%. Les souches de **MLST1901**, porteuses d'un allèle mosaïque *penA*-34.001 ont été associées à la perte de sensibilité aux C3G en Europe dans les années 2009-2012. La collection de souche ENGON2019 comptait 9 isolats cliniques de gonocoques affiliés au MLST1901. Il est important de noter que 5 d'entre eux en 2019 conservaient l'allèle mosaïque *penA*-34.001. Cet allèle est décrit dans la littérature comme suffisant pour entraîner une perte de sensibilité aux C3G. Dans le même clade, 3 autres souches de MLST1901 montraient un allèle non mosaïque *penA*-5.001 (3 souches) non associé à la résistance aux C3G. Ce phénomène de réversion d'allèle d'un variant *penA* mosaïque vers un variant non mosaïque - au sein d'un clade résistant au céfixime

- a déjà été observé aux USA (Grad et al. 2014) et au Japon (Hanao et al. 2021), accompagné un retour à un phénotype sensible. Les mécanismes qui sous-tendent ces événements de recombinaison sont encore peu connus. On observe que l'unique souche de MLST1901 avec penA-12.001 ne se regroupait pas dans le cluster formé par les 8 autres de MLST1901 (penA-34.001 et penA-5.001). Seule une souche de MLST1901, avec un allèle mosaïque penA-34.001 était de sensibilité diminuée au cefixime (CMI=0,125 mg/l), avec une CMI de la ceftriaxone égale à 0,125 mg/l.

Les souches de **MLST7363** porteuses de l'allèle mosaïque penA-10.001 étaient associées à la perte de sensibilité aux C3G en Asie de l'Est en 2009. La collection ENGON2019 comptait 13 isolats de gonocoques affiliés au MLST7363. Parmi elles, 4 portent des allèles *penA* mosaïques, connus associés à la perte de sensibilité aux C3G : 2 souches porteuses de penA-10.001 se regroupant dans un même cluster et deux souches dans un clade différent l'une portant penA-34.001 et l'autre penA-52.001. La majorité des souches restantes forment un clone portant l'allèle non mosaïque penA-44.001 (n=8). La dernière souche de MLST7363, avec l'allèle non mosaïque penA-14.001 forme un singleton. Seules les 2 souches de MLST7363 porteuses de penA-10.001 étaient résistantes au cefixime, avec une CMI égale à 0,25 mg/l et une CMI à la ceftriaxone égale à 0,064 mg/l.

Une souche est également porteuse d'un allèle mosaïque *penA*-166.001. Cet allèle présente 95% de similarité avec l'allèle penA-168.001 décrit au Japon par Hanao et al. en 2021, sur un isolat clinique de 2013 de sensibilité diminuée à la ceftriaxone.

Les souches dont la CMI de l'**azithromycine** était >1 mg/l représentaient 7% (26/373) de la collection ENGON2019. Elles se distribuaient dans trois MLST majoritaires : ST9363 (n=8, cf. clade D) ST7822 (n=7, cf. clade E), ST11422 (n=5).

Conclusion de l'analyse génomique : la collection ENGON2019 montrait une population de *N. gonorrhoeae* sensible aux C3G peu clonale. Parmi les clades individualisés, on observait des clones déjà décrits les années précédentes (NG-MAST12302, NG-MAST5441), ainsi que des clades peu caractérisés auparavant. Le clade A, lié au MLST1599 semblait lié au Sud de la France avec quelques événements de diffusion vers l'Île de France.

On observait une grande diminution des clones internationaux multirésistants, de MLST1901 et MLST7363. En plus d'une diversification de ces lignées, certaines souches semblaient avoir retrouvé un phénotype sensible pour les C3G. Ceci suggérerait que le maintien de PLP2 mosaïques aurait un coût adaptatif plus important que l'acquisition de PLP2 non mosaïques. La résistance aux C3G était donc rare. Il était à noter la persistance de 2 souches de MLST7363 clusterisant ensemble avec des CMI du céfixime à 0,25 mg/L.

La résistance à l'azithromycine était fréquente, 7% des souches. Ce caractère phénotypique semble clonal, avec des souches très représentées dans les clades D et E.

Ces 3 enquêtes sont en cours de rédaction et une partie des résultats a été acceptée sous forme de Poster au 30^{ème} congrès de l'ECCMID en avril 2020, reporté en 2021.

3.3.3.3 Surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* aux antibiotiques dans les DROM Guyane Française, Martinique, Polynésie française (cohorte 2017-2018)

Entre mai 2017 et octobre 2018, une collaboration avec le laboratoire privé CERBA (Sabine Trombert) et des praticiens des DROM a permis de collecter des données de 6876 recherches d'ADN de gonocoque par amplification d'acides nucléiques. Les échantillons étaient positifs pour la détection de gonocoque dans 437 des cas. Dans le rapport précédent, la cohorte était de 67 échantillons positifs en PCR et 138 échantillons supplémentaires ont été ajoutés pour cette étude.

Parmi ces prélèvements positifs, 205 échantillons positifs en PCR ont été explorés dont 62 provenant de Guyane Française (FRG), 92 de Martinique (MAT), 22 de Guadeloupe (GUA) et 29 de Polynésie Française (FRP). Les échantillons provenaient de 47,3% femmes (97/205), de 52,2% hommes (107/205) et 0,5% d'inconnu (1/205).

Parmi les prélèvements répertoriés, 88,3% (181/205) étaient issus d'un prélèvement urogénital (14 urèthes, 52 prélèvements vaginaux, 114 urines et 1 autre), 11,7% (24/205) d'un prélèvement extragénital (9 rectaux, 15 pharyngés).

Les mutations responsables des résistances à la ciprofloxacine, aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) et la présence du gène *tef(M)* ont été recherchées à partir des prélèvements (cf. figure ci-dessous) avec la trousse Resistance Plus GC (Speedx) pour les quinolones et des techniques de PCR « maisons » développées au CNR.

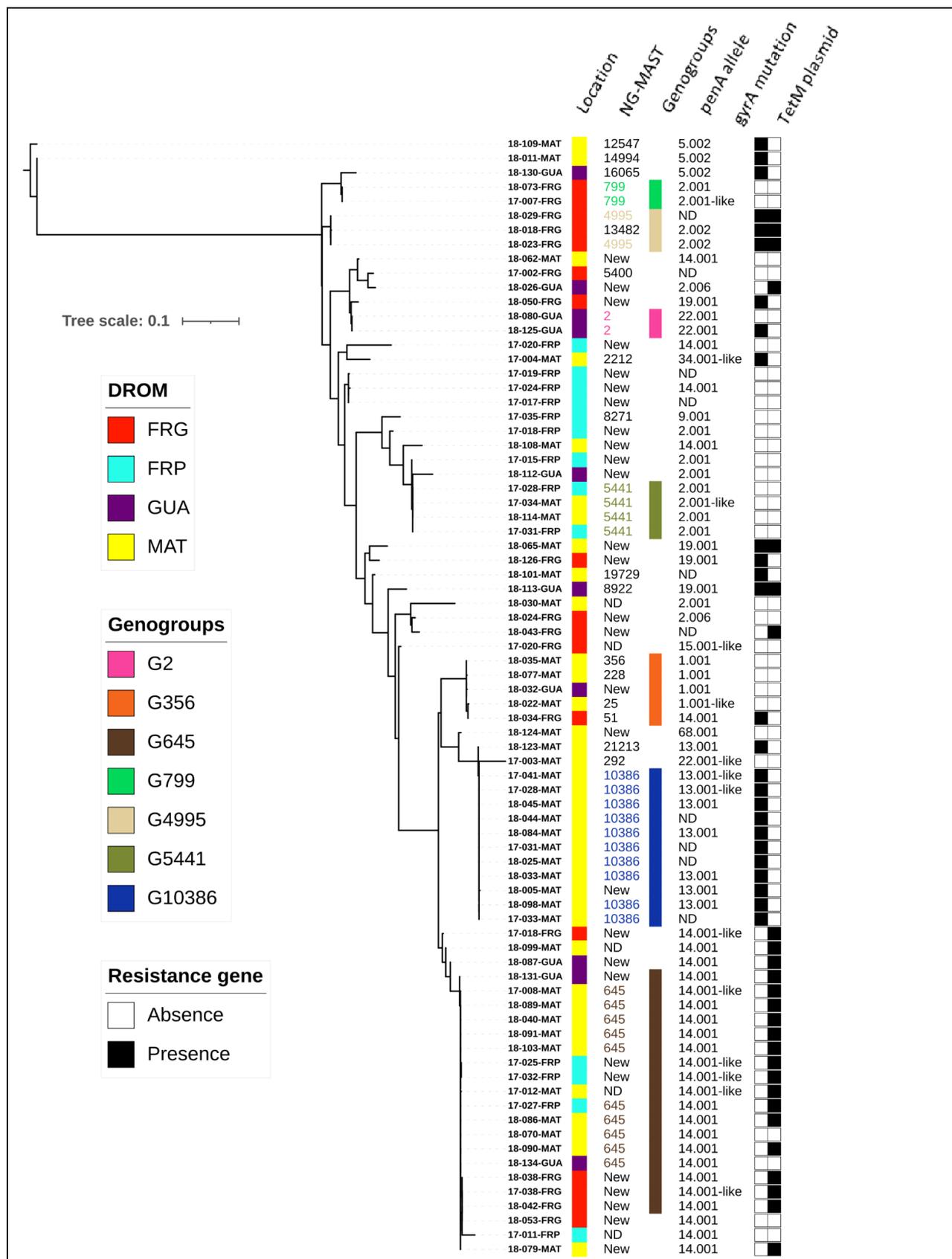


Figure. Arbre phylogénétique des 205 prélèvements positifs en PCR dans les DROM. FRG : Guyane Française ; MAT : Martinique ; FRP : Polynésie Française ; GUA Guadeloupe. Les génogroupes sont déterminés par le concaténat des allèles *porB* et *tbpB*

L'investigation moléculaire des prélèvements retrouve une résistance de haut niveau à la tétracycline liée la présence du gène *tet(M)* dans 18,5%, 27,3%, 27,6% et 30,6% des prélèvements de MAT, GUA, FRP and FRG, respectivement. La résistance aux fluoroquinolones varie de 0% à 38%, avec une absence de résistance dans les échantillons de FRP

et une résistance aux fluoroquinolones dans 21%, 22,7% et 38% liée à la présence de la mutation GyrA Ser 91Phe en FRG, GUA et MAT respectivement.

L'amplification et le séquençage du gène *penA* pour la détection de diminution de sensibilité aux C3G a permis l'obtention d'un amplicon pour 111/205 échantillons, soit 54,1%. Le variant le plus représenté est le variant *penA14.001* (42/111), suivie par *penA2.00* (20/111) et *penA5.002* (16/111). D'après la séquence du gène *penA*, des souches de sensibilité diminuée aux céphalosporines de 3^{ème} génération sont suspectées par la présence des variants *penA9.001*, *penA13.001*, *penA19.001* et *penA34.001*. Ces variants sont majoritairement localisés en MAT (10.8% ; 10/92), puis FRG (4.8% ; 3/62), FRP (3.5% ; 1/29), GUA (4,5% ; 1/22).

Tableau. Déterminants moléculaires de résistance des gonocoques décrits dans les 205 isolats des DROM

Déterminant génétique de la résistance		Nombre d'isolats (pourcentage)				
		FRG (n=62)	GUA (n=22)	MAT (n=92)	FRP (n=29)	Total DROM (n=205)
Résistance FQ	Mutation Ser91Phe	13 (21)	5 (22,7)	35 (38,0)	0 (0)	53 (25,9)
	Wild Type	35 (56,5)	15 (68,2)	41 (44,6)	29 (100)	120 (58,5)
	Indéterminé	14 (22,6)	2 (9,1)	16 (17,4)	0 (0)	32 (15,6)
Résistance TET	Présence <i>tet(M)</i>	19 (30,6)	6 (27,3)	17 (18,5)	8 (27,6)	50 (24,4)
	Absence <i>tet(M)</i>	43 (69,4)	16 (72,7)	75 (81,5)	21 (72,4)	155 (75,6)
Variants <i>penA</i>	<i>penA14.001</i>	11 (17,7)	5 (22,7)	14 (15,2)	12 (41,4)	42 (37,8)
	<i>penA2.00</i>	9 (14,5)	1 (4,5)	5 (5,4)	5 (17,2)	20 (18,0)
	<i>penA5.002</i>	0 (0)	2 (9,1)	14 (15,2)	0 (0)	16 (14,4)
	<i>penA13.001*</i>	0 (0)	0 (0)	8 (8,7)	0 (0)	8 (7,2)
	<i>penA1.001</i>	0 (0)	2 (9,1)	3 (3,3)	0 (0)	5 (4,5)
	<i>penA19.001*</i>	3 (4,8)	1 (4,5)	1 (1,1)	0 (0)	5 (4,5)
	<i>penA22.001</i>	1 (1,6)	3 (13,6)	1 (1,1)	0 (0)	5 (4,5)
	<i>penA68.001</i>	0 (0)	0 (0)	3 (3,3)	0 (0)	3 (2,7)
	<i>penA100.001</i>	0 (0)	2 (9,1)	0 (0)	0 (0)	2 (1,8)
	<i>penA43.002</i>	0 (0)	0 (0)	2 (2,2)	0 (0)	2 (1,8)
	<i>penA15.001</i>	1 (1,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,9)
	<i>penA34.001*</i>	0 (0)	0 (0)	1 (1,1)	0 (0)	1 (0,9)
	<i>penA9.001*</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3,4)	1 (0,9)
	Non amplifiable	37 (59,7)	6 (27,3)	40 (43,5)	11 (37,9)	94 (45,3)

*Variants *penA* pouvant être associés à une diminution de la sensibilité aux C3G ; en rouge, nombre de prélèvements avec une suspicion de diminution de sensibilité au C3G.

Soixante-seize échantillons ont été typés par NG-MAST. Vingt et une NG-MAST ont été retrouvés et 3 clades principaux ont été identifiés en Martinique liés aux génogroupes ST645, ST5441 et ST10385.

Pour conclure, la résistance aux fluoroquinolones est plus faible dans les DROM qu'en France métropolitaine. La prévalence de la résistance aux tétracyclines de haut niveau liée au gène *tet(M)* est similaire à celle observée en France métropolitaine. La circulation de souche de sensibilité diminuée aux C3G est objectivée plus particulièrement en Martinique et reste à surveiller.

Ces résultats ont été acceptés sous forme de Poster au 30^{ème} congrès de l'ECCMID en avril 2020, reporté en 2021.

3.3.4 Surveillance de la résistance de *T. pallidum* aux macrolides en 2020

Les souches de *T. pallidum* testées pour leur résistance à l'azithromycine sont toutes celles qui auront été envoyées au laboratoire associé syphilis et qui auront été détectées positives par le test de diagnostic de nPCR *tp47*. *T. pallidum* ne se cultivant pas sur milieu synthétique, il est impossible de mesurer la résistance à l'azithromycine à l'aide des techniques de bactériologie classique. Les cas de résistance clinique au traitement de la syphilis par l'azithromycine sont associés à la présence d'une mutation ponctuelle dans le gène de l'ARNr 23S, détectée par une PCR-RFLP sur le gène ARNr 23S. La prévalence des mutations responsables de la résistance à l'azithromycine varie de 10% à 90% des souches isolées en Europe et aux USA. A ce jour, aucun cas de résistance clinique à un antibiotique a été rapporté au CNR.

Sur l'ensemble des 70 échantillons positifs pour *T. pallidum* issus de l'expertise et du protocole GENOSYPH, nous avons analysé 62 échantillons (un seul échantillon par patient quand échantillonnage multiple). Nous avons obtenu une bonne sensibilité de détection du gène de l'ARNr 23S à 89% et nous montrons que 33 échantillons (63%) possèdent la mutation A2058G sur le gène de l'ARNr 23S qui entraîne une résistance clinique à l'azithromycine (tableau ci-dessous).

Numéro CNR	Centre	Age	Sexe	PRELEVEMENTS	Date du prélèvement	Amplification génique		RFLP
						nPCR tpp47	PCR 23S	Mutation / Wild type
CI4	Cochin-Hotel Dieu	38	M	Ecouvillon génital	7-janv.-20	pos	pos	A2058G
CM4b	Cochin-Hotel Dieu	34	M	Ecouvillon anal	22-janv.-20	pos	pos	A2058G
022027	Necker	28	F	Liquide amniotique	23-janv.-20	pos	pos	wt
CP4	Cochin-Hotel Dieu	24	M	Ecouvillon génital	30-janv.-20	pos	pos	wt
CR4	Cochin-Hotel Dieu	48	M	Ecouvillon génital	31-janv.-20	pos	pos	A2058G
022014	Colombes	48	M	LCR	3-févr.-20	fpos	fpos	ND
02209	Besançon	3 mois	M	Aspiration naso-pharyngée	5-févr.-20	pos	pos	A2058G
BZ4	Marseille	30	F	Ecouvillon génital	10-févr.-20	pos	pos	wt
022058	Nouméa	43	M	Biopsie hépatique	14-févr.-20	pos	pos	A2058G
022059	Nouméa	43	M	Biopsie cutanée	14-févr.-20	pos	pos	wt
YH3	Aix-en-Provence	40	M	Ecouvillon génital	14-févr.-20	pos	pos	A2058G
032014	Nancy	63	M	LCR	19-févr.-20	pos	fpos	ND
032012	Limoges	62	M	Biopsie langue	28-févr.-20	pos	neg	ND
ZV3	La Réunion	23	F	Ecouvillon buccal	3-mars-20	pos	fpos	A2058G
032034	Lens	28	F	LCR	6-mars-20	pos	neg	ND
YJ3	Aix-en-Provence	41	M	Ecouvillon génital	10-mars-20	pos	pos	A2058G
032046	Tenon	51	M	LCR	11-mars-20	pos	fpos	wt
CC4	Marseille	39	M	Ecouvillon génital	11-mars-20	pos	pos	A2058G
032064	Frejus	29	M	Biopsie cutanée	16-mars-20	pos	pos	wt
DP4	Cochin-Hotel Dieu	41	M	Ecouvillon cutané	20-mars-20	pos	pos	wt
DQ4	Cochin-Hotel Dieu	50	M	Ecouvillon génital	20-mars-20	pos	pos	wt
04204	La Roche s/ Yon	50	M	Ecouvillon génital	30-mars-20	pos	pos	A2058G
YO3	La Réunion	39	F	Ecouvillon anal	22-avr.-20	pos	pos	A2058G
052022	Frejus	59	M	Ecouvillon buccal	6-mai-20	pos	pos	A2058G
CE4	Marseille	7	M	Ecouvillon anal	18-mai-20	pos	pos	A2058G
ZU3	La Réunion	22	M	Ecouvillon cutané	22-mai-20	pos	fpos	A2058G
CG4	Marseille	39	M	Ecouvillon génital	25-mai-20	pos	pos	A2058G
BW4	Marseille	24	M	Ecouvillon génital	26-mai-20	pos	pos	A2058G
DU4	Cochin-Hotel Dieu	46	M	Ecouvillon génital	29-mai-20	pos	pos	A2058G
062034	Bordeaux	34	M	écouvillon lésion ulcérée	11-juin-20	pos	fpos	ND
062033	Martigues	41	M	écouvillon oro-pharyngé	12-juin-20	pos	fpos	wt
CF4	Marseille	74	M	Ecouvillon génital	17-juin-20	pos	pos	wt
07206	La Réunion	21	M	Ecouvillon génital	1-juil.-20	pos	pos	wt
072047	Perpignan	1 j	M	LCR	16-jull.-20	pos	pos	A2058G
072048	Perpignan	1 j	M	Placenta	16-jull.-20	pos	pos	wt
072089	St Pierre	24	M	écouvillon génital	27-jull.-20	pos	pos	A2058G
EM4	Cochin-Hotel Dieu	54	M	Ecouvillon génital	27-jull.-20	pos	pos	A2058G
082031	VilleneuveStGeorges	1 j	M	sang cordon	13-août-20	pos	pos	wt
082032	VilleneuveStGeorges	1 j	M	écouvillons nasaux	13-août-20	pos	neg	ND
082035	VilleneuveStGeorges	22	F	placenta	13-août-20	pos	pos	wt
DD4	Marseille	24	F	Ecouvillon génital	19-août-20	pos	pos	A2058G
082064	Fréjus	46	M	écouvillons chancre génital	25-août-20	pos	pos	A2058G
082068	Fréjus	62	M	écouvillons ulcération génitale	28-août-20	pos	pos	wt
EQ4	Cochin-Hotel Dieu	42	M	Ecouvillon génital	7-sept.-20	pos	pos	A2058G
ER4	Cochin-Hotel Dieu	34	M	Ecouvillon génital	8-sept.-20	pos	fpos	wt
ES4	Cochin-Hotel Dieu	23	M	Ecouvillon génital	16-sept.-20	pos	neg	ND
ET4	Cochin-Hotel Dieu	38	M	Ecouvillon génital	16-sept.-20	pos	pos	A2058G
YF3	Aix-en-Provence	22	M	Ecouvillon génital	21-sept.-20	pos	neg	ND
EU4	Cochin-Hotel Dieu	37	M	Ecouvillon génital	25-sept.-20	pos	pos	A2058G
10208	La Roche sur Yon	25	M	écouvillon	29-sept.-20	pos	pos	A2058G
102024	Rennes	40	M	biopsie rectale	1-oct.-20	pos	pos	A2058G
DW4	Marseille	24	M	Ecouvillon génital	1-oct.-20	pos	fpos	A2058G
102041	Rennes	40	M	Biopsie cutanée	2-oct.-20	pos	fpos	wt
EW4	Cochin-Hotel Dieu	37	M	Ecouvillon génital	2-oct.-20	pos	neg	ND
102042	Suresnes	29	M	Ecouvillon langue	13-oct.-20	pos	pos	A2058G
ED4	Marseille	44	M	Ecouvillon génital	13-oct.-20	pos	fpos	A2058G
102061	Cergy Pontoise	74	M	LCR	14-oct.-20	pos	neg	ND
FJ4	Cochin-Hotel Dieu	52	M	Ecouvillon buccal	28-oct.-20	pos	pos	A2058G
FL4	Cochin-Hotel Dieu	36	M	Ecouvillon anal	16-nov.-20	pos	pos	A2058G
122024	Montpellier	3 j	F	écouvillons buccaux, sang total	2-déc.-20	pos	pos	A2058G
122064	Bordeaux	21	F	liquide amniotique	10-déc.-20	pos	pos	wt
122089	Lille	32	F	placenta	21-déc.-20	pos	pos	wt

3.3.5 Sensibilité aux antibiotiques de *C. trachomatis*

La sensibilité de souches de *C. trachomatis* isolées au CHU de Bordeaux en 2018 aux molécules les plus utilisées comme les macrolides, les tétracyclines et les fluoroquinolones a été étudiée. Il est très compliqué de récupérer des échantillons adaptés pour permettre la culture de *C. trachomatis* d'autres centres. Aussi, nous avons décidé de nous focaliser sur celles isolées au CHU de Bordeaux.

Vingt-quatre souches cliniques de *C. trachomatis* isolées en 2018 de 23 femmes (21 isolées de col et 2 isolées de prélèvements vaginaux) et d'un homme (prélèvement urétral) ont été sélectionnées, réparties en six génotypes (4 D/Da, 13 E, 3 F, 2 G, 1 Ia et 1 K). Trois antibiotiques sont testés, **l'azithromycine, la doxycycline et l'ofloxacine**. La détermination de la CMI est réalisée par inoculation d'une souche de *C. trachomatis* titrée à 10^5 - 10^7 Unités Formant Inclusions/ml sur des cellules de la lignée McCoy en présence de concentrations croissantes d'antibiotiques. La souche de référence L2/434/Bu (ATCC VR-902B) est utilisée comme contrôle positif. La lecture de la CMI est réalisée au microscope à fluorescence. Celle-ci est définie comme étant la concentration d'antibiotique correspondant à la dilution suivant celle pour laquelle 90% ou plus des inclusions sont altérées en taille et morphologie.

Tableau. CMI des antibiotiques obtenues pour les 24 souches de *C. trachomatis*.

Souche	CMI (mg/l)		
	Azithromycine	Doxycycline	Ofloxacine
Ia1748	0,25	0,06	1,00
E1749	0,25	0,03	1,00
E1755	0,5	0,06	1,00
E1756	0,25	0,06	1,00
E1758	0,25	0,06	0,50
E1759	0,25	0,03	1,00
E1760	0,25	0,06	0,50
D1761	0,25	0,03	0,50
E1762	0,50	0,06	1,00
F1764	0,25	0,03	1,00
E1765	0,25	0,06	0,50
D1772	0,50	0,03	1,00
E1770	0,50	0,06	0,50
G1767	0,50	0,06	1,00
E1773	0,25	0,06	0,50
E1774	0,50	0,03	1,00
Da1775	0,25	0,03	0,50
Da1778	0,50	0,03	0,50
E1784	0,50	0,03	0,50
F1785	0,50	0,03	1,00
K1786	0,25	0,06	0,50
G1790	0,50	0,125	1,00
F1828	0,25	0,03	1,00
E1834	0,50	0,03	0,50
L2 434/Bu	0,25	0,06	0,5

Les CMI de l'azithromycine sont comprises entre 0,25 et 0,5 mg/l, celles de la doxycycline entre 0,03 et 0,125 mg/l et celles de l'ofloxacine entre 0,5 et 1 mg/l. Toutes les souches sont donc sensibles.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Santé publique France et le réseau Sentinelles de médecins généralistes ont souhaité faire évoluer le volet IST de leur surveillance, qui ne réalisait jusqu'alors qu'une surveillance clinique des urétrites masculines. Les objectifs de cette étude observationnelle prospective permettant une surveillance de type sentinelle sont (1) décrire les patients vus en consultation de médecine générale en France métropolitaine pour une IST bactérienne (syphilis, gonococcie, chlamydie) ; (2) estimer les taux d'incidence annuel des cas diagnostiqués d'infections à chlamydia, de gonococcies et de syphilis vus en consultation de médecine générale en France métropolitaine. Cette surveillance a démarré en janvier 2020. Un total de 528 cas a été déclaré en 2020 et les analyses sont en cours pour publier une estimation d'incidence des IST bactériennes en médecine de ville.

B. de Barbeyrac, C. Bébéar, C. Cazanave et N. Dupin ont participé au recueil de données et aux travaux analysant l'évolution du **dépistage des IST dans le secteur privé en France**, à partir des données individuelles de remboursement de soins de l'Assurance Maladie entre 2006 et 2018. Une publication des 1^{ères} données est parue dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire en 2019. Une 2^{ème} étude est en cours, coordonnée par Delphine Viriot et Ndeindo Ndeikoundam de Santé publique France pour identifier les infections à *C. trachomatis* en médecine de ville à partir des données de remboursement des soins (DCIR). Un algorithme a été construit et appliqué au DCIR et un manuscrit est en cours de rédaction.

Sur le plan européen, le CNR IST bactériennes et Santé publique France collaborent avec Gianfranco Spiteri dans le cadre de la surveillance des IST bactériennes par l'**European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)**, Stockholm, Sweden. Le CNR participe aux enquêtes annuelles dans le cadre du groupe de travail européen **EURO-GASP** (voir 3.4.2).

3.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Notre laboratoire collabore étroitement avec **plusieurs spécialistes de *C. trachomatis* européens** internationalement reconnus et avec lesquels nous avons publié :

- Bjorn Herrmann, Uppsala University, Sweden
- Servaas A. Morré, VU University Medical Centre Amsterdam and University of Maastrich, The Netherlands.
- Ian Clarke, University of Southampton, UK
- Helena Seth-Smith, University of Basel, Switzerland

Notre laboratoire collabore étroitement avec plusieurs spécialistes des **mycoplasmes urogénitaux** internationalement reconnus et avec lesquels nous avons publié :

- Roger Dumke, Dresden University of Technology, Germany
- Birgit Heinrich, Dusseldorf University, Germany
- Jorgen S. Jensen, Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark
- Lisa E. Manhart, University of Washington, Seattle, USA
- Owen B. Spiller, Cardiff University, UK
- Patricia Totten, University of Washington, Seattle, USA
- Ken B. Waites, University of Alabama, Birmingham, USA.

Les liens étroits avec l'International Organization for Mycoplasma et l'European Study Group on Mycoplasma Infections (ESGMI) de l'ESCMID nous permettent d'initier ou de participer à des études épidémiologiques internationales et européennes sur les mycoplasmes urogénitaux. A noter qu'à l'initiative du CNR des IST (Cécile Bébéar) et des collègues européens, l'ESGMI a inclus la thématique Chlamydia et est devenu l'**ESGMAC** (European Study Group on Mycoplasma and Chlamydia) en 2019. C. Bébéar est secretary of ESGMAC.

Cécile Bébéar fait partie de l'International Program Committee for the **STI and HIV 2021 World Congress**, Amsterdam, The Netherlands. Dans ce cadre, elle a proposé en 2020 un symposium sur la thérapie des IST bactériennes guidée par la recherche de résistance qui a été retenu et sera présenté lors du congrès. Elle est également membre du Reviewing Program Committee of the **International Intracellular Bacteria meeting 2020** (ESCCAR International congress on *Rickettsiae* and 9th Meeting of the European Society for Chlamydia Research ESCR), Lausanne, Switzerland. Ce congrès a été reporté en 2021.

Le laboratoire continuera à collaborer **sur le plan national** pour les infections à *C. trachomatis* et aux mycoplasmes urogénitaux avec :

- avec l'ensemble des laboratoires métropolitains parisiens et de province et des laboratoires d'outre-mer qui participent au réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis* et aux enquêtes annuelles sur la résistance aux antibiotiques des mycoplasmes urogénitaux,
- avec les CeGIDD notamment ceux de Bordeaux, Paris et Marseille, et des services hospitaliers tels que le CAUVA (Centre d'Aide aux Victimes d'Aggressions, CHU de Bordeaux) et le centre de planification familiale et d'orthogénie du CHU de Bordeaux.

3.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Notre laboratoire collabore étroitement avec **plusieurs spécialistes de *N. gonorrhoeae* européens** internationalement reconnus et avec lesquels nous avons publié :

- Magnus Unemo, WHO Collaborating Centre for Gonorrhoea and other STIs, Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine and Health, Örebro University, Örebro, Sweden
- Michele Cole, Public Health England, London,
- Gianfranco Spiteri, European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden.

Le laboratoire continuera à collaborer **sur le plan national** pour les infections gonocoques avec l'ensemble des laboratoires métropolitains parisiens et de province et des laboratoires d'outre-mer qui participent aux enquêtes annuelles sur la résistance aux antibiotiques des gonocoques, avec les CeGIDD et partenaires hospitaliers.

Le laboratoire participe avec Santé publique France et l'équipe de Florence Lot aux enquêtes annuelles dans le cadre du groupe de travail européen **EURO-GASP** (27 pays participants). En 2019, il a été demandé aux pays ayant une densité de population importante comme la France et l'Allemagne de participer à la hauteur de 200 épisodes d'infections à gonocoque par an. Ainsi, les données épidémiologiques et les CMI de 243 souches ont été transmises en 2020 à l'**ECDC via Tessa** comme chaque année par Santé publique France.

Le laboratoire a été sollicité pour son expertise sur la résistance et la clonalité des souches de gonocoques résistantes aux antibiotiques à la participation dans le **conseil scientifique du projet « Surveillance de l'Antibiorésistance en Afrique (SARA) »** en partenariat avec Institut Pasteur et le réseau de surveillance et de recherche sur l'antibiorésistance dans 6 pays d'Afrique : Bénin, Cameroun, Madagascar, Maroc, République Centrafricaine, Sénégal. Le projet SARA vient d'être financé et permettra la description des génomes de gonocoque circulants en Afrique. La méthodologie est calée sur le projet « Tricycle », programme One Health de surveillance de la résistance aux antimicrobiens de l'OMS et tendra à rejoindre ce projet dans le futur.

3.4.3 Laboratoire APHP Cochin

Le CNR envoie ses données à Santé publique France sous la responsabilité de N. Ndeikoundam. La surveillance de la syphilis n'est possible que grâce à la participation des centres IST sur la région parisienne ainsi que des centres de province dont les responsables font partie de la section MST-SIDA ou Dermatologie-Infectiologie de la Société Française de Dermatologie.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

3.5.1 Enquête de surveillance européenne TESSY et contrôles de qualité européens pour le gonocoque

3.5.1.1 EU STI Microbiology Network: Sentinel Surveillance of Gonococcal Antimicrobial Susceptibility

L'ECDC coordonne le programme européen de surveillance de la résistance du gonocoque aux antimicrobiens (Euro-GASP) depuis 2009. Le projet a été externalisé à une équipe internationale qui est actuellement dirigée par Public Health England (Royaume-Uni) en collaboration avec l'hôpital universitaire d'Örebro (Suède).

- En 2020, le CNR n'a pas été sollicité pour une collecte de souche *via* TESSY.
- En septembre 2019, B. Berçot a participé à l'Euro-GASP Coordination Meeting à Tallinn en Estonie, réunion coordonnée par G. Spiteri, M. Unemo et M. Cole. Lors de cette réunion annuelle, il avait été demandé de rapporter le nombre d'isolats inclus à la taille du pays et ainsi d'augmenter le nombre d'isolats inclus pour des pays de surfaces importantes comme la France, l'Allemagne, la Suède, la Norvège, la Belgique, le Danemark, la Hongrie, l'Irlande, l'Espagne et l'Angleterre à 200 isolats/pays. En 2020, le CNR a fourni les données épidémiologiques concernant les 243 infections à gonocoques associant les métadonnées et les CMI de 8 antibiotiques des souches. Ces données ont été transmises par Santé publique France à l'ECDC via TESSY.
- Le CNR effectue en parallèle le séquençage des génomes des souches pour lesquels les métadonnées sont envoyées à Euro-GASP/TESSY. Il a ainsi réalisé en 2020 le séquençage des 243 souches françaises dont les données ont été envoyées. Il avait été prévu pour les enquêtes en 2020 l'envoi des fichiers fastq mais le CNR n'a pas été sollicité.
- En collaboration avec un groupe d'experts internationaux, l'ECDC a publié en 2012 un plan d'intervention visant à contrôler et à gérer la menace de la gonorrhée multirésistante en Europe en raison de l'émergence possible de gonorrhées non traitables dans l'UE/EEE. Une mise à jour de ce rapport a été publiée ultérieurement en 2019 ; <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/multi-and-extensively-drug-resistant-gonorrhoea-response-plan-Europe-2019.pdf>. Pour permettre de contrôler l'efficacité du plan de réponse et d'avoir un aperçu des forces et des faiblesses du plan, le CNR a répondu à un questionnaire nous a été envoyé afin de faire remonter les informations nécessaires pour mettre à jour le plan d'intervention.
- L'association entre la sensibilité/résistance aux antimicrobiens des isolats de *N. gonorrhoeae* isolés dans le cadre de l'Euro-Gasp entre 2009-2016 et les métadonnées associées (le sexe, l'orientation sexuelle et le site anatomique de l'infection des patients) a été étudiée en 2020. Les données de souches françaises isolées entre 2009-2016 ont été incluses dans ce travail. Dans l'ensemble, l'orientation sexuelle était la principale variable associée aux gonocoques résistants. Les associations positives les plus fortes ont été identifiées chez les patients hétérosexuels, en particulier chez les hommes, et non chez les HSH. Les associations entre la sensibilité/résistance aux antimicrobiens et le sexe, l'orientation sexuelle et le site anatomique de l'infection des patients doivent être étudiées plus avant dans différents contextes géographiques. Ces connaissances permettront d'identifier les groupes à risque accru et de cibler les actions de santé publique telles que l'intensification du dépistage, les tests sur trois sites utilisant des diagnostics moléculaires, la recherche des contacts sexuels et la surveillance des échecs thérapeutiques. Ces résultats sont publiés dans le BMC Infect Dis en 2021.

3.5.1.2 Contrôles de qualité européens

- *EU STI Microbiology Network: N.gonorrhoeae antimicrobial resistance quality assurance programme* : (4/an)

Dix souches WHO de *N. gonorrhoeae* ont été testées pour la détermination des CMI sur un panel de 6 antibiotiques (ciprofloxacine, ceftriaxone, céfixime, azithromycine, gentamicine, spectinomycine) et la recherche de bêta-lactamase. Les séquences ST ont été déterminées par la technique NG-MAST.

- *Contrôles de qualité de séquençage avec Euro-GASP*

Aucune demande nous a été adressée concernant les données de séquençage NGS en 2020.

4. Alertes

Des échanges ont eu lieu entre le CNR et Santé publique France pour objectiver une procédure de déclaration de cas inhabituels d'IST. Une fiche décrivant succinctement la démarche autour d'un signalement d'IST et un guide d'investigation et de gestion des clusters d'IST sont en cours de finalisation sous la coordination de N. Ndeinkoundam.

4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Aucune alerte n'a été rapportée en 2020 concernant *C. trachomatis* ou les mycoplasmes urogénitaux.

4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

L'année 2020, aucune souche résistante à la ceftriaxone n'a été décrite. Depuis 2019, le CNR est en alerte par rapport à la circulation de souches invasives (voir 3.2.2.2).

4.3 Laboratoire APHP Cochin

4.3.1 La procédure

Tout signalement de cas anormaux est transmis directement par Nicolas Dupin à N. Ndeinkoundam de Santé publique France, soit par messagerie électronique soit par téléphone.

Toutes les demandes d'analyse sur des échantillons extérieurs (écouvillons, prélèvements sanguins, LCR, biopsies), positives par nPCR sont transmises à Santé publique France sur une base périodique de 3 mois et le CNR envoie une fiche de demande de renseignements complémentaires au centre qui a envoyé le prélèvement. En ce qui concerne les échantillons périnataux analysés positifs en nPCR et/ou sérologie (liquide amniotique, placenta, cordon), Santé publique France est immédiatement informé par courrier électronique et/ou téléphone par le CNR. C'est Santé publique France qui se charge de contacter le centre demandeur pour classer le cas.

4.3.2 Pour l'année 2020

- Alertes de suspicion de syphilis congénitale

Huit alertes de suspicion de syphilis congénitale ont été déclenchées par le CNR à Santé Publique France (tableau ci-dessous).

Numéro CNR	Centre	Age	Sexe	PRELEVEMENTS	Date du prélèvement	Date de réception	Rendu résultat	
							Amplification génique	
							nPCR	Date
02209	Besançon	8 moi	M	Aspiration naso-pharyngée	05/02/20	10/02/20	pos	17/02/20
022027	Necker	28	F	Liquide amniotique	23/01/20	13/02/20	pos	21/02/20
072048	Perpignan	1 j	M	Placenta/Sg Cord/Cord/Liq. Gas/Secre N/P	16/07/20	21/07/20	pos/pos/pos/pos/neg	24/07/20
082031	VilleneuveStGeorges	1 j	M	sang cordon	13/08/20	14/08/20	pos	21/08/20
082032	VilleneuveStGeorges	1 j	M	écouvillons nasaux	13/08/20	14/08/20	pos/neg	21/08/20
082035	VilleneuveStGeorges	22	F	placenta	13/08/20	14/08/20	pos	21/08/20
122064	Bordeaux	21	F	liquide amniotique	10/12/20	18/12/20	pos	23/12/20
122089	Lille	32	F	placenta	21/12/20	29/12/20	pos	31/12/20

- Alertes de suspicion de neurosyphilis

Dix-huit alertes de suspicion de neurosyphilis ont été déclenchées par le CNR (tableau ci-dessous).

Numéro CNR	Centre	Age	Sexe	PRELEVEMENTS	Date du prélèvement	Date de réception	Rendu résultat			
							Amplification génique		Examen sérologique sur LCR	
							nPCR	Date	VDRL	Date
022014	Colombes	48	M	LCR	03/02/20	10/02/20	fpos	17/02/20	pos	18/02/20
022043	Saint-Lou	48	M	LCR	17/02/20	19/02/20	neg	21/02/20	pos	24/02/20
032014	Nancy	63	M	LCR	19/02/20	25/02/20	pos	12/03/20	pos	10/03/20
032046	Tenon	51	M	LCR	11/03/20	13/03/20	pos	24/03/20	pos	19/03/20
032079	Orléans	59	M	LCR	19/03/20	24/03/20	neg	27/03/20	pos	30/03/20
04206	Necker	26	M	LCR	03/04/20	03/04/20	neg	14/04/20	pos	07/04/20
052067	Strasbourg	42	M	LCR	18/05/20	29/02/20	neg	05/06/20	pos	22/07/20
052068	Quimper	36	M	LCR	25/05/20	29/05/20	neg	05/06/20	pos	22/07/20
052070	Cergy Pon	20	F	LCR	11/05/20	22/05/20	neg	05/06/20	pos	22/07/20
052071	Colombes	51	M	LCR	27/05/20	29/05/20	neg	05/06/20	pos	22/07/20
072035	Mulhouse	36	M	LCR	10/07/20	16/07/20	neg	24/07/20	pos	23/07/20
072047	Perpignan	1 j	M	LCR	16/07/20	21/07/20	POS	24/07/20	neg	23/07/20
082024	Mulhouse	76	M	LCR	28/07/20	11/08/20	neg	14/08/20	pos	03/09/20
082036	Pointe-à-F	87	M	LCR	07/08/20	14/08/20	neg	20/08/20	pos	03/09/20
092053	Le Mans	54	M	LCR	18/09/20	22/09/20	neg	25/09/20	pos	24/09/20
102061	Cergy Pon	74	M	LCR	14/10/20	23/10/20	pos	30/10/20	pos	02/11/20
11209	Nice	56	M	LCR	26/10/20	05/11/20	neg	13/11/20	pos	12/11/20
122056	Montsou	59	M	LCR	16/12/20	16/12/20	neg	24/12/20	pos	22/12/20

5. Activités de rétro-information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Sur le site de web du CNR des IST bactériennes (www.cnr-ist.fr), nos correspondants y trouvent tous les documents à envoyer pour expertise d'un échantillon ou d'une souche. Ils ont également accès aux rapports du CNR depuis 2017 aux recommandations de traitement des IST, à des documents et publications de référence et aux actualités concernant le CNR.

Il est à noter que bon nombre de conférences en 2020 ont été annulées ou reportées d'un an en raison de la crise sanitaire.

5.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

- Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé ; Conférences visant les professionnels de santé :

- S. Pereyre, O. Peuchant. IST bactériennes, DES de Biologie médicale, subdivision de Bordeaux.

- C. Bébéar. 2020. Epidémiologie des IST bactériennes et de leur résistance aux antibiotiques au Nord. Séminaire sur les IST bactériennes organisé par l'ANRS. 21-22 janvier 2020, Paris.

- S. Pereyre. 2020. Histoire naturelle de l'infection à *Mycoplasma genitalium*. Séminaire sur les IST bactériennes organisé par l'ANRS. 21-22 janvier 2020, Paris.

- C. Bébéar. 2020. Epidémiologie des infections à Chlamydia trachomatis en France et dans le monde. Séminaire ANRS, Vaccination à Chlamydia trachomatis, 2 septembre 2020, Paris.

- C. Bébéar. 2020. Infections sexuellement transmissibles bactériennes. G10 du VIH. 10 décembre 2020. Paris, France.

- Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion) ;
- S. Pereyre, C. Bébéar. Mycoplasmes urogénitaux : Quand les rechercher? Comment les traiter ? La lettre de l'infectiologue, 2020, 35, 4, 131-134.
- S. Pereyre, C. Bébéar. *Mycoplasma genitalium* : en route vers la multi-résistance ! Revue Francophone des laboratoires 2021, 530, 22-28.
- O. Peuchant, C. Bébéar. Infections sexuellement transmissibles à *Chlamydia trachomatis*. Revue Francophone des laboratoires 2021, 530, 2-38. 530, 29-37.

- Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR :

- Rétro-information aux partenaires ;

Un poster résumant l'**activité du réseau LGV** est envoyé chaque année aux partenaires cliniciens et laboratoires participant au réseau. Nous avons ensuite décidé d'arrêter sa production et de le remplacer par un poster résumant les résultats de l'**enquête Anachla** mise en place en 2020 et pérennisée les années suivantes. Ce poster est en préparation et devrait être envoyé d'ici l'été 2021. Il sera également disponible sur le site web du CNR.

Un poster résumant la **prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine et en outre-mer en 2019** a été envoyé à tous les laboratoires participants et est disponible sur le site web du CNR. Il est joint en annexe.

- Information/formation des professionnels de santé : mentionner notamment le site internet (adresse, date de création, rythme des actualisations, date du dernier rapport annuel d'activité mis en ligne) ;

Voir ci-dessus.

- Activités de conseil aux professionnels de santé :

- Une adresse email générique cnr.ist@chu-bordeaux.fr dont les destinataires sont les membres du CNR permet de réceptionner les questions relatives à *C. trachomatis* et aux mycoplasmes urogénitaux. Les appels téléphoniques concernant *C. trachomatis* et les mycoplasmes urogénitaux sont centralisés par la secrétaire au 0557571625 et transmis aux responsables de chaque domaine.

- Nous répondons, par email ou téléphone, à environ 2 ou 3 demandes par semaine concernant les activités d'expertise sur les mycoplasmes urogénitaux (conseils techniques pour la détection et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, conseils thérapeutiques) avec dans la moitié des cas confirmation de l'identification, recherche de résistance aux antibiotiques ou envoi d'extrait d'ADN de souches de référence à différents laboratoires.

- En ce qui concerne les infections à *C. trachomatis*, nous répondons à en moyenne un email ou un appel téléphonique par semaine pour des conseils techniques ou thérapeutiques.

5.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

- Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé ; Conférences visant les professionnels de santé

Enseignements :

- B Berçot. IST : rappel sur le diagnostic microbiologique et données de résistance, DU Antibiothérapie de Médecine de ville, Université de Paris (28/02/2020)
- T Poncin, B Berçot. Dépistage des IST bactériennes : DU MST et infection VIH dirigé par Sophie Matheron et Jade Ghosn, Université de Paris (octobre 2020)
- T Poncin, B Berçot. Dépistage des IST bactériennes, DES de Biologie médicale Ile de France.
- B Berçot. Épidémiologie et mécanisme de résistance des bactéries responsables d'IST : focus sur *Neisseria gonorrhoeae* et *Mycoplasma genitalium* (14 octobre 2020), Master2 Microbiologie Paris SUD, UE thérapeutiques anti-infectieuses & mécanisme d'action et résistance des microorganismes.

Conférences visant les professionnels de santé

- B. Berçot. Outils de diagnostics (POC tests et tests moléculaires de résistance). *Séminaire sur les IST bactériennes organisé par l'ANRS*. 21 janvier 2020, Paris.
- B. Berçot. L'épidémiologie et la résistance des IST en 2020 : évolution vers des IST bactériennes intraitables. *Journées de Biologie Clinique Necker - Institut Pasteur*, Institut Imagine, 21 janvier 2020, Paris.
- B. Berçot. Approche syndromique des Infections Sexuellement Transmissibles. *Congres BiomedJ*, Hopital Necker, 5 6 mars 2020, Paris.

- *Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR :*

- *Rétro-information aux partenaires ;*

La rétroinformation se fait par le biais de mise à disposition sur le site du CNR des posters des congrès nationaux et internationaux.

- *Information/formation des professionnels de santé : mentionner notamment le site internet (adresse, date de création, rythme des actualisations, date du dernier rapport annuel d'activité mis en ligne) ;*

Voir ci-dessus.

- *Activités de conseil aux professionnels de santé :*

Une adresse email générique cnr.ist.sls@aphp.fr dont les destinataires sont les membres du CNR permet de réceptionner les questions relatives à *N. gonorrhoeae*. Les appels téléphoniques sont directement gérés par l'équipe nous sommes joignables au 01 42 49 42 40. Au cours de l'année 2020, nous avons répondu à une moyenne de 5 appels par semaine concernant les thématiques principales :

- Conseils techniques pour la détection et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques,
- Confirmation d'identification
- Typage moléculaire sur souches et prélèvements
- Recherche de résistance aux antibiotiques,
- Conseils thérapeutiques et analyse de cas groupés au sein du cercle familial.
- Réponses aux envois de prélèvements et de souches au CNR (fiches NGID, NGMAST, NGRES, NGCMI, NGSNP, NGTYP présentes sur le site internet www.cnr-ist.fr)

5.1.3 Laboratoire APHP Cochin

- *Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé ; Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion) ;*

- Ecole de sages-femmes : cours sur la syphilis congénitale
- Participation aux staffs de service des hôpitaux de l'APHP (Trousseau, Avicenne) sur la Syphilis et la syphilis congénitale
- Thèse d'exercice de Pharmacie de Mme MAHRAOUI Naïla, soutenue le 10 novembre 2020. Titre : Syphilis congénitale : état des lieux, expertise syphilis de 2011 à 2018.

Nicolas Dupin, participation à de nombreux FMC et congrès :

- Séminaire ANRS-IST janvier 2020 : traitements des IST, projets en cours en France, nouvelles molécules, et priorités de la recherche thérapeutique
- Staff-Service de Dermatologie-CH de Strasbourg-3/03/2020 : Actualités MST
- Séminaire des IST, coordonnateur du séminaire (Pr Dupin) 2020 : La syphilis
- DIU de Dermatologie Infectieuse et Tropicale Paris XII et Paris VI, La syphilis et les manifestations cutanées du COVID
- EADV Course, STDs part I and II, Maison de la dermatologie, Janvier 2021
- DIU Infectiologie : MST chez l'homme et cas clinique
- DIU de Paris VII, Stratégie thérapeutiques et Préventives en pathologie Infectieuse, la syphilis
- Séminaire des DES Paris et IDF 2020 : La syphilis:
- Deux communication orales aux Journées Dermatologiques de Paris 2020

- Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR :

- Information/formation des professionnels de santé : mentionner notamment le site internet (adresse, date de création, rythme des actualisations, date du dernier rapport annuel d'activité mis en ligne) ;

Voir ci-dessus.

- Activités de conseil aux professionnels de santé : préciser l'organisation du CNR pour réceptionner les appels ou e-mails, le volume d'activités (si ces données sont disponibles), ...

Parallèlement aux échantillons qui nous sont confiés pour expertise sérologique et moléculaire, nous avons également une très forte activité d'assistance dans la prise en charge des patients. En 2020, cette activité a consisté en moyenne à 4-6 appels par semaine.

Sur l'année, le CNR a répondu à plus de 200 appels. Les appels sont assez homogènes sur la période. Le CNR propose également une assistance par courrier électronique, plus de 150 demandes par mail ont été reçues pour 2020. Une adresse email générique cnr.ist.cch@aphp.fr à cet effet.

La durée d'un appel est d'une dizaine de minutes avec des demandes portant sur :

- L'interprétation sérologique des résultats pour le diagnostic final de syphilis
- Les tests sérologiques à réaliser dans le cas de suspicion de neurosyphilis et de syphilis congénitale. A cette occasion le laboratoire associé syphilis propose d'expertiser à nouveau le ou les sérums et de réaliser le test VDRL charbon sur le LCR
- Les modes de contamination
- Les signes cliniques évocateurs
- Demande de renseignement pour l'envoi de prélèvements
- Aide à la mise en place du traitement, notamment dans les cas de neurosyphilis et de syphilis congénitale

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

5.2.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

B. de Barbeyrac participe au **groupe de travail de microbiologie** dépendant de la CNAM en relation avec la CHAB (Commission de Hiérarchisation des Actes de Biologie médicale) pour la mise à jour du diagnostic des infections génitales et des IST. Les finalités du groupe de travail sont de planifier l'inscription de nouveaux tests biologiques à la NABM en définissant des indications validées par la HAS et en proposant des taux de remboursements et le déremboursement des actes obsolètes. Un travail menée par B. de Barbeyrac et C. Bébéar est en cours sur l'inscription à la nomenclature de la PCR diagnostique de *M. genitalium* et de sa résistance aux macrolides dans le diagnostic de l'infection génitale basse ainsi que sur la désinscription de la recherche des mycoplasmes urogénitaux par culture dans l'infection génitale basse (acte 5253).

5.2.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

B. Berçot est la représentante française du réseau de surveillance européen **EURO-GASP** pour le gonocoque en contact avec l'ECDC.

B. Berçot appartient au comité de pilotage scientifique pour le pathogène « *N. gonorrhoeae* » dans le conseil scientifique du projet « Surveillance de l'Antibiorésistance en Afrique (SARA) » en partenariat avec Institut Pasteur et le réseau de surveillance et de recherche sur l'antibiorésistance dans 6 pays d'Afrique : Bénin, Cameroun, Madagascar, Maroc, République Centrafricaine, Sénégal.

5.2.3 Laboratoire APHP Cochin

N. Dupin a participé à la mise à jour des recommandations de l'IUSTI Europe pour la prise en charge de la syphilis.

[2020 European guideline on the management of syphilis](#). Janier M, Unemo M, Dupin N, Tiplica GS, Potočník M, Patel R. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2020 Oct 22. doi: 10.1111/jdv.16946. Online ahead of print. PMID: 3309452

N. Dupin et N. Benhaddou sont experts auprès de l'ANSM et la HAS en matière de syphilis.

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

5.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

C. Bébéar et C. Cazanave

- Interview TV and reportage TV dans le laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux, Journal télévisé, France 3, 3 février 2020. Sujet : augmentation des IST bactériennes.

6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.1.1 Projet de recherche clinique Remind/ Memodépistages, 2018-2021, Santé Publique France

Le projet **Remind/ Memodépistages** vise à promouvoir le dépistage répété du VIH chez les HSH en France. Cette étude s'adresse aux HSH régions IDF, ARA et PACA et a débuté en avril 2018 avec un recrutement en ligne via un site internet dédié. Un dépistage trimestriel du VIH, des hépatites B et C et un dépistage annuel des infections à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et syphilis leur a été proposé.

La détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* a été effectuée chez 1 930 participants sur 3 sites. Parmi les 1930 échantillons urinaires, pharyngés et anaux, **13,2% des sujets avaient au moins un site positif à *C. trachomatis* ou à gonocoque**. La prévalence de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* sur l'ensemble des sites était de 17,1 % (2,2% dans les échantillons d'urine, 10,6% dans les prélèvements anaux, 8,7% dans les prélèvements de gorge). La positivité globale était de 9,3% et 9,6% pour CT et NG, respectivement, la positivité la plus élevée pour *C. trachomatis* étant signalée dans la région anale (7,3%) et le pharynx pour *N. gonorrhoeae* (7,2%).

Les facteurs associés à l'infection à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* extragénitale étaient un âge inférieur à 30 ans et le fait d'avoir eu 10 partenaires ou plus au cours des six derniers mois ($p < 0,001$). Le kit d'auto-prélèvement pour plusieurs infections permettait de réaliser un test complet et d'identifier les nouvelles infections, en particulier dans les sites extragénitaux et chez les jeunes (article en cours de soumission).

Dans le cadre de Remind, le CNR a collaboré à l'expertise des échantillons positifs à *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* et *M. genitalium* pour typage et recherche de résistance aux antibiotiques. Lors de l'envoi du 1^{er} kit, 202 échantillons positifs à *C. trachomatis* (dont 133 en Ile de France) et 223 positifs à *N. gonorrhoeae* (169 en Ile de France) ont été adressés par les 4 centres participants (Paris, Lyon, Montpellier et Marseille) au CNR des IST bactériennes. Puis à **l'envoi du 2^{ème} kit IST à M12 en avril 2019**, le CNR a collecté au dernier trimestre 2019, 39 échantillons positifs à *C. trachomatis*, 54 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* et 31 échantillons positifs à *M. genitalium* ont été détectés.

- Exploration et typage des échantillons *C. trachomatis* (+) à Bordeaux

Pour le kit 1, sur les 202 échantillons positifs à *C. trachomatis* seulement **3 correspondaient à une souche de type L**. Ces travaux ont fait l'objet d'une communication orale en 2019 à l'IUSTI Europe Congress, 5-7 septembre, Tallinn, Estonia. Pour le kit 2, sur les 39 prélèvements testés, aucun échantillon n'était positif pour une souche de type L.

- Exploration de la résistance à la ciprofloxacine pour *N. gonorrhoeae* à Saint-Louis

Les 283 prélèvements positifs pour le gonocoque ont été analysés avec la trousse Resistance Plus GC (Speedx) détectant le gonocoque et sa résistance aux fluoroquinolones par qPCR. Sur les 283 échantillons, le gonocoque est détecté dans 86,9% (246/283) des extraits d'ADN. **La mutation Ser91Phe conférant la résistance aux fluoroquinolones est détectée dans 50,4% (124/246) des prélèvements positifs à gonocoque**. Les résultats obtenus par la trousse Speedx des 283 échantillons testés sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau. Résultats de la résistance aux fluoroquinolones obtenus par PCR SpeeDx pour les 283 échantillons positifs à gonocoque dans le cadre de l'étude Remind/Mémodépistages.

Région	N. gonorrhoeae détecté			Total
	Mutation Ser91Phe	Souche sauvage	Statut indéterminé	
Ile de France	95 / 192 (49,5%)	76 (39,6%)	21	192
Lyon	18 / 34 (52,3%)	14 (41,1%)	2	34
Montpellier	8 / 13 (61,5%)	4 (30,7%)	1	13
Marseille	3 (42,8%)	4 (57,1%)	0	7
Total	124/246 (50,4%)	98/246 (39,8%)	24/246 (9,8%)	246

- Exploration de la résistance aux β -lactamines pour *N. gonorrhoeae* à Saint-Louis

La PCR et amplification du gène *penA* a permis le séquençage et l'analyse du gène pour 26,9% (76/283) des échantillons. La répartition des allèles dans la population a été représentée dans la figure ci-dessous.

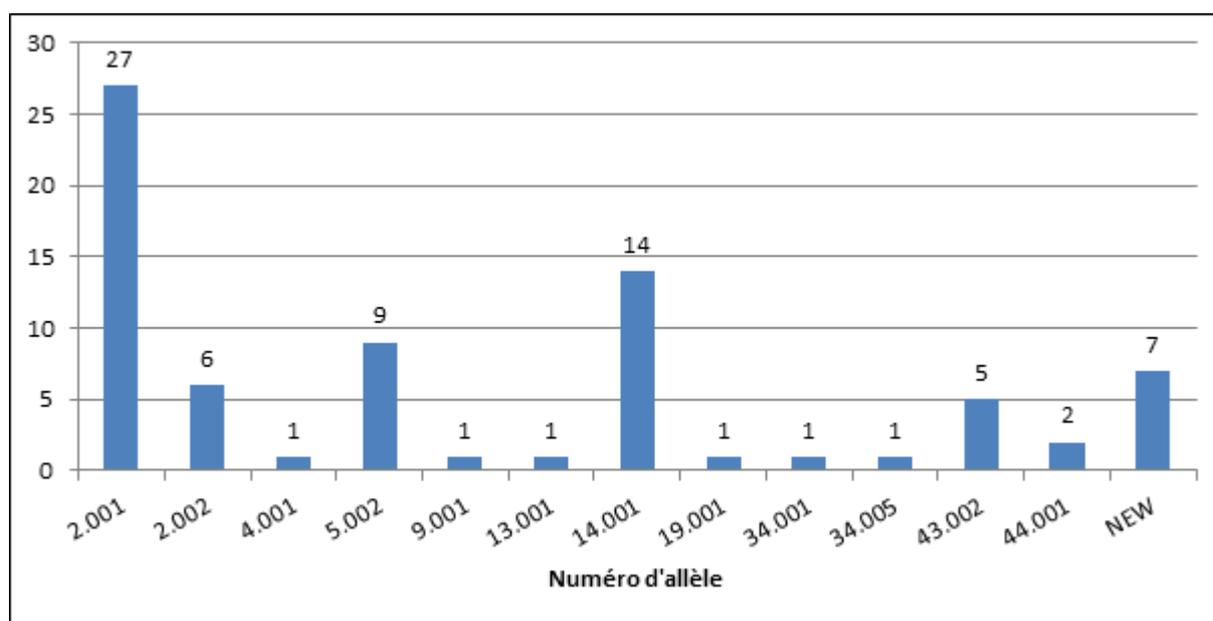


Figure. Répartition des allèles *penA* obtenus dans les prélèvements positifs à gonocoque de l'étude REMIND

Parmi les échantillons analysés, 2 allèles mosaïques ont été identifiés, les allèles *penA*-34.001 et *penA*-34.005 (PLP2 mosaïque) évoquant la circulation du clone de sensibilité diminuée aux C3G dans cette population.

Les 3 allèles les plus représentés dans la population sont les allèles *penA*2.001, *penA*14.001 et *penA*5.002, retrouvés communément en France, lors des enquêtes ENGON2018 et ENGON2019 comme indiqué dans la figure ci-dessous.

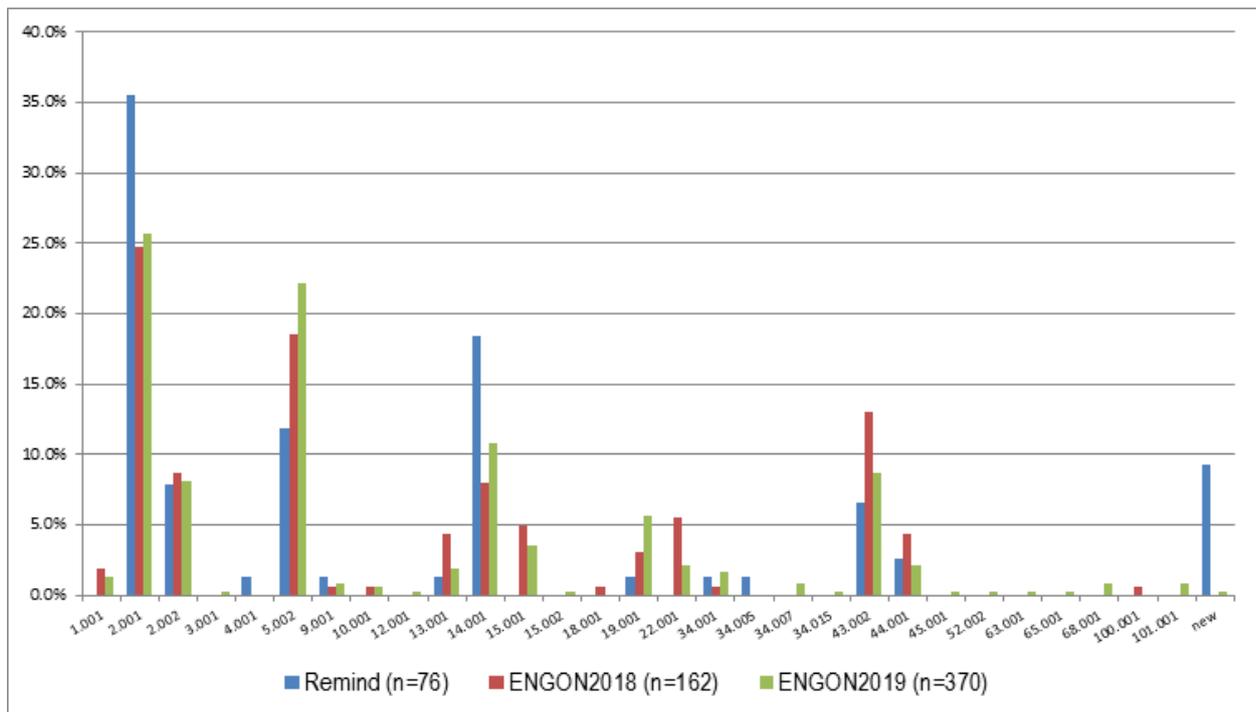


Figure. Comparaison des allèles *penA* dans l'étude REMIND, les enquêtes ENGON2018 et ENGON2019

- Exploration des prélèvements positifs à *M. genitalium*

Cette partie a été décrite dans le rapport 2019. Lors de l'envoi du 2ème kit, la recherche de *M. genitalium* a été réalisée à partir de 31 échantillons positifs à *M. genitalium* (16 anus, 9 urines et 6 gorges) collectés de 28 patients. Sur les 15 échantillons qui ont pu être amplifiés, 13 hébergeaient une souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides. Pour les fluoroquinolones, sur les 30 échantillons amplifiés par la PCR de la QRDR **parC**, tous hébergeaient une souche sauvage de *M. genitalium* à l'exception d'un seul.

L'ensemble de ce travail est en cours de rédaction pour publication.

6.1.2 Prévalence des infections à HPV et des IST bactériennes chez des femmes HIV-positives et HIV-négatives au Mali

Il s'agit d'une collaboration entre l'équipe de Vincent Calvez et Anne-Geneviève Marcellin, unité INSERM iPLESP, Sorbonne Université et APHP Pitié-Salpêtrière, au sein de l'AC 43 de l'ANRS et le CNR IST. Cette étude cross-sectionnelle vise à déterminer la **prévalence des infections à HPV, à HSV et des IST bactériennes (*C. trachomatis*, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae*) et de *T. vaginalis* dans une population de 44 femmes HIV-positives et de 96 femmes HIV-négatives à Sikasso, au Mali**. Les 3 IST bactériennes ont été diagnostiquées par le kit Allplex STI Essential Assay (Seegene®) à partir d'échantillons cervicaux. Les échantillons positifs à *M. genitalium* et à *N. gonorrhoeae* ont été envoyés au CNR à Bordeaux et à Saint-Louis pour recherche de résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones pour *M. genitalium* et aux bêta-lactamines et aux fluoroquinolones pour le gonocoque.

Une prévalence élevée d'infection HPV à haut risque de cancer (hrHPV) à 63% était associée à des lésions cervicales dans 7,5% des cas et une distribution hrHPV inhabituelle était retrouvée, les types HPV31, HPV56 et HPV52 étant les plus fréquents. La séroprévalence HSV-2 était de 49%, et la prévalence des autres IST comme suit : *C. trachomatis* 4%, *M. genitalium* 9%, *N. gonorrhoeae* 1% et *T. vaginalis* 7%. Cinq des 9 échantillons *M. genitalium*-positif et les souches de gonocoque obtenues étaient résistants aux fluoroquinolones. Aucun échantillon *M. genitalium*-positif n'était résistant aux macrolides et seule une souche de gonocoque avait une sensibilité diminuée aux céphalosporines (*penA* 19.01 variant).

En conclusion, cette étude montre **une prévalence élevée d'hrHPV et de résistance aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* et *N. gonorrhoeae***. Elle a fait l'objet d'une présentation sous forme de poster à l'ECCMID 2020 et vient d'être acceptée pour publication dans l'International Journal of Infectious Diseases.

6.1.3 Laboratoire CHU de Bordeaux

- Transfert de résistance aux antibiotiques par conjugaison chez *M. hominis*

L'objectif de ce projet de Master 2 Recherche réalisé par Charlotte Berthelot en 2019-2020 était de découvrir si les **éléments génétiques mobiles intégratifs et conjugatifs (ICE)** récemment découverts chez *M. hominis* (Meygret et al. *Frontiers in Microbiology*, 2019) étaient **fonctionnels**, c'est à dire s'ils sont capables de conjugaison entre deux cellules bactériennes.

Pour cela, deux types d'expérimentations ont été réalisées :

- Des expériences de conjugaison au sein de l'espèce *M. hominis* mettant en présence deux souches de *M. hominis*, l'une portant un ICE et l'autre n'en portant pas.
- Des expériences de conjugaison entre l'espèce *M. hominis* et l'espèce *M. agalactiae* qui est une espèce de mycoplasme animal, phylogénétiquement proche de *M. hominis* pour laquelle la capacité de conjugaison grâce aux ICEs a été démontrée.

Plusieurs conditions de transformation ont été testées en faisant varier les souches utilisées, la phase de croissance des bactéries, les ratios de concentration des souches en présence, les concentrations d'antibiotique utilisées et l'addition de PEG. Malheureusement, aucun transfert conjuguatif n'a pu être mis en évidence. Néanmoins, ne disposant pas à ce jour de souche de *M. hominis* avec un ICE lui-même marqué par un marqueur de résistance aux antibiotiques, il reste difficile de détecter les éventuels phénomènes de conjugaison. Des expérimentations de transformations bactériennes sont actuellement en cours au laboratoire pour tenter de produire une souche de *M. hominis* ayant intégré le gène *tet(M)* de résistance aux tétracyclines au sein de son ICE.

- Etude moléculaire du gène *ompA* des échantillons positifs pour une souche *C. trachomatis* L de HSH

En juin 2019, une alerte a été publiée par le **Portugal** à propos de **cas LGV causés par une souche de *C. trachomatis* L recombinante**. En effet, depuis 2017, 25 cas de LGV affectant principalement des HSH VIH-positifs, ont été causés par une souche de génovar L recombinante présentant une séquence *ompA* hybride L2-L2b / D-Da et une séquence *pmpH* de génovar L. L'analyse du génome entier a révélé une structure du génome chimérique due au transfert par recombinaison du gène *ompA* et de quatre gènes voisins d'une souche de génovar D/Da à une souche de génovar L.

En raison du risque potentiel de propagation internationale de cette souche recombinante, deux études ont été menées par le CNR afin de surveiller la circulation des variants responsables de LGV :

Dans un premier temps le CNR a comparé la séquence du gène *ompA* de toutes les souches de *C. trachomatis* isolées de HSH VIH-positifs en 2018 et identifiées de génovar L par la PCR en temps réel ciblant la *pmpH*, à la séquence *ompA* hybride L2-L2b / D-Da décrite et avec les séquences L2, L2b et L2b variants disponibles dans GenBank.

Au total, 184 échantillons anorectaux LGV-positifs correspondaient aux critères de sélection. Le gène *ompA* a été séquencé avec succès pour 146 échantillons. La plupart avaient des séquences *ompA* identiques à celles des souches de référence *C. trachomatis* L2 / 434 / Bu (41,7%, 61/146) et L2b / UCH-1 / proctitis (36,3%, 53/146). Nous avons également identifié plusieurs génovariants: 27 (18,4%) variants L2b (quatre déjà décrits et deux nouveaux, L2b C340G (GenBank MW653320) et L2b A997G (GenBank MW653319)), deux (1,3%) variants L2 (L2h et un nouveau variant L2 avec substitution G868A (GenBank MW653321)) et six (4,1%) variants hybrides L2b / D-Da. Un échantillon appartenait au génotype L1. Parmi les six patients infectés par le variant hybride, un seul présentait une IST concomitante (syphilis active). D'un point de vue géographique, il n'y avait aucune preuve d'un cluster car les spécimens provenaient de quatre villes françaises différentes. Les patients ont déclaré avoir été infectés en France et non à l'étranger.

Ce travail a fait l'objet d'une publication, « Towards the spread of the new L2b/D-Da hybrid *Chlamydia trachomatis* strain in men who have sex with men in France? Carrer M, de Barbeyrac B, Laurier-Nadalié C, Bébéar C, Touati A, Peuchant O. *Clin Infect Dis*. 2021 Mar 21:ciab253. doi: 10.1093/cid/ciab253 et d'une communication affichée au STI & HIV 2021 World Congress 14-17 juillet 2021.

- Etude moléculaire du gène *ompA* des échantillons positifs pour une souche *C. trachomatis* L au sein de l'enquête Anachla 2020

Sur les 163 échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* typés L de l'enquête Anachla, 127 échantillons ont pu être typés, dont 125 confirmés L par séquençage du gène *ompA*. Comme pour notre étude précédente, la répartition montre une prédominance du génovar L2 (n=80, 64%) suivi du génovar L2b (n=15, 12%). Nous avons identifié deux

(1,6%) variants L2 (L2h), 12 (9,6%) variants L2b (quatre déjà décrits et un nouveau L2b C517A, G820A), et quatre (3,2%) variants hybrides L2b / D-Da. Deux échantillons (1,6%) présentaient une séquence *ompA* identique au variant L1 MN563611.1, (figure ci-dessous).

Ce travail a fait l'objet du stage de Master 1 de Violette Dufour en 2021.

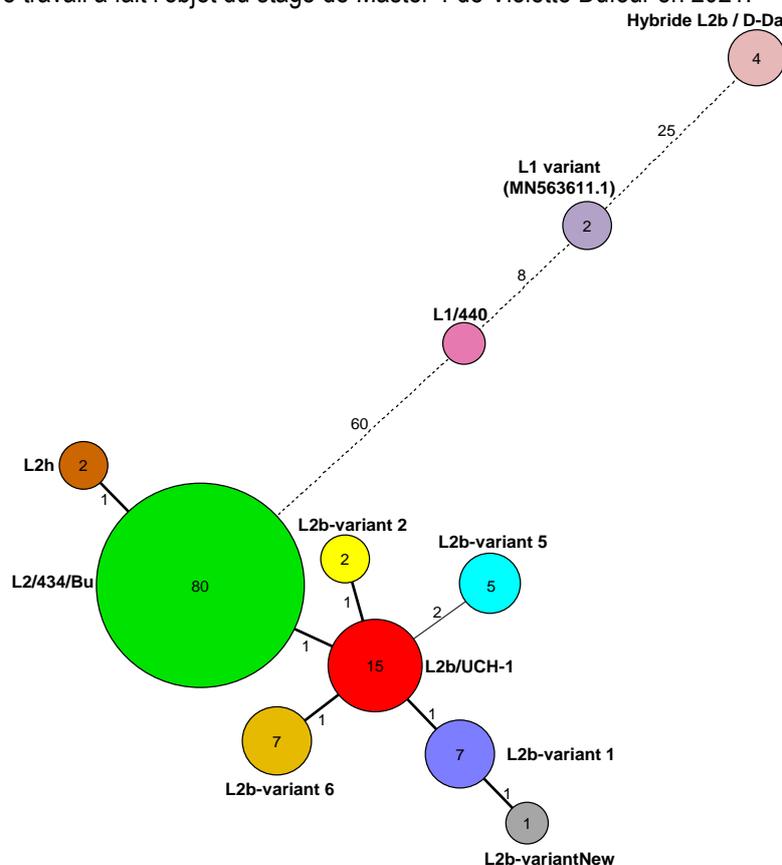


Figure. Minimum spanning tree représentant les 125 échantillons cliniques positifs à *C. trachomatis* en fonction de la séquence du gène *ompA* comparée à celle de la souche de référence L2/434/Bu. Chaque cercle représente un génovar ou un variant de génovar. La taille d'un cercle est proportionnelle au nombre des échantillons appartenant à un génovar ou variant. La longueur des branches reflète le nombre de SNP distincts entre les cercles. L'arbre est représenté en échelle logarithmique, réalisé avec le logiciel BioNumerics V7.6.

- PHRC national I-Predict

Dépistage précoce et traitement des infections à *C. trachomatis* chez les jeunes femmes pour prévenir les infections génitales hautes : un essai de prévention randomisé (i-PREDICT)

Cet essai clinique rentre dans le cadre de la cohorte i-Share (www.i-share.fr, IDEX Bordeaux) portée par l'Université de Bordeaux en collaboration avec l'Université de Versailles Saint-Quentin (UVSQ) et l'Inserm depuis 2013. L'objectif principal de cette cohorte est d'étudier les maladies dont les IST (coordination Didier Guillemot et Elisabeth Delarocque-Astagneau, GH Raymond Poincaré, APHP, UMR 1181 Inserm/Institut Pasteur/UVSQ), les comportements à risque et la santé de 30 000 étudiants sur 10 ans.

Cette cohorte devrait permettre d'évaluer l'efficacité du dépistage et du traitement de l'infection à *C. trachomatis* dans la prévention des complications chez les femmes de moins de 25 ans, et d'améliorer la connaissance de l'histoire naturelle de la maladie et de ses complications lors d'un essai clinique de prévention randomisé appelé i-PREDICT, financé par le PHRC national 2015. Des étudiantes âgées de 18 à 24 ans participant à la cohorte I-Share et provenant des Universités de Bordeaux, Versailles Saint-Quentin, Nice Sophia Antipolis et Paris intra-muros, sont suivies sur une période de 2 ans et incluses dans 2 bras, un bras contrôle, non dépisté avec conservation des échantillons, et un bras intervention dépisté et traité, avec analyse des échantillons et rendu des résultats positifs. Le CNR en tant que principal co-investigateur assure toute la logistique des échantillons vaginaux, réalise les tests diagnostiques CT/NG et participe à l'analyse des résultats. Les inclusions ont commencé en janvier 2016 et se sont terminées le 10/01/2020. **Au total 546 étudiantes ont été incluses dans le bras intervention et 547 dans le bras témoin.**

Dans le bras intervention, le taux de positivité de *C. trachomatis* est de 2,59% (14/541) à l'inclusion, de 1,82% (8/440) à M6, de 0,74% (3/408) à M12 et 0,53% (2/379) à M18. Dans le bras témoin pour les suivis terminés, le taux de positivité est de 3% (18/522) à l'inclusion, 3% (14/436) à M6, 3% (12/397) à M12 et 2% (9/379) à M18. Aucun diagnostic de *N. gonorrhoeae* n'a été fait à ce jour. A ce jour, 518 femmes incluses ont effectué leur visite finale.

- PHRC national Chlazidoxy (voir résultats non publiés)

6.1.4 Laboratoire APHP Saint-Louis

- La résistance antimicrobienne des gonocoques en France en 2013-2017 et les caractéristiques cliniques et épidémiologiques associées

Les IST à gonocoque sont en augmentation avec 91 diagnostics/100000 habitants en 2016 en France (3,3 fois plus qu'en 2012). En Europe, le pic de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) a été atteint en 2010 pour le céfixime (9%), entraînant une révision des recommandations de traitement des IST à gonocoque par ceftriaxone 500 mg plus azithromycine 1-2g. Les précédentes données Rénago montraient une augmentation d'un facteur 4 de la résistance au céfixime pour *N. gonorrhoeae* de 2011 à 2012.

L'objectif de notre travail était **d'actualiser les données de résistance du gonocoque en France.**

Les données des réseaux de laboratoires Rénago (2013-2017) et Solist étaient recueillies par Santé publique France. Les souches isolées par les laboratoires étaient envoyées au CNR pour la détermination des CMI au céfixime (CFM), ceftriaxone (CRO), azithromycine (AZM), tétracycline (TCY), ciprofloxacine (CIP). Le cut-off épidémiologique (Ecoff) de la CRO (0,032mg/L) (CMI >Ecoff ou ≤Ecoff) a été étudié en fonction des caractéristiques épidémiologiques des patients. Une régression logistique a été réalisée par Santé publique France (logiciel Stata v.14).

Entre 2013 et 2017, 4934 isolats de *N. gonorrhoeae* ont été caractérisés, la plupart isolés d'hommes (84,2%-4155/4934). La proportion de patients symptomatiques était 54,6% (2695/4934) et celle des patients ayant une autre IST était 14,2% (699/4934). Les souches avec CMI-CRO>Ecoff étaient significativement moins fréquentes depuis 2014 (aOR[95%CI]=0.27[0.09-0.79],p=0.017). Elles étaient significativement plus fréquentes dans les laboratoires du Nord de la France (aOR=1.78[1.22-2.61],p=0.003), chez les patients en CeGIDD vs. secteur privé (aOR=1.79 [1.24-2.56], p=0.002) et en cas de corésistances à CIP (aOR=5.86[2.43-14.09],p<0.005), TCY (aOR=9.85[1.28-75.72],p=0.028) et CFM (aOR=55.22[33.29-91.61],p<0.005).

Nos résultats montrent une **diminution de la résistance de *N. gonorrhoeae* aux C3G** depuis 2013 et une **augmentation de la résistance à l'AZM (>5%)**, ce qui remet en question sa place dans la bithérapie. Avec un taux de résistance <5%, la CRO est le seul agent efficace en probabiliste. Les données sont cohérentes avec les observations européennes. Elles seront à comparer aux données de surveillance du gonocoque des enquêtes ENGON depuis 2017 qui ont l'avantage de coupler données cliniques/épidémiologiques, données de résistance et données génomiques des souches

Ces travaux sont en cours de relecture pour publication et ont été présentés à la RICAI 2020.

- Exploration des souches de gonocoque résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération sur la période 2008-2020 par NGS. Ces travaux qui font partie des travaux de thèse de Thibaut Poncin sont détaillés dans la partie des résultats non publiés.

6.1.5 Laboratoire APHP Cochon

- Evaluation des souches de *T. pallidum* résistantes à l'azithromycine provenant de La Réunion

Dans le cadre du protocole GENOSYPH, le CNR a analysé 129 échantillons d'ulcérations génitales et muqueuses dont 18 étaient positifs par nPCR (*tp47*) provenant de La Réunion. Seulement 7 échantillons ont pu être amplifiés pour le gène de l'ARN 23S. Tous les 7 échantillons présentaient la mutation A2058G responsable de la résistance à l'azithromycine.

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans Ann Dermatol Venereol en 2021.

- Etude rétrospective multicentrique Neurocef

L'étude NeuroCef, ceftriaxone vs pénicilline G pour le traitement de la neurosyphilis, a été menée pendant l'année 2019 sur 8 centres. Nous avons pu réunir 207 cas de neurosyphilis dont 42 traités par ceftriaxone et 165 par pénicilline G.

Introduction

La benzylpénicilline par voie intraveineuse est le gold standard pour le traitement de la neurosyphilis précoce mais requiert une hospitalisation prolongée. Le traitement alternatif est la ceftriaxone mais son efficacité demeure débattue.

Méthodes

Nous avons réalisé une étude rétrospective multicentrique dans 8 centres tertiaires français de 1997 à 2017. Les centres investigateurs sont des Services des Maladies Infectieuses et Tropicales qui ont été coordonnés par le CNR : centres APHP, Hôpital Saint-Louis (Pr. Molina), Bichat (Pr. Ghosn), Necker (Dr. Charlier), Cochin (Prs Terrier et Dupin, Dr Régent) ; centres en province, CHU de Rennes (Pr Tattevin), de Bordeaux (Pr Cazanave), de Toulouse (Pr Martin-Blondel et Dr. Jourdes), de Tourcoing (Drs Alcaraz et Robineau). La neurosyphilis précoce incluait les formes cliniques suivantes : uvéites, otosyphilis, méningites, vasculites cérébrales et formes parenchymateuses et paralysies faciales. Les patients étaient classés en deux groupes en fonction du traitement reçu. Le critère de jugement principal était la réponse clinique globale (RG) un mois après l'initiation du traitement. Les critères de jugement secondaires étaient la réponse complète (RC) à 1 mois, la réponse sérologique à 6 mois et la durée d'hospitalisation. Un score de propension était réalisé.

Résultats

Deux cent sept patients ont été inclus (ceftriaxone, 42 et benzylpénicilline 165). Quarante et unes RG (98%) ont été observées dans le groupe ceftriaxone versus 125 (76%) dans le groupe pénicilline. Après pondération par le score de propension, les deux groupes différaient selon la RG (OR 1,22 [1,12-1,33], $p < 10^{-5}$), mais pas la RC (OR 1,08 [0,94-1,24], $p = 0,265$). La réponse sérologique ne différait pas dans les deux groupes (88% vs 82%, $p = 0,50$), mais la durée d'hospitalisation était plus courte dans le groupe ceftriaxone que dans le groupe pénicilline ($13,8 \pm 6,4$ vs $8,9 \pm 9,9$ jours, $p = 0,005$). La réponse en sous-groupe était également homogène.

En conclusion, cette étude suggère que **la ceftriaxone est aussi efficace que la benzylpénicilline pour traiter la neurosyphilis précoce et peut réduire la durée d'hospitalisation**. Plusieurs bénéfices potentiels en découlent. Tout d'abord, pour les patients allergiques à la pénicilline et sans contre-indication aux céphalosporines, la ceftriaxone pourrait représenter le traitement de première ligne. Ensuite, pour des patients prêts à un retour au domicile, la ceftriaxone permettrait de réduire la durée d'hospitalisation, et ainsi réaliser des économies et améliorer la qualité de vie. A l'opposé, le spectre antibactérien plus large expose à un risque accru d'émergence de résistances. Nous reconnaissons les limites de l'étude, principalement le design rétrospectif ainsi que le biais d'indication. Des essais prospectifs randomisés devraient être conduits pour confirmer ces résultats.

Ce travail a fait l'objet d'une publication parue **dans Lancet Infect. Dis.** en 2021.

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.2.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Publications nationales

B. de Barbeyrac, C. Laurier-Nadalié, A. Touati, S. Trombert, O. Peuchant, N. Nangro Ndeikoundam, C. Bébéar. 2021. Distribution des génotypes des souches urogénitales de *Chlamydia trachomatis* en France métropolitaine et outre-mer en 2017-2018. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire N° 4, 16 mars 2021.

S. Pereyre, C. Bébéar. 2020. Mycoplasmes urogénitaux : Quand les rechercher? Comment les traiter ? La lettre de l'infectiologue, 35, 4, 131-134.

- S. Pereyre, C. Bébéar. *Mycoplasma genitalium* : en route vers la multi-résistance ! Revue Francophone des laboratoires 2021, 530, 22-28.

- O. Peuchant, C. Bébéar. Infections sexuellement transmissibles à *Chlamydia trachomatis*. Revue Francophone des laboratoires 2021, 530, 2-38. 530, 29-37.

Publications internationales

S. Fouéré, C. Cazanave, M. Hélyary, N. Dupin, P. Tattevin, C. Bébéar, M. Beylot-Barry, J. M. Molina, O. Chosidow, A. Riché, B. Berçot. 2021. Update on French recommendations for the treatment of uncomplicated *Neisseria gonorrhoeae* infections". Int J STD & AIDS, sous presse.

M. Carrer, B. de Barbeyrac, C. Laurier-Nadalié, C. Bébéar, A. Touati, O. Peuchant. 2021. Towards the spread of the new L2b/D-Da hybrid *Chlamydia trachomatis* strain in men who have sex with men in France? Clin Infect Dis. Mar 21:ciab253.

S. Jacobsson, M.J. Cole, G. Spiteri, M. Day, M. Unemo; Euro-GASP Network. 2021 Associations between antimicrobial susceptibility/resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in European Union/European Economic Area and patients' gender, sexual orientation and anatomical site of infection, 2009-2016. BMC Infect Dis. 21(1):273.

C. Le Roy, C. Bébéar, S. Pereyre. 2021. Performance of three commercial molecular diagnostic assays for the simultaneous detection of *Mycoplasma genitalium* and macrolide Resistance. J Clin Microbiol. 2021 Mar 17.

C. Le Roy, A. Touati, C. Balcon, J. Garraud, J.-M. Molina, B. Berçot, B. de Barbeyrac, S. Pereyre, O. Peuchant*, C. Bébéar*, *co-last authors. 2021. Identification of 16S rRNA mutations in *Mycoplasma genitalium* potentially associated with tetracycline resistance in vivo but not selected in vitro in *M. genitalium* and *Chlamydia trachomatis*. J. Antimicrob. Chemother. 2021, dkab016. doi: 10.1093/jac/dkab016.

J. Guiraud, M. Lounnas, A. Boissière, C. Le Roy, E. Elguero, A.L. Banuls, C. Bébéar, S. Godreuil, S. Pereyre. 2021 Lower *mgpB* diversity in macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* infecting men visiting two sexually transmitted infection clinics in Montpellier, France. J. Antimicrob. Chemother. 76 : 43-47.

P.A. Grange, A. Jary, C. Isnard, S. Burrel, D. Boutolleau, A. Touati, C. Bébéar, J. Saule, P. Martinet, J.L. Robert, D. Moulene, A. Vermersch-Langlin, N. Benhaddou, M. Janier, N. Dupin. 2021. Use of a multiplex PCR assay to assess the presence of *Treponema pallidum* in mucocutaneous ulcerations in patients with suspected syphilis. J. Clin. Microbiol. 59:e01994-20.

B. Berçot, I. Charreau, R. Clotilde, C. Delaugerre, C. Chidiac, G. Pialoux, C. Capitant, N. Bourgeois-Nicolaos, F. Raffi, S. Pereyre, C. Le Roy, E. Senneville, L. Meyer, C. Bébéar, J. M. Molina. 2020. High prevalence and high rate of antibiotic resistance of *Mycoplasma genitalium* infections in men who have sex with men. A sub-study of the ANRS Ipergay PrEP Trial. Clin. Infect. Dis. 11:ciaa1832.

M. Ducours, S. El-Hout, A. Desclaux, H. Dutronc, T. Deltombe, T. Fauthoux, F. Vercruysee, M. Kostine, C. Cazanave. 2020. Short duration antibiotic therapy for native joint arthritis caused by *Neisseria* infection? Ann. Rheum. Dis. 218835.

J.L. Brun, B. Castan, B. de Barbeyrac, C. Cazanave, A. Charvériat, K. Faure, S. Mignot, R. Verdon, X. Fritel, O. Graesslin; CNGOF; SPILF. 2020. Pelvic inflammatory diseases : updated french guidelines. J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.49(5) : 101714.

A. Touati, C. Laurier-Nadalié, C. Bébéar, O. Peuchant, B. de Barbeyrac. 2020. Evaluation of four commercial real-time PCR assays for the detection of Lymphogranuloma venereum in *Chlamydia trachomatis*-positive anorectal samples. Clin Microbiol Infect. 2020 Aug 6:S1198-743X(20)30448-1.

O. Peuchant, A. Touati, C. Laurier, N. Hénin, C. Cazanave, C. Bébéar, B. de Barbeyrac. 2020. Prevalence of lymphogranuloma venereum among anorectal *Chlamydia trachomatis*-positive men who have sex with men using pre-exposure prophylaxis. Sex Transm Infect. Apr 17:sextrans-2019-054346.

M. Mehlen, V. Saunier, B. de Barbeyrac, T. Gaboriau, C. Bébéar, B. Berçot, C. Castor, D. Levesque, C. Cazanave, M. Puges. Keep an eye on *Neisseria gonorrhoeae*. Clin Microbiol Infect. 2020 Mar 7. pii: S1198-7432(20)30144-0.

C. Legouy, A. Hu, F. Mochel, N. Weiss, A. Collin, S. Pereyre, M. Perrin, N. Engrand. 2020. *Ureaplasma parvum* causes hyperammonemia presenting as refractory status epilepticus after kidney transplant. J Crit Care. 57:79-83.

C. Le Roy, C. Bébéar, S. Pereyre. 2020. Clinical evaluation of three commercial PCR assays for the detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium*. J. Clin. Microbiol. 28;58(2). pii: e01478-19.

Communications nationales

S. Pereyre, C. Laurier-Nadalié, M. Gardette, N. Hénin, C. Le Roy, C. Bébéar. 2020. Résistance de *Mycoplasma genitalium* en métropole et outre-mer en 2019. 40^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 14-15 décembre, Paris. Poster.

C. Le Roy, C. Bébéar, S. Pereyre. 2020. Evaluation of new *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance detection kits. 40^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 14-15 décembre, Paris. Poster.

T. Poncin, D. Viriot, F. Caméléna, A. Goubard, V. Courbin, H. Jacquier, C. Bébéar, F. Lot, B. Berçot, N. Ndeikoundam. 2020. Gonococcies en France : données démographiques et antibiorésistance (2013-2017). 40^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 14-15 décembre, Paris. Poster.

Communications internationales

A. Jary, I. Teguate, Y. Sidibé, A. Kodio, O. Dolo, S. Burrel, D. Boutolleau, B. Berçot, C. Bébéar, L. Beauvais-Remigereau, S. Sayon, M. Kampo, F. Traoré, M. Sylla, C. Achenbach, R. Murphy, V. Calvez, A. Marcelin, A. Maiga. 2020. Human papillomavirus and other sexually transmitted infection prevalence among HIV-infected and HIV-uninfected women in Sikasso, Mali. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 April, Paris. Poster. Reporté en 2021.

B. Berçot, A. Braille, D. Carrette, I. Charreau, N. Schnepf, C. Delaugerre, L. Cotte, C. Bébéar, P. Gilles, C. Capitant, F. Raffi, J.M. Molina. 2020. Molecular resistance to tetracyclines of *Neisseria gonorrhoeae* among men who have sex with men using post-exposure prophylaxis with doxycycline. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 April, Paris. Poster. Reporté en 2021.

A. Braille, M. Mainardis, M. Merimèche, T. Poncin, D. Viriot, N. Schnepf, H. Jacquier, C. Bébéar, J.M. Molina, F. Lot, N. Ndeikoundam, B. Berçot. 2020. National survey of *Neisseria gonorrhoeae* isolates by whole genome sequencing in France in 2018. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 April, Paris. Poster. Reporté en 2021.

B. Rivaya, C. Le Roy, G. Fernández-Rivas, C. Casañ, V. González, L. Matas, C. Bébéar, S. Pereyre. 2020. Comparison of ResistancePlus MG and pyrosequencing for macrolide resistance detection in *Mycoplasma genitalium* and evaluation of macrolide and fluoroquinolone resistance in Badalona, Spain. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 April, Paris. Poster. Reporté en 2021.

Conférences sur invitation

C. Bébéar. 2020. Infections sexuellement transmissibles bactériennes. G10 du VIH. 10 décembre 2020. Paris, France.

C. Bébéar. 2020. *Chlamydia trachomatis* & urogenital mycoplasmas: lessons from vaginal metagenomics. International Intracellular Bacteria meeting 24-27 August, Lausanne, Switzerland. Reporté en 2021.

C. Bébéar. 2020. Molecular testing for genital mycoplasmas and ureaplasmas warranted in asymptomatic individuals? 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 18-21 April, Paris, France. Reporté en 2021.

C. Bébéar. 2020. IST: tests diagnostiques multiplexes et POC. Berçot B. Le point sur les IST bactériennes : Les résistances. Journées "PrEP-IST-Santé sexuelle", Reporté aux 30-31 mars 2021.

C. Bébéar. 2020. Actualités IST bactériennes (diagnostic, traitement, vaccins). VIH : complications et comorbidités, Saint-Malo. Reporté en 2021.

6.2.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Publications nationales

S. Fouéré, A. Bertolotti, B. Berçot, GrIDIST. 2020. Traitement des infections à *Neisseria gonorrhoeae* en France : état des lieux des pratiques et comparaison avec les recommandations européennes et internationales. Annales de Dermatologie et de Vénérologie Vol 147 - N° 12S P. A291-A292.

A. Saib, N. Bouscaren, B. Berçot, M. Rodolphe, A. Duchateau, P. Poubeau, R. Rodet, G. Wartel, S. Iacobelli, A. Bertolotti. 2020. Prévalence et facteurs de risque de l'infection à gonocoque en centre de dépistage à la Réunion, une étude transversale multicentrique. Annales de Dermatologie et de Vénérologie Vol 147 - N° 12S, P. A287.

Publications internationales

H. Jacquier, G. Miltgen, D. Hoarau, S. Kumanski, O. Rollot, S. Bruniquet, NN Ndeikoundam, G. Li Pat-Yuen, O. Belmonte, B. Berçot, B. Roquebert. 2020. Molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates in

Reunion and Mayotte. *Sex Transm Infect.* May 4.

M. Mehlen, V. Saunier, B. de Barbeyrac, T. Gaboriau, C. Bébéar, B. Berçot, C. Castor, D. Levesque, C. Cazanave, M. Puges. Keep an eye on *Neisseria gonorrhoeae*. 2020 *Clin Microbiol Infect.* 26:1183-1184.

S. Atallah, B. Berçot, V. Laurence, C. Hoffmann. Association of *Mycoplasma hominis* and head and neck cancer with unknown primary. 2020. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 137:69-71.

O.A. Itodi, D. Viriot, A. Velter, L. Leon, N. Dupin, B. Berçot, A. Goubard, F. Lassau, S. Fouéré, P. Martinet, W. Tosinin, S. Florence; Referents for the regional offices of the French national public health agency (Santé Publique France), F. Lot, N. Ndeikoundam Ngangro. 2020. Trends and determinants of condomless sex in gonorrhoea patients diagnosed in France through the sentinel surveillance network ResIST, 2005-2014. *BMC Public Health.* 220:1620.

B. Berçot, I. Charreau, C. R. Rousseau, C. Delaugerre, C. Chidiac, G. Pialoux, C. Capitant, N. Bourgeois-Nicolaos, F. Raffi, S. Pereyre, C. Le Roy, E. Senneville, L. Meyer, C. Bébéar, J.M. Molina. 2020. High Prevalence and High Rate of Antibiotic Resistance of *Mycoplasma genitalium* Infections in Men who Have Sex with Men. A Sub-Study of the ANRS Ipergay PrEP Trial. *Clin Infect Dis.* ciaa1832.

R. Hadad, M. J. Cole, E. Ebeyan, S. Jacobsson, L. Y. Tan, D. Golparian, S. Erskine, M. Day, D. Whiley, M. Unemo; European collaborative group. 2021. Evaluation of the SpeedX ResistancePlus® GC and SpeedX GC 23S 2611 (beta) molecular assays for prediction of antimicrobial resistance/susceptibility to ciprofloxacin and azithromycin in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother.* 76:84-90.

M. Unemo, J. Ahlstrand, L. Sánchez-Busó, M. Day, D. Aanensen, D. Golparian, S. Jacobsson, M. J. Cole, R. A. Torreblanca, L. R. Ásmundsdóttir, E. Balla, I. De Baetselier, B. Berçot, A. Carannante, D. Caugant, M. J. Borrego, S. Buder, R. Cassar, M. Cole, A. Dam, C. Eder, S. Hoffmann, B. Hunjak, S. Jeverica, V. Kirjavainen, P. Maikanti-Charalambous, V. Miriagou, B. Mlynarczyk-Bonikowska, G. Pakarna, L. Patterson, P. Pavlik, M. Perrin, J. Shepherd, P. Stefanelli, M. Unemo, V. Jelena, H. Zákoucká. 2021. High susceptibility to zoliflodacin and conserved target (GyrB) for zoliflodacin among 1209 consecutive clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates from 25 European countries, 2018. *J Antimicrob Chemother.* Feb 10:dkab024.

C. Le Roy, A. Touati, C. Balcon, J. Garraud, J.-M. Molina, B. Berçot, B. de Barbeyrac, S. Pereyre, O. Peuchant*, C. Bébéar*, *co-last authors. 2021. Identification of 16S rRNA mutations in *Mycoplasma genitalium* potentially associated with tetracycline resistance in vivo but not selected in vitro in *M. genitalium* and *Chlamydia trachomatis*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2021 Feb 4;dkab016. doi: 10.1093/jac/dkab016.

Jacobsson S, Cole MJ, Spiteri G, Day M, Unemo M; Euro-GASP Network. 2021. Associations between antimicrobial susceptibility/resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in European Union/European Economic Area and patients' gender, sexual orientation and anatomical site of infection, 2009-2016. *BMC Infect Dis.* 21:273.

S. Fouéré, C. Cazanave, M. Hélarly, N. Dupin, P. Tattevin, C. Bébéar, M. Beylot-Barry, J. M. Molina, O. Chosidow, A. Riché, B. Berçot. 2021. Update on French recommendations for the treatment of uncomplicated *Neisseria gonorrhoeae* infections". *Int J STD & AIDS*, sous presse.

Communications nationales

T Poncin *, H Mouhim-Escaffre, N Reydellet, C Ségouin, S Fouéré, F Caméléna, H Jacquier, V Courbin, E Plenel, JM Molina, Ml Chaix, C Delaugerre, B Berçot. 2020. Dépistage décentralisé de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* - Checkpoint, Le-Marais, Paris. Communication orale C0-033. 40^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, décembre 2020, Paris.

T. Poncin, D. Viriot, F. Caméléna, A. Goubard, V. Courbin, H. Jacquier, C. Bébéar, F. Lot, B. Berçot, N. Ndeikoundam Ngangro. 2020. Gonococcies en France : données démographiques et antibiorésistance (2013-2017). Poster, 40^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, décembre 2020, Paris.

Communications internationales

A. Jary, I. Teguate, Y. Sidibé, A. Kodio, O. Dolo, S. Burrel, D. Boutolleau, B. Berçot, C. Bébéar, L. Beauvais-Remigereau, S. Sayon, M. Kampo, F. Traoré, M. Sylla, C. Achenbach, R. Murphy, V. Calvez, A. Marcelin, A Maiga. 2020. Human papillomavirus and other sexually transmitted infection prevalence among HIV-infected and HIV-uninfected women in Sikasso, Mali. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 April, Paris. Poster. Reporté en 2021.

B. Berçot, A. Braille, D. Carrette, I. Charreau, N. Schnepf, C. Delaugerre, L. Cotte, C. Bébéar, P. Gilles, C. Capitant, F. Raffi, J.M. Molina. 2020. Molecular resistance to tetracyclines of *Neisseria gonorrhoeae* among men who have sex with men using post-exposure prophylaxis with doxycycline. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 avril, Paris. Poster. Reporté en 2021.

A. Braille, M. Mainardis, M. Merimèche, T. Poncin, D. Viriot, N. Schnepf, H. Jacquier, C. Bébéar, J.M. Molina, F. Lot, N. Ndeikoundam, B. Berçot. 2020. National survey of *Neisseria gonorrhoeae* isolates by whole genome sequencing in France in 2018. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 April, Paris. Poster. Reporté en 2021.

H. Jacquier, G. Miltgen, D. Hoarau, O. Rollot, S. Bruniquet, N. Ndeikoundam, S. Kumanski, G. Ly Pat Yuen, O. Belmonte Garcia, B. Berçot, B. Roquebert. 2020. Molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates in Reunion and Mayotte: lessons from the study of island populations. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 18-21 April, Paris. Poster. Reporté en 2021.

Conférences sur invitation

B. Berçot. High-Level Ceftriaxone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Isolates in France (Period 2010-2020) *NgoRS virtual Conference*, 21-24 October 2020. University of Iowa.

J.M. Molina. Understanding and addressing the HIV and STI syndemics in the COVID-19 era. STIs in the era of PrEP and U=U. AIDS 2020 Virtual conference. July 8, 2020.

J.M. Molina. STIs in the era of PrEP. SADI Congress with Latin America IAS November 26-2020.

J.M. Molina. HIV Research for Prevention Conference (R4P). Speed debating and STIs: Post- and pre-exposure prophylaxis for STIs: Unwise in a time of antibiotic resistance. Virtual Conference, February 2021.

B. Berçot. Outils de diagnostics (POC tests et tests moléculaires de résistance). *Journées scientifiques organisées par l'ANRS (Agence nationale de recherches sur le sida et les hépatites virales)*. 21 janvier 2020, Paris.

B. Berçot. L'épidémiologie et la résistance des IST en 2020 : évolution vers des IST bactériennes intraitables. *Journées de Biologie Clinique Necker - Institut Pasteur*, Institut Imagine, 21 janvier 2020, Paris.

B. Berçot. Approche syndromique des infections sexuellement transmissibles. *Congres BiomedJ*, Hopital Necker, 5 6 mars 2020, Paris.

B. Berçot. 2020. Le point sur les IST bactériennes : Les résistances. *Journées "PrEP-IST-Santé sexuelle*, reporté au 30-31 mars 2021, congrès virtuel.

6.2.3 Laboratoire APHP Cochin

Publications nationales

N.Benhaddou, P.Grange, N.Dupin. 2021. Syphilis : une infection toujours d'actualité, Revue Francophone des Laboratoires, N° 530.

Publications internationales

Sanchez A, Mayslish C, Malet I, Grange PA, Janier M, Saule J, Martinet P, Robert JL, Moulene D, Truchetet F, Pinault AL, Vermersch-Langlin A, Benhaddou N, Chanal J, Dupin N. Surveillance of antibiotic resistance genes in subspecies pallidum from patients with early syphilis in France. *Acta Dermatol Venereol*. In press.

Bettuzzi T, Jourdes A, Robineau O, Alcaraz I, Manda V, Molina JM, Mehlen M, Cazanave C, Tattevin P, Mensi S, Terrier B, Régent A, Ghosn J, Charlier C, Martin-Blondel G, Dupin N. (2021) Ceftriaxone compared with benzylpenicillin in the treatment of neurosyphilis in France: a retrospective multicentre study. *Lancet Infect Dis*. May 26, 2021 [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30857-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30857-4).

Bourgeois G, Grange P, Saint-Pastou Terrier C, Koumar Y, Manaquin R, Zemali N, Poubeau P, Dupin N, Jaubert J, Bertolotti A. (2021) Azithromycin resistance in *Treponema pallidum* in Reunion island: a cross-sectional study. *Ann Dermatol Venereol*. 16:S0151-9638(21)00015-6. doi:10.1016/j.annder.2020.12.003. Online ahead of print.PMID: 33608114

Grange PA, Jary A, Isnard C, Burrel S, Boutolleau D, Touati A, Bébéar C, Saule J, Martinet P, Robert JL, Moulene D, Vermersch-Langlin A, Benhaddou N, Janier M, Dupin N. (2021) Use of a multiplex assay to assess the presence of *Treponema pallidum* in mucocutaneous ulcerations in patients with suspected syphilis. J. Clin. Microbiol. 59:e01994-20.

Janier M, Unemo M, Dupin N, Tiplica GS, Potočnik M, Patel R. (2020) European guideline on the management of syphilis. J Eur Acad Dermatol Venereol. doi: 10.1111/jdv.16946. Online ahead of print. PMID: 3309452

Lampros A, Seta V, Gerhardt P, Isnard C, Husson C, Dupin N. (2020) Oral forms of secondary syphilis: an illustration of the pitfalls set by the great imitator. J Am Acad Dermatol. 24:S0190-9622(20)30705-2. doi: 10.1016/j.jaad.2020.04.089.

Sanchez A, Del Giudice P, Peneau A, Grange P, Dupin N, Hubiche T. (2020) A case of « early syphilis. Ann Dermatol Venereol. 147:127-130.

Lefevre C, Croué A, Abgueuen P, Letzelter M, Ducancelle A, Grange P, Benhaddou N, Dupin N, Le Guillou-Guillemette H, Le Clec'h C. (2020) Serological diagnosis of secondary syphilis in a Rituximab-treated patient: an emerging diagnosis challenge. J Eur Acad Dermatol Venereol. doi:10.1111/jdv.17126. Online ahead of print. PMID:33462864

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux

Le CNR IST bactériennes n'est pas concerné.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Evaluation de trousse diagnostiques

8.1.1 Evaluation de la trousse Aptima Combo 2 (AC2 nv) (Hologic)

L'objectif de cette étude sera d'évaluer les performances cliniques de la version mise à jour du **test Aptima Combo 2 (AC2 nv) (Hologic)** pour la détection de *C. trachomatis* sur des échantillons cliniques en comparaison avec le test AC2 précédemment commercialisé. Le test AC2 utilise la capture de cible, l'amplification médiée par la transcription (TMA) et la protection d'hybridation pour capturer, amplifier et détecter l'ARNr 23S de *C. trachomatis*. Cependant, de nouveaux variants de *C. trachomatis* (CT nvt) non détectés par ce test ont été signalés avec ce test, en raison de polymorphismes nucléotidiques dans le gène ARNr 23S de *C. trachomatis*. Cela a fait l'objet d'une alerte européenne en 2019. La version mise à jour d'AC2 a été conçue pour détecter les CT nvt. Cette trousse comprend une sonde supplémentaire ciblant une deuxième région de l'ARNr 23S de *C. trachomatis*.

Il s'agira d'une étude rétrospective réalisée sur 100 échantillons cliniques prélevés sur des patients symptomatiques et asymptomatiques :

- 69 échantillons négatifs pour *C. trachomatis* : i / 48 écouvillons vaginaux obtenus d'étudiantes incluses dans l'étude i-Predict entre septembre et octobre 2020 et testés avec le test AC2, ii / 11 urines collectées entre octobre et novembre 2020 au CNR IST, iii / 10 prélèvements anorectaux collectés au CNR IST en novembre 2020.

- 31 échantillons positifs pour *C. trachomatis* avec le test AC2 : i / 3 échantillons vaginaux collectés au CNR entre janvier et août 2020, ii / 5 écouvillons vaginaux obtenus d'étudiantes incluses dans l'étude i-Predict entre décembre 2019 et septembre 2020 et testés avec le test AC2, iii / 9 urines de première jet collectées au CNR entre juin et novembre 2020, iiiii / 14 prélèvements anorectaux collectés au CNR entre avril et juin 2020.

Les résultats seront comparés à ceux obtenus avec le test AC2. Tous les tests seront effectués sur le système Panther (Hologic), disponible à l'EA 3671 à l'Université de Bordeaux.

8.1.2 Evaluation de kits pour la détection de mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones chez *M. genitalium*

Suite à l'apparition d'un taux croissant de résistance aux fluoroquinolones chez *M. genitalium*, quelques kits sont en développement pour la détection des mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones dans le gène *parC*.

Nous nous proposons d'évaluer deux kits en comparaison avec la technique de référence qui consiste en l'amplification et le séquençage de la QRDR du gène *parC* :

- **Le kit MGMO qPCR, NYtor**, Pays Bas, à utiliser sur un thermocycleur Bio-Rad CFX96.
- **Le kit LightMix Modular parC fluoroquinolone resistance**, TIB MOLBIOL GmbH, Allemagne, à utiliser sur un thermocycleur Roche LightCycler 480.

Pour cela, 350 extraits d'ADN issus d'échantillons cliniques positif à *M. genitalium* et pour lesquels le statut de résistance aux macrolides a été préalablement déterminé au CNR des IST bactériennes seront utilisés pour les comparaisons. Dans la mesure du possible, les renseignements cliniques concernant les traitements antibiotiques utilisés et la réussite ou l'échec du traitement mis en place seront aussi collectés.

8.2 Prévention combinée des IST chez les hommes ayant des rapports sexuels avec les hommes utilisant le TDF/FTC par voie orale pour la prophylaxie pré-exposition for HIV (PrEP)-ANRS 174 Doxyvac

L'**essai ANRS Prévenir** coordonné par J.-M. Molina a permis l'inclusion de 3000 HSH pour lesquels ont été observés les effets à long terme de la PrEP sur des populations très exposées et les conséquences de l'utilisation de la PrEP à 3 ans sur l'incidence du VIH en région parisienne. Elle a démarré en mai 2017.

L'**étude DOXYVAC ANRS174**, étude ancillaire de l'étude Prévenir, est un essai clinique qui rentre dans le cadre de la cohorte Prévenir portée par l'ANRS en collaboration avec le CNR des IST bactériennes, l'Inserm et l'Institut Pasteur. Il s'agit d'une étude multicentrique, randomisée, en ouvert qui vise à une prévention combinée des IST chez les HSH utilisant le TDF/FTC par voie orale pour la PrEP. Cette étude a deux objectifs principaux : (i) démontrer que la PEP avec la doxycycline réduit la survenue d'un premier épisode de syphilis ou d'infection par *C. trachomatis* et (ii) démontrer que la vaccination contre le méningocoque B réduit la survenue d'un premier épisode d'infection par *N. gonorrhoeae*.

La méthodologie repose sur une randomisation pour deux interventions biomédicales :

- **Intervention 1** : PEP avec doxycycline ou absence de PEP. Les participants seront randomisés, dans la proportion 2/1, pour recevoir de la PEP avec doxycycline ou pas de PEP.
- **Intervention 2** : vaccin contre le méningocoque B (Bexsero®) ou absence de vaccin.

Le démarrage initialement prévu au premier trimestre 2020 a été reportée à septembre en raison de l'épidémie COVID-19.

La cohorte sera composée de 720 patients recevant (i) soit une prophylaxie par doxycycline (ii), soit un placebo (iii), soit une vaccination pour le méningocoque (Bexsero, GSK) (iv), soit une incitation à l'utilisation du préservatif. Les patients seront suivis sur 2 ans.

Les tests de dépistage des 3 IST bactériennes seront centralisés à Saint-Louis sous la responsabilité de B. Berçot au CNR des IST bactériennes. Environ 25 000 échantillons seront réalisés pour le diagnostic de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *M. genitalium* par PCR (écouvillons oral, anal et 1^{er} jet d'urine) et 25 000 échantillons pour culture de gonocoque et méningocoque sur 9 points de visites (cf. ci-dessous pour le circuit clinique et la méthodologie). Des PCR syphilis seront réalisées au CNR APHP Cochin à partir des ulcères génitaux ou oraux.

Un financement par l'ANRS a été obtenu fin 2018 et le CNR IST bactériennes a obtenu un soutien de 200 k€ de la compagnie Roche pour le screening CT/NG/MG pour la cohorte de 720 patients inclus suivis sur 2 ans. Les études réalisées au sein des laboratoires du CNR seront financées sur leurs budgets propres.

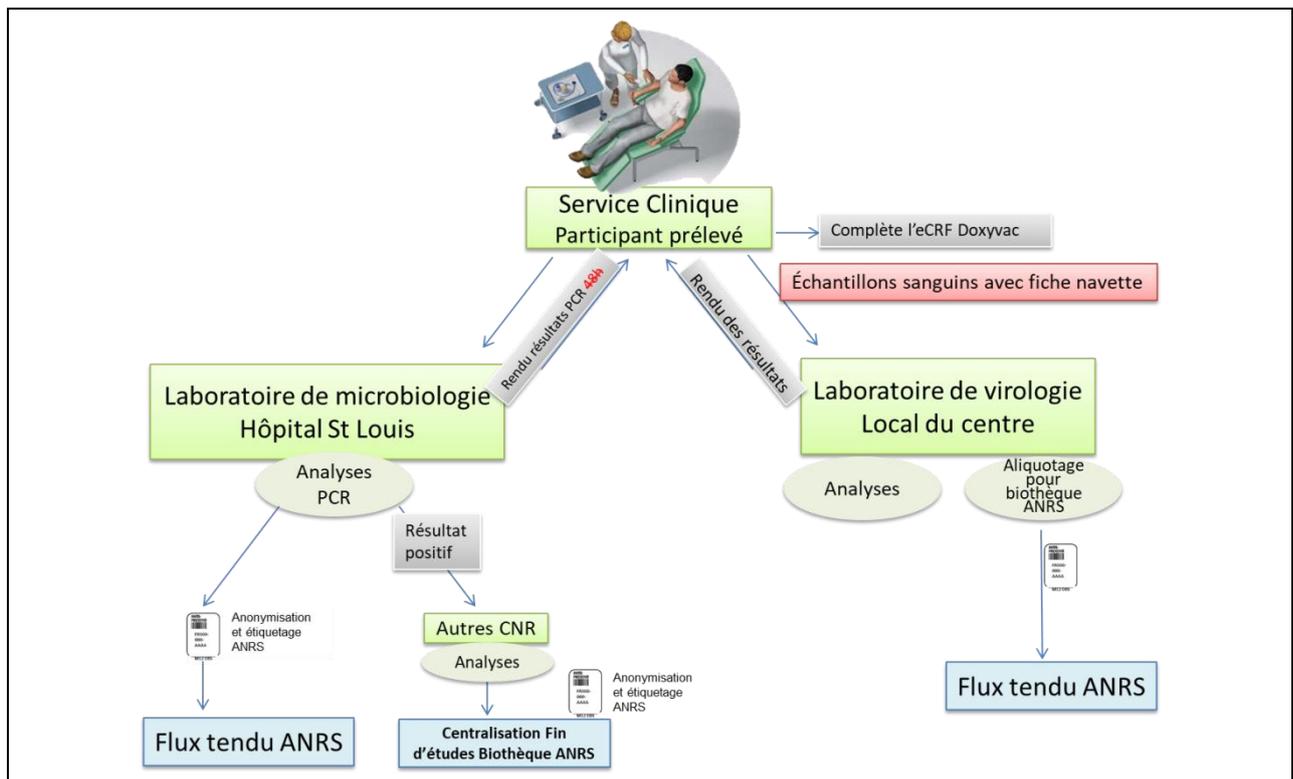


Figure. Circuit des visites, retour des résultats, envoi CNR et flux tendu ANRS dans l'étude ANRS174 Doxyvac.

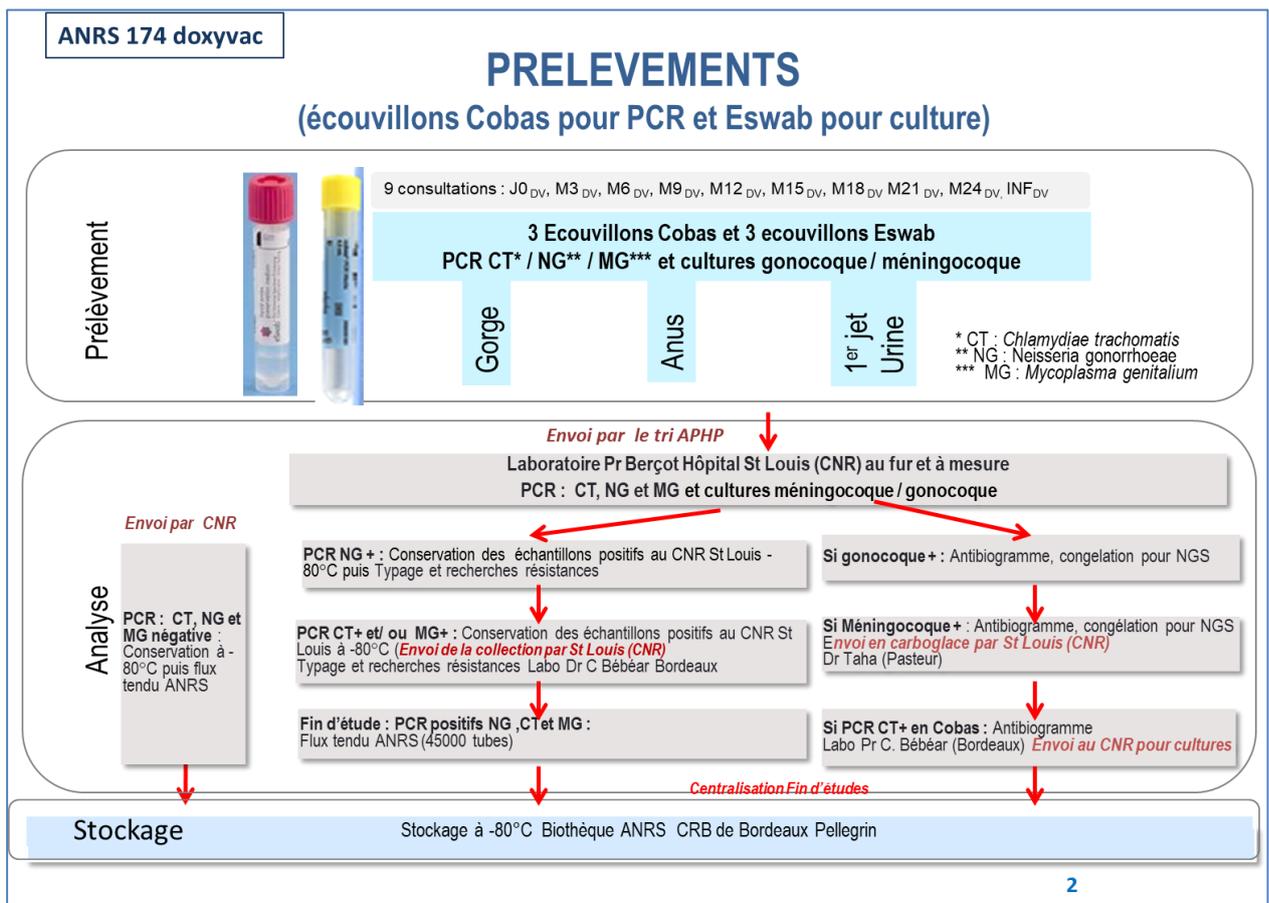


Figure. Circuit des prélèvements de l'étude ANRS174 Doxyvac CNR et flux tendu ANRS.

Les 3 laboratoires du CNR IST bactériennes sont impliqués dans l'investigation de la résistance à la doxycycline des agents pathogènes dont nous avons l'expertise. Les CMI des tétracyclines et de l'azithromycine seront déterminées pour les souches de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* isolées en culture. Les mécanismes moléculaires de la

résistance aux tétracyclines seront investigués pour *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae* et *T. pallidum*. La résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones sera également déterminée pour les échantillons positifs à *M. genitalium* (CHU Bordeaux) dans cette population de PrEPeurs. Une recherche de résistance aux antibiotiques incluant notamment les céphalosporines de 3^{ème} génération, les macrolides et les fluoroquinolones sera réalisée pour les échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* (APHP Saint Louis). Les souches de méningocoques seront expertisées au CNR des méningocoques de l'institut Pasteur.

Ce travail complémentaire du CNR des IST bactériennes permettra de répondre aux **objectifs secondaires** qui seront :

Pour la PEP :

- Démontrer que la PEP avec la doxycycline réduit la survenue d'un premier épisode d'IST bactérienne, les épisodes cumulés des IST bactériennes, d'un nouvel épisode de gonorrhée anale ou urinaire, d'un premier épisode de gonorrhée ou d'infection à Chlamydia symptomatique aux sites anaux et urinaires.
- Evaluer l'impact de la doxycycline en PEP sur le microbiote humain sur un échantillon de 30 patients dans le centre de l'Hôpital Saint-Louis (20 participants dans le bras doxycycline, 10 participants dans le bras ne présentant pas d'intervention).

Pour les résistances :

- Evaluer la résistance aux antibiotiques des souches de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. pallidum* dans les deux bras (doxycycline versus pas de doxycycline).
- Comparer le résistome et la clonalité des souches de *N. gonorrhoeae* par NGS avec ou sans doxycycline.

Pour le vaccin :

- Démontrer que le vaccin contre le méningocoque B (Bexsero®) diminue la survenue d'épisodes cumulés de gonorrhée, d'un premier épisode de gonorrhée aux sites anaux et urinaires ou symptomatique aux sites anaux et urinaires.
- Evaluer la prévalence et l'incidence du portage du méningocoque au niveau pharyngé, anal et urinaire.
- Evaluer l'impact de la vaccination et de la prophylaxie des IST par doxycycline sur le portage de méningocoque au niveau pharyngé, anal et urinaire.

Ce projet aura également pour objectif l'élaboration de recommandations sur la nécessité de rechercher CT/NG/MG dans les 3 sites (anus, gorge, urine) de patients HSH symptomatiques ou asymptomatiques.

L'étude a démarré en janvier 2021 et au 30 avril 2021, 139 participants ont été inclus.

8.3 Prévalence et suivi longitudinal sur 2 ans des lésions anales dysplasiques, des infections HPV et des infections sexuellement transmissibles associées, chez les hommes ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes à Lomé, Togo

Ce projet a été accepté pour financement à l'ANRS fin 2018 ; il est coordonné par Charlotte Charpentier, Didier Ekvoueri et 8 équipes dont le CNR des IST bactériennes (Bdx, St Louis). **Les objectifs du projet** sont les suivants :

- Estimer **la prévalence et l'incidence des IST associées** : *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *T. vaginalis* et HSV-2 en fonction du statut VIH
- Décrire les géovars de *C. trachomatis* circulant dans cette population
- Estimer la prévalence et décrire les profils de **résistance aux antibiotiques du gonocoque** (béta-lactamines, fluoroquinolones azithromycine) **et de *M. genitalium*** (macrolides et aux fluoroquinolones) en fonction du statut VIH
- Estimer la prévalence de la syphilis, des hépatites B et C

Deux cent HSH seront recrutés et auront des visites avec réalisation de prélèvements à l'inclusion (M0) puis à M12 et à M24. Le recrutement a commencé au 2^{ème} trimestre 2020 mais est impacté par la crise sanitaire COVID-19.

8.4 Suivi longitudinal du microbiote vaginal et des ISTs bactériennes et virales dans la cohorte ANRS 12381 PRINCESSE

La cohorte PRINCESSE ANRS 12381 a pour objectif de développer, documenter et analyser une offre de soins communautaire combinant dépistage, prévention combinée dont prophylaxie préexposition (PrEP), traitement immédiat du VIH, prise en charge de l'hépatite B et santé sexuelle et reproductive (SSR) chez 500 travailleuses du sexe, positives et négatives pour le VIH, en Côte d'Ivoire. Une étude, coordonnée par Serge Eholy et Aude Jarry impliquant 5 équipes dont le CNR IST bactériennes, a été acceptée pour financement par l'ANRS en décembre 2020. Elle a comme objectifs d' :

- Évaluer l'impact du microbiote vaginal sur les infections bactériennes, les infections à HPV et les lésions cervicales associées.
- Évaluer la prévalence des différents types HPV identifiés et leur impact par rapport aux types vaccinaux et l'intérêt de la PCR HPV pour le dépistage primaire du cancer du col.
- Évaluer la persistance des infections HPV à 12 mois, la corrélation entre infection HPV et la présence de lésions cervicales
- Évaluer la prévalence des infections à *M. genitalium*, à *N. gonorrhoeae* et à *C. trachomatis*, de la résistance aux antibiotiques pour *M. genitalium* et *N. gonorrhoeae* et évaluer l'impact des résistances aux antibiotiques sur la prise en charge thérapeutique des ISTs bactériennes.

L'étude concernera les 12 premiers mois de suivi des participantes dans la cohorte PRINCESSE avec une durée d'inclusion de 6 à 12 mois, une durée de participation de chaque patiente de 12 mois (écouvillons vaginaux et anaux à M0 et M12). Un dépistage systématique des IST par PCR *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* et test rapide syphilis, sera réalisé à M0, M12 et M24.

Les écouvillons vaginaux et anaux prélevés à M0 et M12 (soit n=2000) seront envoyés au CHU de Bordeaux pour diagnostic de l'infection à *M. genitalium*. Une recherche de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones sera réalisée pour les échantillons positifs. De même, les échantillons positifs à M0 et M12 pour *N. gonorrhoeae* seront envoyés à l'hôpital Saint-Louis afin que soit recherchée la résistance aux bêta-lactamines, aux fluoroquinolones et à l'azithromycine.

8.5 Enquête Previst

L'enquête Previst, placée sous la responsabilité conjointe de Santé publique France, de l'Inserm, du CNR des IST bactériennes et du CNR des papillomavirus, consiste en un **volet biologique concernant les IST**, qui sera couplé à la prochaine enquête **Sexualités et Santé sexuelle (E3S)** en cours d'élaboration par une équipe de chercheurs sous la responsabilité de Nathalie Bajos (socio-démographe à l'unité 1018 de l'INSERM/CESP). L'étude prévue au second semestre 2020 devrait démarrer fin 2021 en raison de la crise sanitaire actuelle.

E3S prévoit d'inclure un échantillon aléatoire de 40 000 personnes de 15 à 89 ans (30 000 en métropole et 10 000 en Martinique, Guadeloupe, Guyane et La Réunion), et de les interroger par téléphone sur de nombreux déterminants de santé. L'objectif est d'analyser les évolutions temporelles dans le champ de la sexualité et de la santé sexuelle, en lien avec les changements sociétaux et les politiques publiques. Le coût de cette enquête (sans le volet IST) a été estimé à environ 3,1 millions d'euros. Une demande de financement a été déposée à l'ANRS et des co-financements ont été demandés à d'autres structures.

Le principe du **volet IST** est de proposer à un sous-échantillon des participants de l'enquête E3S un dépistage par auto-prélèvement à domicile de 3 IST bactériennes (infections à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *M. genitalium*) chez les 15-59 ans et de l'HPV chez les 15-29 ans. Les objectifs de ce volet sont de disposer de données i) de **prévalence en lien avec les comportements sexuels et les pratiques de dépistage**, ii) de **résistance (*N. gonorrhoeae* et *M. genitalium*)**, iii) d'**efficacité de la vaccination HPV chez les femmes** et iv) de **référence chez les hommes avant la mise en œuvre de la vaccination HPV des adolescents garçons**. En termes de prévention, ces données seront utiles pour mieux cibler les populations concernées par les IST bactériennes et non dépistées, et contribuer à promouvoir la vaccination contre les infections à HPV.

Le diagnostic des 3 IST bactériennes sera réalisé par le CNR IST à Bordeaux pour environ neuf mille échantillons (auto-écouvillons vaginaux pour les femmes et 1^{ers} jets d'urine pour les hommes). Les échantillons positifs à *C. trachomatis* seront typés. Une recherche de résistance aux antibiotiques sera réalisée pour les échantillons positifs à *M. genitalium* (CHU Bordeaux) et à *N. gonorrhoeae* (APHP Saint-Louis).

8.6 Laboratoire CHU de Bordeaux

8.6.1 – Enquête Anachla 2021

Devant le succès d'Anachla 2020 et les résultats obtenus, l'enquête sera reconduite en 2021, du 1^{er} avril au 30 juin 2021 et **consistera à collecter tous les échantillons positifs à *C. trachomatis*, sans critère d'exclusion.**

Par ailleurs, compte tenu de la crise sanitaire actuelle nous continuerons le temps de la fin de la mandature de proposer un diagnostic gratuit de la LGV à nos correspondants en respectant les critères suivants :

- **patients séropositifs pour le VIH, symptomatiques ou non,**
- **patients séronégatifs pour le VIH, uniquement symptomatiques.**

8.6.2 - Enquêtes annuelles de surveillance de la résistance des mycoplasmes urogénitaux aux antibiotiques

Les enquêtes de surveillance nationale

- de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones (enquête MGMT 2021)
- de la résistance de *Ureaplasma* spp. et de *M. hominis* aux trois classes d'antibiotiques actives, macrolides, tétracyclines et fluoroquinolones (enquête MYCOMET 2021)

seront menées en France métropolitaine comme les trois années précédentes afin de surveiller l'évolution des résistances au fil des années.

La surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones dans les départements et régions d'outre-mer sera aussi menée en 2021 (enquête DROM 2021), comme elle l'avait été en 2019.

8.6.3 Etude de la transmission de *M. genitalium* et de l'épidémiologie de son antibiorésistance par typage moléculaire

Ce travail de recherche a pour objectif d'étudier la transmission des infections à *M. genitalium*, d'obtenir des données sur la diversité génétique et de **comparer les souches circulant dans deux types de populations en France, les hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes (HSH) sous prophylaxie pré-exposition au VIH (PrEP) et les femmes.** Les populations étudiées seront, d'une part les HSH PrEPeurs suivis au CHU de Bordeaux et suivis dans le cadre du CNR, d'autre part les femmes ayant un prélèvement positif à *M. genitalium* dans les enquêtes de prévalence de la résistance aux antibiotiques menées en 2018/2019. Nous disposons sur ces échantillons des résultats concernant la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones.

Afin de répondre à la problématique de recherche, deux méthodes de typage moléculaire seront utilisées : **l'étude du polymorphisme du gène *mgpB* et l'analyse du locus de séquences répétées en tandem MG309-STR.** L'analyse statistique de données permettra de générer des dendrogrammes visualisant les relations entre les échantillons et les index de diversité génétique seront déterminés. La répartition des génotypes (*mgpB*/MG309) de *M. genitalium* dans les deux cohortes (PrEPeurs vs Femmes), en fonction du site de prélèvement (rectal vs non rectal, rectal vs urinaire, rectal vs cervico-vaginal, urinaire vs non urinaire...), en fonction de l'origine géographique des patients (métropole/DROM ou Paris/province) et en fonction du profil de résistance aux antibiotiques (macrolides sensible vs résistant, fluoroquinolone sensible vs résistant).

Ce travail fera l'objet du Master 2 Recherche de Marion Helary en 2020/21.

8.6.4 Etude Mycoclear (voir résultats non publiés)

8.6.5 Prévalence de *M. penetrans* dans les échantillons cliniques masculins reçus pour détection de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et/ou *T. vaginalis* au CHU de Bordeaux

D'après une récente publication, *M. penetrans*, mycoplasme humain, semble responsable d'un certain nombre d'urétrites pour lesquelles les recherches de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis* sont négatives (Srinivasan *et al.* Clin. Infect. Dis. 2020).

Nous nous proposons de **déterminer la prévalence de *M. penetrans*** dans les urines, écouvillonnages urétraux et sperme des hommes bénéficiant d'une recherche de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et/ou *T. vaginalis* au CHU de Bordeaux.

Nous évaluerons aussi la fréquence des coinfections et rechercherons une **association entre la présence de *M. penetrans* et la présence de signes cliniques**.

Pour cela, environ 400 échantillons d'urines, de sperme et écouvillonnages urétraux prélevés en milieu Cobas PCR media reçus au laboratoire à partir du 1^{er} février 2021 seront conservés. Une extraction d'ADN sera réalisée à partir de 200 µl d'échantillon avec le kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume sur l'instrument MagNA Pure 96 (Roche). Une PCR en temps réel détectant *M. penetrans* sera mise au point à partir de la publication de Srinivasan *et al.* Les PCR *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et/ou *T. vaginalis* manquantes seront réalisées et les renseignements cliniques seront recherchés pour les patients positifs à *M. penetrans*.

8.6.6 - Prévalence et étude de la résistance aux antibiotiques de *M. genitalium* au sein de la cohorte Chlazidoxy (voir résultats non publiés)

8.6.7 Anachla 2020 : typage des souches L et évaluation de la charge bactérienne chez les patients symptomatiques et asymptomatiques

L'enquête Anachla a permis de collecter pendant 3 mois tous les échantillons rectaux positifs à *C. trachomatis*, sans critère d'exclusion.

Deux études vont être réalisées sur cette collection. D'une part, le séquençage du gène *ompA* des 163 échantillons typés L par la technique de PCR en temps réel ciblant la *pmpH* dans le but de rechercher les variants. D'autre part, une évaluation de la charge bactérienne de *C. trachomatis* sur les 921 échantillons provenant de patients symptomatiques et de patients asymptomatiques par une PCR en temps quantitative ciblant le gène *ompA*.

8.7 Laboratoire APHP Saint-Louis

8.7.1 Enquêtes annuelles de surveillance de la résistance du gonocoque aux antibiotiques

En 2021, l'enquête de surveillance de la résistance aux antibiotiques ENGON sera reconduite et proposée aux laboratoires participants comme les 3 années précédentes. Pour l'enquête 2021, il sera demandé aux laboratoires réalisant les CMI de fournir ces données pour les antibiotiques suivants : ceftriaxone, céfixime, azithromycine et tétracycline afin de proposer un retour qualité aux participants, ce projet n'ayant pas été déployé comme prévu sur l'enquête 2020.

Comme en 2020, le lancement concomitant des enquêtes ciblant les mycoplasmes et le gonocoque sera effectué en coordination avec le laboratoire de Bordeaux.

8.7.2 Développement d'une nouvelle technique de Séquençage Haut Débit (NGS, capture) à partir des prélèvements pour la détection du gonocoque

Les infections à gonocoques sont de plus en plus diagnostiquées par PCR au détriment de la culture dont la sensibilité est faible pour les prélèvements extragénitaux. L'exploration par ces techniques de typage sur échantillon primaire reste cependant limitée par la quantité d'ADN disponible pour l'amplification.

En cas d'échantillon clinique positif en PCR, avec une souche de gonocoque non cultivable (faible charge bactérienne, contamination par la flore commensale, prise récente d'antibiotique), nous souhaitons développer une technique de capture d'ADN avec enrichissement de la quantité d'ADN qui sera couplée à du NGS. A partir de l'échantillon clinique primaire, le processus d'enrichissement en ADN passe par une étape d'hybridation de l'ADN du gonocoque grâce à des sondes préalablement définies. L'ADN hybridé est ensuite amplifié et séquencé par NGS.

- La première phase consistera en une comparaison de méthodes entre la technique de NGS sur colonies cultivées versus la technique NGS par capture/hybridation directement sur l'échantillon clinique natif. La comparaison de méthode concernera des prélèvements cliniques positifs en culture. L'évaluation des performances de la méthode et l'évaluation du risque de contamination des données par de l'ADN d'espèces de *Neisseria* spp. proches seront au cœur de cette première phase d'évaluation.

- La phase d'application de la technique aura pour objectif de faire du typage moléculaire en routine au CNR sur des prélèvements cliniques positifs à gonocoque en PCR lorsque la souche est non cultivable. Ces travaux seront

également utiles pour développer cette approche au CNR IST pour les autres bactéries responsables d'IST peu ou difficilement cultivables que sont *C. trachomatis*, *M. genitalium* et *T. pallidum*.

Ces travaux feront l'objet d'une partie du doctorat de Thibaut Poncin (Ecole doctorale Bio-USCP, équipe d'accueil IAME, laboratoire de l'Hôpital Saint-Louis).

8.7.3 Etude de la clairance du portage pharyngé asymptomatique de *N. gonorrhoeae* avec ou sans traitement par ceftriaxone PORTPHARM : étude randomisée de non infériorité

L'étude PortPharm est projet porté par l'équipe d'infectiologie de l'hôpital Saint-Louis (Claire Pintado, J.M. Molina) en collaboration avec 7 centres investigateurs parisiens (incluant le service du Pr Dupin) et 3 centres provinciaux incluant le CHU de Bordeaux et le CNR des IST bactériennes (expertise gonocoque).

Dans l'objectif d'épargner les antibiotiques et de limiter l'émergence de résistances, plusieurs équipes se sont intéressées à la clairance spontanée du gonocoque. Deux études basées sur les cultures ont montré une clairance spontanée du gonocoque pharyngé respectivement de 55% à 7 jours et de 100% à 3 mois. Deux études rétrospectives basées sur les tests d'amplification des acides nucléiques ont mis en évidence une clairance spontanée de *N. gonorrhoeae* respectivement de 27% sur un temps médian de 11 jours et de 31,5% à 15 jours. Cependant, ces études pour la plupart rétrospectives avec un suivi inférieur à 15 jours ou sur de faibles effectifs, ne permettent pas de proposer des recommandations pour épargner les antibiotiques dans le traitement des gonocoques pharyngés asymptomatiques et ne renseignent pas sur la transmission aux partenaires.

De fait, les recommandations restent de traiter systématiquement ces infections par ceftriaxone, y compris les localisations pharyngées asymptomatiques.

Ce travail est proposé dans le cadre d'une **étude prospective, randomisée, en ouvert, de non-infériorité, évaluant à 3 mois la clairance spontanée comparée à la clairance après ceftriaxone chez des porteurs asymptomatiques d'un gonocoque pharyngé** en localisation unique. Il est attendu 154 patients dans 10 centres sur 24 mois.

Outre son originalité et son caractère innovant, ce projet a plusieurs points forts que sont :

- (i) la randomisation qui permettra d'évaluer dans le groupe traité, le taux de réinfections et donc, par différence entre le taux de portage à trois mois dans le groupe surveillé et taux de réinfection dans le groupe traité, indiquera la clairance spontanée,
- (ii) les conséquences cliniques potentielles qui participeraient à limitation de l'usage des antibiotiques et à la prévention de l'émergence de souches résistance de gonocoque aux céphalosporines de 3e génération,
- (iii) l'impact sur le microbiote, la recontamination et la transmission du gonocoque aux partenaires qui sera évaluée.

Cette étude entre dans le cadre d'un **PHRC national 2020** qui a été financé, les premières inclusions étant prévues pour le dernier trimestre de 2021.

8.7.4 Enquête ANRS TRUST

Cette étude ANRS est une enquête par échantillonnage déterminé selon les répondants (RDS) chez des jeunes (18-25 ans) HSH entrés dans les programmes de prévention combinée, dont la PrEP. L'objectif de cette étude est de caractériser la population des jeunes HSH pour leur risque d'infection par le VIH, leurs pratiques, leurs réseaux sexuels et de socialisation et faciliter leur entrée dans les programmes de prévention combinée, dont la PrEP. Il est attendu 500 participants inclus dans les centres parisiens de Tenon, Saint-Louis et le Check Point Paris pour pouvoir détecter une prévalence de l'infection par le VIH allant de 3 à 10%. Le démarrage a été repoussé à septembre 2021.

Dans les objectifs secondaires, il est prévu d'estimer la prévalence de l'infection à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* et de centraliser à l'hôpital Saint-Louis les PCR positives à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*. Une culture à la recherche du gonocoque sera réalisée si la PCR est positive. Les échantillons positifs en PCR seront conservés au niveau du laboratoire de St Louis pour une recherche de résistance sur prélèvements pour les PCR positives.

8.8 Laboratoire APHP Cochin

- Etude CyBale (Congenital Syphilis in Babies: Long term Evaluation)

Contexte

Le contexte actuel est marqué par une recrudescence des cas de syphilis, qui implique principalement les patients masculins HSH mais aussi les femmes en Europe dont la France et aux Etats Unis. Parmi elles, des femmes enceintes échappent au dépistage. Le CNR associé syphilis a ainsi compilé en 2017 huit alertes syphilis congénitales chez des enfants de 1 à 39 jours, dont 3 en Ile-de-France et un dans les DROM. Les conséquences de l'infection chez le nouveau-né ont été étudiées dans des séries rétrospectives qui soulignent la gravité de l'infection pendant la grossesse, avec 80% d'issues défavorables (pertes fœtales, infections congénitales de révélation précoce ou retardée).

De nombreux points restent à élucider :

- Physiopathologiques :

Les mécanismes mis en jeu dans la traversée de la barrière placentaire par *T. pallidum* et dans la genèse de l'infection fœtale ne sont pas élucidés. Le caractère non cultivable de ce spirochète empêche la création de modèles *in vitro* ou animaux, l'étude des mécanismes physiopathologiques de l'infection ne peut reposer en 2019 que sur l'analyse de données cliniques et histologiques. Des données histologiques anciennes ont mis en évidence la présence de lésions de funiculite nécrosante et de villite. Elles nécessitent d'être revisitées.

- Epidémiologiques :

On note également une surreprésentation des infections congénitales dans les DROM (B Garel et al., travail CNR soumis à publication) et déterminer les caractéristiques des patientes permettrait de mettre en place une politique de prévention ciblée sur ces populations à risque.

Le risque de transmission mère/enfant chez les patientes avec infection tardive (à test non tréponémique faiblement positif) n'est pas clairement déterminé. Cette situation est la plus fréquemment rencontrée par les cliniciens, mais c'est aussi celle pour lesquelles les données sont les moins étayées, avec un risque de transmission estimé entre 0 et 10%, qui nécessite une réévaluation précise urgente.

- Diagnostiques :

Le diagnostic de syphilis congénitale n'est pas toujours simple à porter, notamment chez les enfants ne présentant pas de signes cliniques à la naissance (2/3 des cas) ni de marqueurs sérologiques francs (IgM positives, titre de VDRL quatre fois supérieur à celui de sa mère prélevée au même moment) ; dans cette situation, qui pourrait être évitée dans certains cas, on préconise un traitement antibiotique par une dose unique d'Extencilline. La mise au point d'outils diagnostiques rapides chez les nouveaux-nés permettrait une prise en charge ciblée plus adaptée.

- Thérapeutiques :

L'algorithme de prise en charge des enfants repose sur des scénarios de probabilité dont certains (« infection possible ») nécessitent d'être revisités à la faveur d'outils permettant de confirmer ou d'exclure l'infection dès la période néonatale.

- Évolutives :

Le pronostic à long terme des enfants traités n'est pas connu en 2020, et nécessite une évaluation qui permettra de mieux suivre les enfants et de leur offrir une rééducation et une prise en charge précoce adaptée.

C'est dans ce contexte que nous souhaitons mettre en place au CNR Syphilis l'étude Cybale, pour répondre à ces questions. Cette étude est coordonnée par le CNR IST (N. Dupin) et le pôle de Périnatalité sur l'hôpital Cochin (Pr. Goffinet) en collaboration avec le Service d'Infectiologie de l'hôpital Necker (Pr. Charlier).

Objectifs

- Principaux : déterminer la présentation clinique des enfants en fonction du statut sérologique maternel et du traitement maternel/ néonatal.

- Secondaires

- Suivi à long terme des enfants

- Analyse des lésions placentaires
- Identification de marqueurs diagnostiques précoces chez l'enfant

Méthode

- Etude nationale prospective de cohorte
- Recueil de données cliniques
- Constitution d'une biothèque
- Mère : sang total/sérum au diagnostic et à l'accouchement
- Enfant : placenta, sang total/ sérum sur sang de cordon et à J3 (couplé au prélèvement de Guthrie), salive à la naissance, fond de tube de LCR/sécrétions naso-pharyngées si réalisés.

Equipe

- Investigateur coordinateur : Yann Sellier
- Responsable scientifique : Nicolas Dupin
- Co-investigateurs: Nadjat Benhaddou, Philippe Granger, Caroline Charlier, Olivier Lortholary, Olivia Anselem.
- Population d'étude : ensemble des cas incidents de syphilis chez une femme enceinte ou un nouveau-né de moins d'un mois rapportés au CNR IST, laboratoire associé syphilis.

- Essai clinique randomisé de non-infériorité de doxycycline vs Benzathine benzylpénicilline (BPG) pour le traitement de la syphilis précoce SY-DOXY SY-BPG (PHRCN)

Les autorisations du CPP et de l'ANSM ont été obtenues, le démarrage de l'étude est prévu en février 2021.

Coordination - Investigateur	Pr Nicolas Dupin Dermatologie Centre clinique et biologique pour les maladies sexuellement transmissibles (unité MST) Centre national de référence des IST bactériennes, laboratoire associé syphilis Département de dermatologie Hôpital Cochin, Pavillon Tarnier 89 rue d'Assas 75006 Paris Courriel : nicolas.dupin@aphp.fr Tél. : 00 33 1 58 41 18 49 Télécopieur: 00 33 1 58 41 17 65
Sponsor	Assistance Publique-Hôpitaux de Paris
Justification scientifique	
Objectif principal et critère d'évaluation principal	L'objectif principal de notre étude est de valider que la doxycycline 100 mg prescrite pendant 14 jours n'est pas inférieure à une injection intramusculaire de BPG 2,4 millions d'UI pour le traitement de la syphilis précoce jugée sur une diminution de 4 fois du test non tréponémique (VDRL ou RPR) à 6 mois. La réponse sera définie comme une diminution de 4 fois (2 dilutions) de l'essai non tréponémique (VDRL ou RPR) au mois 6 par rapport à l'essai effectué avant le traitement. Les deux essais (celui avant le traitement et celui du mois 6) doivent être effectués dans le même laboratoire.

Objectifs et critères d'évaluation secondaires	<p>Objectifs secondaires :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Évaluer la tolérance des deux traitements en termes d'événements indésirables graves (SAE) 2. Évaluer l'adhésion au traitement de doxycycline 3. Évaluer l'impact des deux traitements sur d'autres maladies sexuellement transmissibles au mois 6 <p>Points d'arrivée secondaires :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. occurrence des SAE entre les groupes 2. l'observance de la doxycycline sera évaluée sur le nombre de comprimés entre la semaine 1 et 2 lors des visites prévues 3. d'autres MST dans les deux groupes au mois 6
Conception de l'essai	
Critères d'inclusion	<ul style="list-style-type: none"> - Patients âgés de 18 ans - Les patients qui, après que la nature de l'étude leur a été expliquée, et avant toute procédure spécifique au protocole, ont donné leur consentement écrit conformément aux exigences réglementaires locales; - Les patients infectés par le VIH ou non atteints de syphilis précoce selon les critères des CDC (syphilis primaire, syphilis secondaire et syphilis latente précoce de moins d'un an et patients atteints d'une syphilis latente de durée inconnue), - Patients pouvant participer et suivre pendant les 6 mois de l'étude - Patients couverts par le système d'assurance maladie Français
Critères d'exclusion	<ul style="list-style-type: none"> - personnes allergiques à l'un des 2 médicaments - personnes ayant des contre-indications à l'un des deux médicaments de l'étude - Personnes atteintes de neurosyphilis précoce et tardive; - Personnes qui ont besoin d'être traitées par doxycycline - Les personnes atteintes de syphilis tardive, latentes ou non latentes (cutanées...); - Les personnes atteintes de thrombocytopénie ou de trouble de la coagulation, contre-indication injections intramusculaires ; - Les femmes qui sont enceintes ou allaitent, ou qui sont en âge de procréer et qui n'ont pas utilisé ou qui n'ont pas l'intention d'utiliser des mesures acceptables de contrôle des naissances; - Les personnes sous mesure de protection juridique ou incapables de signer un consentement; - Les personnes participant à tout essai clinique avec un autre produit d'investigation 28 jours avant la première visite de l'étude ou l'intention de participer à une autre étude clinique à tout moment au cours de la conduite de cette étude. - exposition récente aux 2 médicaments au cours des 3 derniers mois
Médicament	Doxycycline 100 mg pendant 14 jours

Traitement de comparaison	Benzathine benzylpénicilline G 2,4 millions d'unités dans une injection intramusculaire
Interventions ajoutées pour l'essai	
Risques ajoutés par l'essai	Il n'y a aucun risque ajouté par l'essai
Nombre de sujets inclus	85 patients dans chaque groupe
Sites	L'essai est un essai national multicentrique impliquant 15 sites différents
Durée de l'essai	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Spécifier: - période d'inclusion : 24 mois - période de participation (traitement-suivi):6 mois - durée totale: 30 mois </div>
Nombre d'inscriptions prévues par site et par mois (par site/par mois)	<ol style="list-style-type: none"> 1. CeGIDD Hôtel Dieu, APHP, Pr Nicolas Dupin, 90/5 2. Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, APHP, Pr Olivier Chosidow, 30/2 1. CeGIDD Hôpital Saint-Louis, APHP, Dr Sébastien Fouéré 90/5 2. Service des MIT, Hôpital saint-Louis, Pr Jean-Michel Molina, 20/1-2 3. CeGIDD Hôpital de la Grave, Toulouse, Dr Nathalie Spenatto 180/10 4. CeGIDD, Lyon Dr Fatima Yassir Oria, 100/10 5. CeGIDD, Besançon, Dr Fabien Pelletier 20/1-2 6. CeGIDD, Hôpital Bichat, APHP, Dr Fabrice Bouscarat 20/1-2 7. Service de Dermatologie, Hôpital de Valenciennes, Dr Annie Vermersch 100/5 8. CeGIDD, Marseille, Dr Pervenche Martinet 200/12 9. Service de Dermatologie, Hôpital de la Réunion, Dr Antoine Bertolotti 50/3 10. Service des MIT, Hôpital de Rennes, Pr Pierre Tattevin 40/2 11. Service des MIT, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Dr Gentiane Monsel 90/5 12. CeGIDD, Montpellier, Dr Eric Picot 90/5 13. Service des MIT, Hôpital de Tourcoing, Dr Isabelle Alcaraz 100/6
L'essai aura un comité de suivi des données	Non

- Développement d'un test multiplex pour 2 gènes de *T. pallidum* et un gène contrôle positif.

L'objectif de cette étude est d'améliorer du test de routine du CNR par la mise au point d'une PCR en temps réel TaqMan semi-quantitative pour la détection de *T. pallidum* par qPCR.

Ce test multiplex vise à amplifier simultanément 2 gènes cibles (*tpp47* et *poIA*) de *T. pallidum* ainsi qu'un contrôle interne d'extraction/amplification.

- 1- Mise en place de la qPCR multiplexe sur l'automate QuantStudio 5 Real-Time PCR System (ThermoFisher).
- 2- Clonage des gènes *tp47* et *poIA* pour étalonnage
- 3- Validation du test sur 350 écouvillons documentés

Après validation du test multiplex sur écouvillons, nous analyserons des extraits d'ADN issus de sang total et de LCR documentés.

Ce travail fera l'objet du Master 2 recherche de Romain Salle, financé par la Société Française de Dermatologie.

- Enquête PMSI – Syphilis congénitale.

Cette enquête sera coordonnée par Delphine Viriot, Ndeindo Ndeikoundam et Florence Lot de Santé publique France. Elle a pour objectifs de :

- recenser l'ensemble des diagnostics de syphilis congénitale chez les enfants de moins de deux ans en France via le PMSI entre 2012 et 2020;
- décrire le contexte de la grossesse et les caractéristiques clinico-épidémiologiques des mères et des enfants ;
- estimer le taux d'incidence annuel de la syphilis congénitale ;
- évaluer la fiabilité du PMSI pour surveiller la syphilis congénitale.

Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses laboratoires associés

Par arrêté du 7 mars 2017 (JO n°0058 du 9 mars 2017), le Centre National de Référence des Infections sexuellement transmissibles bactériennes (CNR IST bactériennes) a été nommé par la ministre chargée de la Santé pour la période du 1^{er} avril 2017 au 30 mars 2022. Le CNR IST bactériennes oriente en priorité ses activités sur les infections à *Chlamydia trachomatis*, les infections à gonocoque, la syphilis et les infections urogénitales à mycoplasmes. Ce CNR est composé du laboratoire coordonnateur pour *C. trachomatis* et mycoplasmes urogénitaux avec pour responsable Cécile Bébéar et des laboratoires associés pour les gonocoques avec pour responsable Béatrice Berçot et pour la syphilis avec pour responsable Nicolas Dupin.

1.1.1 Expertise

- en contribuant au développement, à l'évaluation et au contrôle qualité des nouvelles techniques diagnostiques, notamment les techniques génétiques multiplexées et les tests de diagnostic rapide (TROD) combinant le diagnostic de plusieurs IST;
- en assurant une veille scientifique sur l'évolution des techniques de diagnostic et de dépistage des IST ;
- en maintenant une expertise sur les tests sérologiques et leur interprétation, notamment en expertisant les résultats de sérologie syphilitique ;
- en contribuant au développement, à l'évaluation et au contrôle qualité des nouvelles techniques d'évaluation de la sensibilité du gonocoque aux anti-infectieux ;
- en contribuant à l'évaluation de la sensibilité des souches de *Chlamydia trachomatis* aux antibiotiques par des études de la sensibilité au niveau national en s'appuyant sur les réseaux existants (LGV et Rénachla) ;
- en participant à l'actualisation des recommandations concernant les méthodes de diagnostic ;
- en réalisant les typages afin de déterminer le sérotype des souches de *Chlamydia trachomatis* circulant en France, notamment les sérotypes responsables de lymphogranulomatose vénérienne ;
- en développant et en utilisant des techniques discriminantes de typage des souches permettant notamment :
 - de comparer la distribution des types des souches isolées en France avec celle des souches isolées dans d'autres pays ;
 - d'identifier les cas groupés d'IST;
 - en détectant de nouveaux phénotypes de résistance et en contribuant à l'identification des mécanismes de résistance.

1.1.2 Conseil

- Assurer une activité de conseil technique, diagnostique ou thérapeutique auprès des professionnels de santé concernant les infections à *Chlamydia trachomatis*, les infections à gonocoque, la syphilis et les infections urogénitales à mycoplasmes.

1.1.3 Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique

- en coordonnant avec l'agence nationale de santé publique le réseau de surveillance des anorectites à *Chlamydia trachomatis* et en veillant à la représentativité nationale de ce réseau de surveillance ;
- en assurant une surveillance de la sensibilité des gonocoques aux anti-infectieux au niveau national en s'appuyant sur les réseaux existants (Rénago) et en veillant à la représentativité nationale du réseau des laboratoires correspondants ;
- en collaborant le cas échéant à la surveillance de la syphilis congénitale ;

- en collaborant aux études épidémiologiques ;
- en participant aux systèmes de surveillance européens.

1.1.4 Contribution à l'alerte

- en signalant à l'agence nationale de santé publique tout événement inhabituel : émergence de cas dans une sous-population ; modifications des formes cliniques ; augmentation du nombre de cas ; émergence d'une souche échappant aux techniques diagnostiques habituelles ; etc.
- en participant à l'investigation de cas groupés d'IST.

1.2 Organisation du CNR et de ses laboratoires associés

1.2.1 Laboratoire CHU de Bordeaux, laboratoire coordonnateur

Laboratoire de Bactériologie

CHU de Bordeaux, Groupe Hospitalier Pellegrin

Pr Cécile Bébéar, chef de service

Place Amélie Raba Léon

33076 Bordeaux cedex

Tel 05.56.79.56.67

Fax 05.56.79.56.73

Responsable scientifique : Pr Cécile Bébéar

Tel 05.57.57.16.25- Fax 05.56.93.29.40

email : cecile.bebear@u-bordeaux.fr

Responsable administratif :

Mr David Karle, directeur médico-technique

Direction Générale CHU de Bordeaux

12 rue Dubernat

33404 Talence

Tel 05.56.79.49.82

email : david.karle@chu-bordeaux.fr

Organigramme du CNR IST bactériennes

Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux

USC EA 3671 IHMC, INRA-Université de Bordeaux

- Cécile Bébéar (PU-PH) - directeur CNR et USC EA 3671.....ETP 0,25

1. Secteur C. trachomatis, responsables B. de Barbeyrac et O. Peuchant

- Bertille de Barbeyrac (MCU-PH).....ETP 0,30, retraitée en mai 2020

- Olivia Peuchant (MCU-PH)ETP 0,15 puis 0,30
- Jennifer Guiraud (AHU).....ETP 0,10
- Charles Cazanave (PU-PH), référent infectiologue.....ETP 0,05

2. Secteur Mycoplasmes urogénitaux, responsable S. Pereyre

- Sabine Pereyre (PU-PH).....ETP 0,25
- Jennifer Guiraud (AHU).....ETP 0,10
- Charles Cazanave (PU-PH), référent infectiologue.....ETP 0,05

3. Ingénieurs, techniciens et personnels administratifs

- Arabella Touati, ingénieur.....ETP 1*
- Cécile Laurier-Nadalié, ingénieur.....ETP 1*
- Amandine Dolzy, technicienne.....ETP 1*
- Laura Albucher, technicienne.....ETP 1*
- Mélanie Lecoeur, technicienne qualité.....ETP 0,5*
- Marie Gardette, ingénieur CHU.....ETP 0,25
- Nadège Hénin, technicienne UBx.....ETP 0,5
- Carla Balcon
technicienne projet i-PREDICT.....ETP 1
- Brigitte Couderc, secrétaire UBx.....ETP 0,1
- Christophe Poumirou, cadre de santé CHU.....ETP 0,1

*Personnel rémunéré par la subvention SpF, L. Albucher recrutée suite au congé maternité et parental de E. Ladevèze ; M. Lecoeur recrutée en collaboration avec le CNRH (P. Lehours, service de Bactériologie CHU Bordeaux).

UBx, Université de Bordeaux.

Charles Cazanave, infectiologue, est membre du réseau Coordination régionale de lutte contre l'infection à VIH Aquitaine (COREVIH) au sein duquel il est responsable du groupe de travail sur la PrEP.

1.2.2 Laboratoire APHP Saint-Louis, laboratoire associé

Département des Agents Infectieux

GH Saint Louis-Lariboisière-Fernand Widal (GH SLS-LRB-FW)

Site Hôpital St Louis

Pr Béatrice Berçot, responsable de l'UF de Bactériologie Site St Louis

1, avenue Claude Vellefaux

Tél : 01.42.49.42.40

Secrétariat : 01.42.49.94.93

Fax : 01.42.49.92.00

Responsable scientifique : Pr Béatrice Berçot

Tél : 33.1.42.38 50.96 - Fax : 01.42.49.92.00

email : beatrice.bercot@aphp.fr

Responsable administratif : Laure Tharel

Directeur de l'hôpital St Louis

Assisté de Madame Juliette de Corbière/ Christel Predinas

Direction des Finances et du Contrôle de Gestion

Tél : 01.42.38.51.20

Mail : christel.predinas@aphp.fr

Organigramme du laboratoire associé « gonocoques »

Département des Agents Infectieux, GH SLS-LRB-FW

IAME équipe 2-UMR 1137 INSERM, Université Sorbonne Paris Cité

Secteur *N. gonorrhoeae*, responsable B. Bercot

Béatrice Berçot (PU-PH, MD, PhD) – Directrice du laboratoire associé au CNR des IST

- bactériennes pour l'expertise gonocoqueETP 0,35
- Hervé Jacquier (MCU-PH) Phylogénie, traitement des données de bioinformatiques.....ETP 0,10
- Thibaut Poncin (Assistant spécialiste, doctorant).....ETP 0,35
- Nathalie Schnepf (Praticien attaché, qualitiçienne).....ETP 0,15 puis arrêt en juin
- Jean-Michel Molina (PU-PH), référent infectiologue.....ETP 0,05

Ingénieurs, techniciens et personnels administratifs

- Aymeric Braille, ingénieur.....ETP 1 *
- Mary Mainardis, ingénieur.....ETP 1 *
- Manel Merimèche, bioinformaticienneETP 1 *
- Chloé Voitichouk, technicienne projet DoxyvacETP 1
- Patricia Fernandes, technicienne.....ETP 0.20
- Fabienne Meunier, technicienne.....ETP 0.20
- Caroline Cazaux, secrétaire.....ETP 0,10
- Géraldine Goudefroye, cadre de santéETP 0,20

*Personnel rémunéré par la subvention SpF.

Jean-Michel Molina, infectiologue, est le coordonnateur des essais cliniques ANRS Ipergay, Prévenir et Doxyvac.

1.2.3 Laboratoire APHP Cochin, laboratoire associé

U1016, Laboratoire de Dermatologie

Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca (APHP)

Bâtiment Faculté de Médecine

Etage 2, porte 2003

24, rue du Faubourg Saint-Jacques

75014 Paris
Tél. : +33 (0) 1 44 41 25 60 (laboratoire)

Responsable scientifique : Pr Nicolas Dupin
Tél. : +33 (0) 1 58 41 18 49
Fax : +33 (0) 1 58 41 16 75
Email : nicolas.dupin@cch.aphp.fr

Directeur adjoint

Dr Nadjet Benhaddou
Tél. : +33 (0) 1 58 41 27 88
Fax : +33 (0) 1 58 41 15 48
Email : nadjet.benhaddou@cch.aphp.fr

Responsable administratif :

Emmanuel Lavoué
Adjoint du Directeur du Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca
Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP)
27 rue du Faubourg Saint Jacques
75014 Paris
Tel : 01 58 41 10 01
Courriel : emmanuel.lavoue@aphp.fr

Organigramme du laboratoire associé syphilis

U1016, Laboratoire de Dermatologie-Vénérologie

Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca (APHP)

Nom - Prénom	Fonction	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Nicolas DUPIN	Médecin Dermatologue, Vénérologue	0,30	Docteur en médecine, Docteur ès Sciences	PU-PH	AP-HP
Nadjet BENNHADOU	Pharmacien biologiste	0,30	Docteur en Biologie Médicale	Praticien Attaché	AP-HP et SpF
Philippe GRANGE	Ingénieur	0,30	Docteur ès Sciences	Ingénieur de recherche hospitalier	AP-HP
Johan CHANAL	Médecin Dermatologue, Vénérologue	0,30	Docteur en médecine	Praticien Attaché	AP-HP et SpF
Guillaume OLLAGNIER	Technicien	1,00	Master Professionnel 2	Technicien hospitalier	SpF

1.3 Locaux et équipements

1.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Les activités du laboratoire concernant *C. trachomatis* et les mycoplasmes urogénitaux pour le CNR IST bactériennes sont effectuées à la fois dans les locaux du laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux (plateaux techniques Microbiologie-Immunologie et Biologie Moléculaire, GH Pellegrin) et dans ceux de l'Unité Sous Contrat (USC INRA)-Equipe d'Accueil (EA Univ. Bordeaux) 3671, Infections Humaines à mycoplasmes et à chlamydiae (IHMC), INRA-Université de Bordeaux à laquelle est rattaché tout le personnel hospitalo-universitaire impliqué dans le projet du CNR IST.

Le laboratoire bénéficie du matériel bureautique (téléphones, fax, ordinateurs, photocopieurs, scanners, réseau internet) des infrastructures du CHU et de l'Université de Bordeaux qui l'hébergent.

Locaux hospitaliers et principaux équipements :

- Une pièce type L2 de 15,25 m² avec 1 poste de sécurité microbiologique (PSM) classe 2, 1 étuve à CO₂, 1 réfrigérateur-congélateur, 1 centrifugeuse thermostatée pour la culture cellulaire de *C. trachomatis*, 1 microscope inversé et 1 pièce de 15,25 m² pour la culture des mycoplasmes avec 2 PSM classe 2, 2 étuves à CO₂, 2 réfrigérateurs-congélateurs à -20°C
- Laverie-stérilisation du plateau Microbiologie-Immunologie du CHU de Bordeaux : 30,5 m²
- Pièces au sein du plateau technique de Biologie Moléculaire, secteur infectieux, hébergeant les automates d'extraction et de PCR en temps réel utilisés pour le diagnostic moléculaire de *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. et l'appareil d'électrophorèse capillaire ABI 3500xL genetic analyzer (Applied Biosystems) utilisé pour l'analyse Multi-Locus Variable-Number Tandem-Repeat (VNTR) Analysis (MLVA)
- Extracteurs et automates de PCR en temps réel : cobas® 6800 (Roche diagnostics) pour la détection de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *M. genitalium* ; InGenius (ELITechGroup) pour la détection de *M. genitalium* et sa résistance aux macrolides
- Amplificateur Light Cycler 1.5, format capillaire, Roche
- 3 Amplificateurs Light Cycler 480, version 96, Roche
- Extracteurs d'acides nucléiques MagNaPure 96 (Roche), MagNA Pure Compact (Roche)
- Automate de sérologie pour Elisa XL Liaison (DiaSorin) pour la sérologie *C. trachomatis*
- Microscope à fluorescence pour la détection de *C. trachomatis* en culture cellulaire
- 2 congélateurs à -80°C dédié à l'activité du CNR sous contrôle de température et sous alarme
- 2 spectromètres de masse MALDI-TOF Microflex LT Biotyper et Smart (Bruker Daltonics) (*M. hominis* et *Ureaplasma* spp.).

Locaux (560 m²) et équipements universitaires : en partage avec l'équipe de recherche USC EA 3671 IHMC

- 3 hottes à flux laminaire et 3 PSM classe 2
- 2 thermocycleurs (Eppendorf et Applied Biosystems)
- 1 appareil de PCR en temps réel LC 480 (Roche)
- 1 électroporateur (Bio-Rad) et 1 concentrateur évaporateur (Jouan)
- 1 appareil d'électrophorèse en champ pulsé CHEF DR-III (Bio-Rad)
- Matériels d'électrophorèse conventionnelle
- 4 congélateurs à -80°C sous alarme, 6 congélateurs -20°C
- 1 autoclave (Gettinge), 1 appareil de purification d'eau (Véolia)
- 1 laveur de plaques (Thermo), 1 balance à haute précision (Sartorius)
- 1 spectrophotomètre à microplaques (Thermo), 1 spectrophotomètre (Thermo)

- 1 microcentrifugeuse (Eppendorf), 1 centrifugeuse à microplaques (Eppendorf), 2 centrifugeuses hautes performances (Beckman Coulter), 3 centrifugeuses à nacelle thermostatées (Jouan)
- 2 étuves (Jouan), 2 étuves à CO₂ (Heraeus), 1 incubateur agité (Minitron), 1 appareil à sonication (Sonics materials)
- 1 système complet d'imagerie E-Box pour gels d'électrophorèse (Fisher Bioblock)
- 1 microscope à fluorescence, 1 microscope inversé, 1 microscope
- 1 plateforme cobas® 4800 (1 extracteur X480 + 1 appareil de PCR en temps réel z480) mis à disposition par Roche
- 1 plateforme Panther mis à disposition par Hologic
- 1 logiciel BioNumerics, version 7 (Applied Maths) et logiciels d'analyse de séquence
- Accès à la plateforme de séquençage à haut débit MiSeq (Illumina), Centre Génomique Fonctionnelle Bordeaux (CGFB), Univ. Bordeaux
- Accès aux plateformes de microscopie électronique et de cytométrie en flux de la Fédération de Recherche Biologie Fondamentale Appliquée à la Médecine (Trans-Bio-Med), Univ. Bordeaux, à laquelle l'unité de recherche appartient
- Accès payant à la plateforme de séquençage d'Eurofins pour séquençage Sanger et analyse MLVA

1.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

L'ensemble des locaux du laboratoire de Bactériologie du GH SLS-LRB-FW est situé au 1er étage du bâtiment principal de l'hôpital St Louis (surface d'environ 1000 m²) et héberge le CNR.

Les activités du CNR sont effectuées à la fois dans les locaux du laboratoire de Bactériologie de Saint-Louis et sur le plateau technique Biologie Moléculaire en Microbiologie qui est situé à proximité immédiate du plateau technique de Bactériologie. Ces locaux hospitaliers ont été complètement rénovés avec un livrable de la partie Bactériologie en mars 2020 et mars 2021 pour la partie Biologie Moléculaire.

Tout le personnel hospitalo-universitaire impliqué dans le projet du CNR IST est rattaché à l'équipe IAME équipe - UMR 1137 INSERM, Université de Paris Sorbonne Paris Cité.

Le laboratoire bénéficie du matériel bureautique (téléphones, fax, ordinateurs, photocopieurs, scanners, réseau internet) des infrastructures du GH SLS-LRB-FW, de l'Université de Paris qui l'hébergent.

Techniques culturelles en Bactériologie (plateau de 500 m²) livré en mars 2020 :

Des travaux de rénovation récents du laboratoire permettent l'accès à un laboratoire orienté vers les techniques culturelles automatisées de sécurité P2 consacrés à la Bactériologie équipée d'ensemencement automatisés WASP (bioMérieux) et d'étuves intelligentes (WASPLAB, bioMérieux).

Par ailleurs, le laboratoire est équipé de :

- PSM, incubateurs (30 et 37°C) et CO₂
- Équipement complet de Bactériologie : centrifugeuses, colorateurs, microscopes
- 2 automates d'identification [Spectromètre de masse Vitek-MS (Biomérieux) et Maldi-Tof (Bruker)]
- Equipement pour antibiogramme en milieu solide avec lecteur automatisé d'antibiogramme en diffusion de type ADAGGIO (Bio-Rad), en milieu liquide Vitek 2 (Biorad) et Sensititre (ThermoFisher), d'un ARIS HiQ (ThermoFisher), ce dernier permettant la détermination à plus grande échelle de CMI en milieu liquide selon une méthode automatisée.
- 1 mini-autoclave pour CMI en milieu solide

Une pièce de 15 m² est dédiée aux congélateurs à -80°C, (conservation en double des souches de gonocoques), surveillance centralisée des températures

Matériel informatique : ScanBack, Glms, module de Bactériologie sans papier pour une traçabilité informatique des étapes de l'analyse microbiologique et le logiciel Kalilab pour la gestion des stocks, des habilitations...)

Un espace de 15 m² est spécifiquement dédié à l'activité culturelle pour le CNR.

Techniques moléculaires mutualisées pour le diagnostic moléculaire des IST bactériennes (plateau de 1000 m2 mutualisé)

Le matériel utilisé pour la détection automatisée de *C. trachomatis* / *N. gonorrhoeae* / *M. genitalium* et des bactéries responsables d'ulcérations génitales en PCR temps réel est correspond aux plateformes suivantes :

- 1 Cobas 6800 (Roche)
- 3 m2000 (Abbott)
- 1 Xpert 16 places (Cepheid) 16 places,
- 1 Alinity BM (Abbott)
- 1 NeumoDX (Qiagen)
- 1 Genlead (Diagenode) qui est un automate ouvert (extracteur+ PCR en temps réel) pour les kits de diagnostic de différents fournisseurs
- 1 torch 10 places (bioMérieux) et 3 Filmarray (bioMérieux)

Techniques moléculaires mutualisées pour le diagnostic moléculaire des IST bactériennes (plateau de 1000 m2 mutualisé, livré en mars 2021)

Locaux

- Un espace est 20 m2 consacré aux extractions sur colonies pour le séquençage haut débit est décliné en une pièce d'extraction manuelle et une pièce pour le dépôt des acides nucléiques avec SAS à pression.
- Un espace de 60 m2 consacré aux extractions sur prélèvement pour le diagnostic moléculaire est décliné en une pièce d'extraction automatisée et une pièce pour le dépôt des acides nucléiques avec SAS à pression.
- Un espace de 40 m2 consacré aux extractions dédiées à des analyses de métagénomique, capture d'ADN et décliné en une pièce d'extraction automatisée et une pièce pour le dépôt des acides nucléiques avec SAS à pression.

Matériel pour l'extraction d'ADN :

- Beat beaters
- 12 extracteurs automatiques d'acide nucléique ARN/ADN : 5 Qiasymphony RGQ (Qiagen), 1 easyMag (bioMérieux), 3 m2000sp (Abbott), 1 EZ1 (Qiagen), 2 Genlead (Diagenode)
- 5 centrifugeuses à tubes, 5 centrifugeuses à barrettes
- 1 spectrophotomètre pour la quantification des acides nucléiques (Heliosy Thermos)
- 1 spectrophotomètre UV-Visible NanoDrop 1000
- 5 bains-marie à sec pour tubes Eppendorff
- 1 Cubit

Matériel pour l'amplification / la détection

- 4 amplificateurs d'ADN classiques pour PCR (Bio-Rad MiniJ et Applied Biosystems)
- Amplificateurs pour PCR en temps réel : 1 SmartCycler (Cepheid), 2 Lightcycler 480 (Roche), 3 applied 9600
- 1 Thermo Applied 2400
- 1 électroporateur Gene Pulser X-cell (Bio-Rad)
- 2 amplificateurs pour PCR en temps réel Rotor Gene (Qiagen) et Smart cycler (Cepheid)
- 1 Tape Station,
- 1 automate d'hybridation GT-Blot 20
- 1 système d'hybridation manuelle TwinCubator
- 1 système Diversilab pour génotypage par rep-PCR (bioMérieux)
- Matériel d'électrophorèse, de transfert sur membrane et d'hybridation des membranes pour génotypage,
- 1 équipement d'électrophorèse pour génotypage par champ pulsé (Pharmacia LKB Gene Navigator)
- 1 imageur (GelDoc XR Bio-Rad) pour l'analyse des gels d'électrophorèse sous UV
- 1 Genlead

Matériel pour le séquençage Sanger et séquençage haut débit (NGS)

- 1 séquenceur applied 3130 XL Sanger
- 4 Miseq Illumina communs à plusieurs laboratoires
- 1 Oxford Nanopore MinION (Roche)
- 1 NextSeq 500/Illumina communs à plusieurs laboratoires

Analyse de séquence :

- Les analyses des séquences NGS sont effectuées sur la plateforme Mage et Moabi (APHP). Les outils utilisés pour l'analyse après assemblage des séquences sont les logiciels installés sur la plateforme Galaxie / Moabi avec accès G-Route : Velvet, Spade, ParSNP, Mafft (alignement core SNPs avec MUSCLE + calcul arbre avec FASTTREE en maximum likelihood) visualisé avec iTOL, RAxML

Les autres techniques utilisant des technologies et expertises différentes (modèle animal, protéomiques, hydrolyse de bêta-lactamase) pourront être effectuées dans les locaux universitaires de l'équipe IAME localisés au troisième étage de la faculté de Médecine de Xavier-Bichat qui sont accessibles à 20 minutes en transport en commun.

1.3.3 Laboratoire Cochin

Le laboratoire du CNR IST bactériennes pour la syphilis fait partie de l'U1016 de l'Institut Cochin dans l'équipe du Pr. Aractingi «Biologie Cutanée » sur le site de l'hôpital Cochin au 2^{ème} étage dans le bâtiment de la Faculté de Médecine. Ces locaux représentent environ 100 m² de surface de travail avec la mise en service d'un laboratoire de niveau 2 et pouvant être utilisé par le CNR syphilis.

Réception des prélèvements et extraction :

Les prélèvements, dans leur triple emballage plastique, sont réceptionnés par le centre de Tri de l'hôpital et acheminés dans la sacochette de transport renforcée dédiée au CNR dans un laboratoire L2 où ils sont répertoriés. La quantité d'échantillon nécessaire est prélevée pour l'extraction d'ADN et mélangée à la solution de lyse dans la plaque d'extraction. Le reste de l'échantillon est déposé dans un tube de stockage, identifié avec le numéro du CNR.

Les plaques d'extractions d'ADN sont placées dans la boîte de transport étanche en polypropylène type «Lock and Lock» identifiée au CNR et l'étiquette «TRANSPORT EXTRACTION».

Les tubes d'échantillons sont placés dans la boîte de transport étanche en polypropylène type «Lock and Lock» identifiée au CNR et l'étiquette «TRANSPORT ECHANTILLON». Les deux boîtes de transport sont placées dans la sacochette de transport renforcée du CNR pour sortir du L2.

Analyse moléculaire :

L'analyse moléculaire se répartie dans 2 zones bien distinctes correspondant à 2 pièces différentes

Zone de pré-amplification

Cette pièce contient la zone n°1 dédiée à la préparation des tubes pour la PCR (numérotation, disposition sur rack, préparation du mix) avec pipettes dédiées sous une mini hotte PCR. Une seconde zone est individualisée, appelée zone n°2 avec une 2^{ème} mini hotte PCR est dédiée au mélange du mix de PCR avec l'ADN à amplifier. C'est dans cette zone que se situe l'extracteur automatique (InnuPure C16, Analytikjena) dans lequel est déposée la plaque d'extraction d'ADN.

Ce module contient également des réfrigérateurs et congélateurs (-20°C, -80°C) dédié au CNR et identifiés comme tel et dans lesquels sont stockés les échantillons.

Zone de post-amplification

Cette pièce contient la zone n°3 qui est compartimentée en 2 secteurs distincts :

- Le secteur 4 où les réactions de PCR sont réalisées, contient les appareils de PCR. PCR classique sur ProFlex PCR System (Applied Biosystem) et un appareil nouvellement acquis par le CNR de PCR en temps réel (QuantStudio 5 Real Time PCR, ThermoFischer Scientific).
- Le secteur 5 qui contient un appareil d'électrophorèse uniquement dédié à l'analyse de la réaction PCR (ouverture des tubes après amplification) avec blouses dédiées, et pipettes spécifiques restant à demeure. Il contient également l'appareillage nécessaire pour enregistrer les résultats obtenus après électrophorèse.

Equipements partagés au sein de l'équipe

L'activité de PCR et l'analyse en gel d'agarose est une activité partagée au sein de l'équipe afin de regrouper le lieu d'utilisation des CMR (mise en place de protocole d'utilisation).

Equipements partagés au sein de l'Institut Cochin

En tant que membre de l'Institut Cochin, le laboratoire a accès à l'ensemble des plateformes présentes sur le site de l'Institut Cochin avec, en particulier, le cytomètre en flux (FACScalibur, Becton Dickinson, Mountain View, CA), divers appareils de biologie moléculaire et cellulaire.

1.4 Collections de matériel biologique

1.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Depuis la nomination du laboratoire comme CNR des IST bactériennes pour *C. trachomatis* et les mycoplasmes urogénitaux, les souches cliniques de *C. trachomatis*, les souches de *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. en situation pathogène et les échantillons positifs par PCR à *C. trachomatis* (réseau LGV et souches urogénitales obtenues sur le tout le territoire) et à *M. genitalium*, recueillis à partir du 1^{er} janvier 2017 sont conservés au centre de ressources biologiques (CRB) Bordeaux Biothèque Santé (BBS) du CHU de Bordeaux certifié AFNOR (contact : crb.bbs@chu-bordeaux.fr).

Matériel biologique envoyé au centre de ressources biologiques (CRB) Bordeaux Biothèque Santé (BBS) du CHU de Bordeaux certifié AFNOR entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2020 :

- 2705 échantillons positifs à *C. trachomatis* dans le cadre du réseau LGV en 2020, dont 1349 échantillons anorectaux positifs à *C.* reçu dans le cadre de l'enquête Anachla 2020.
- 71 souches de *C. trachomatis* isolées au CHU de Bordeaux.
- 525 échantillons biologiques positifs à *M. genitalium* envoyés au CNR en 2020 (421 extérieurs et 104 CHU de Bordeaux) dans le cadre de la recherche de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones.
- 720 échantillons positifs à *M. genitalium* dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en 2019 dont 376 provenant de France métropolitaine (MYCOMET19) et 344 provenant des départements et régions d'outre-mer (DROM 2019), 13 échantillons biologiques positifs à *M. genitalium* d'une cohorte de femmes au Mali (collaboration étude ANRS).
- 205 souches de *Ureaplasma* spp. et 46 souches de *M. hominis* isolées dans le cadre de l'enquête de détermination de la sensibilité aux antibiotiques de ces 2 espèces en France métropolitaine (MYCOMET19) ainsi que 87 souches d'uréaplasmes et 21 souches de *M. hominis* isolées et antibiogrammées au CHU de Bordeaux en 2019.

Les autres souches ou échantillons cliniques sont conservés au laboratoire du CHU de Bordeaux à -80°C, dans des congélateurs sous report d'alarme et contrôle de température. Les souches et échantillons précieux sont conservés en double exemplaire dans des congélateurs différents. Les souches de référence des 5 espèces bactériennes sont conservées en un exemplaire au BBS et en un exemplaire au laboratoire de Bactériologie. Notre laboratoire dispose de souches de référence des 18 sérovars ou génovars de *C. trachomatis* issues de l'American Type Culture Collection (ATCC) et environ 1500 souches cliniques de *C. trachomatis* collectées depuis 2000. Notre laboratoire détient les souches de référence des principales espèces de mycoplasmes urogénitaux issues de l'ATCC (*M. genitalium*, *M. hominis*, *U. parvum*, *U. urealyticum*) soit une vingtaine de souches de référence. Par ailleurs, plus de 4000 souches cliniques de *Ureaplasmas* spp. et *M. hominis* sont conservées depuis 1990. De plus, plusieurs enseignants-chercheurs du laboratoire étant membres de l'International Organization for Mycoplasmaology (IOM, <http://iom-online.org/>), nous avons accès à une collection de 12000 cultures lyophilisées de mollicutes, représentant 200 espèces et 1500 souches différentes.

La collection de souches et d'échantillons biologiques est déclarée auprès du CHU de Bordeaux et le Comité de protection des Personnes Sud-Ouest et outre-Mer III.

1.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Depuis la nomination du laboratoire comme laboratoire responsable de l'expertise gonocoque du CNR des IST

bactériennes, les matériels biologiques étudiés sont stockés au CNR IST à l'hôpital St Louis. Cela comporte les collections suivantes :

1/ Collection de souches de gonocoques isolées depuis la création du réseau Renago en provenance de l'Institut Alfred Fournier et transférées à l'hôpital St Louis :

- 1200 souches (15 boîtes de congélation en cryotubes correspondants aux souches de sensibilité diminuée (CMI>E coff) isolées dans le cadre du réseau Renago)
- 9280 souches (116 boîtes de congélation en cryotubes correspondant à la collection Renago)

2/ Collection de 1956 souches de gonocoque :

- 423 souches isolées en 2020 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2020) (au 30/05/2021)
- 408 souches isolées en 2019 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2019).
- 160 souches isolées en 2018 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2018).
- 25 souches isolées en 2017 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON2017)
- 317 souches isolées dans le cadre du Réseau Renago 2018, visant à surveiller la résistance du gonocoque en France métropolitaine.
- 392 souches isolées dans le réseau Renago en 2017, visant à surveiller la résistance du gonocoque en France métropolitaine
- 25 souches isolées chez une cohorte de PrEPeurs à Bordeaux en 2019.
- 14 souches isolées d'infections invasives en 2019.
- 4 souches de sensibilité diminuée ou résistantes en 2019.
- 30 souches provenant du contrôle de qualité de l'ECDC (UKNEQAS).
- 33 souches issues de demande d'expertise au CNR en 2020.
- 46 souches issues de demande d'expertise au CNR en 2019.
- 10 souches isolées chez des patients souffrant d'anorectites d'emblée abcédées à St Joseph
- 52 souches du Burkina Faso
- 8 souches de gonocoques recueillis dans l'étude ancillaire ANRS menée par le Pr Molina (étude IPERGAY).

3/ Collection de 1994 prélèvements cliniques positifs à gonocoque collectés depuis la première mandature du CNR des IST bactériennes (janvier 2017-ce jour) et conservés au CNR à l'hôpital Saint-Louis :

- 283 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* dans le cadre de l'étude Mémodépistages-REMIND (225 d'Ile de France, 36 de Lyon, 13 de Montpellier, 9 de Marseille) en 2019
- 70 prélèvements cliniques recueillis dans l'étude ancillaire ANRS menée par le Pr Molina (étude IPERGAY).
- 18 prélèvements positifs à gonocoque issus de cas cliniques expertisés au CNR en 2020.
- 24 prélèvements positifs à gonocoque issus de cas cliniques expertisés au CNR en 2019.
- 428 échantillons positifs à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis* de la comparaison de 4 kits pour CT/NG/MG/TV.
- 207 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* transféré du laboratoire Cerba (S. Trombert) dans le cadre de l'enquête de la résistance du gonocoque dans les départements et régions d'outre-mer en 2017 et 2018.
- 248 prélèvements positifs à gonocoque issus de l'enquête nationale ENGON 2017
- 2 extraits d'ADN positifs à gonocoque issus d'infections à gonocoque chez des femmes HIV-positives et HIV-négatives au Mali.
- 52 extraits d'ADN positifs à gonocoque issus d'infections à gonocoque chez des femmes travailleuses du sexe et des HSH à Lomé, Togo.
- 662 échantillons positifs à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *M. genitalium* de la comparaison de l'automate Roche / Abbott.
- 283 échantillons positifs à *C. trachomatis*/*N. gonorrhoeae* de la comparaison de l'automate Roche / NeumoDX.

4/ Collection de séquence de génome complet sur la plateforme Moabi (APHP)

- 457 souches séquencées en NGS en 2020
- 396 souches séquencées en NGS en 2019
- 355 souches séquencées en NGS en 2018
- 11 souches WHO A-Z

Les souches et échantillons précieux sont conservés en double exemplaire dans des congélateurs différents sous

report d'alarme et contrôle de température. Notre laboratoire dispose de souches de référence de l'OMS. Le laboratoire de Saint-Louis dispose de 10 souches de gonocoque de référence de l'OMS (WHO A-Z). Par ailleurs, de nombreuses souches cliniques isolées à l'hôpital St Louis et l'hôpital Lariboisière depuis 1987 ont été conservées en microbilles. Ces souches sont conservées dans le laboratoire de Bactériologie du GH St Louis à -80°C, dans des congélateurs sous report d'alarme et contrôle de température.

1.4.3 Laboratoire APHP Cochin

Dans le cas de la syphilis, l'impossibilité de cultiver en milieu synthétique le spirochète *T. pallidum* nous conduit à parler de prélèvements contenant les souches de *T. pallidum*. Les échantillons sont acheminés sous 24 à 48 h au CNR syphilis, soit directement au laboratoire, soit par l'intermédiaire du centre de tri de l'Hôpital Cochin. L'ensemble des échantillons (sérothèque et biothèque) sont stockés dans un congélateur -80°C dédié pour le CNR, lui-même entreposé dans la salle des -80°C du service de Bactériologie. Les échantillons sont stockés dans des boîtes résistantes aux basses températures et identifiées CNR syphilis. Chaque échantillon fait l'objet d'une création de position dans sa boîte de stockage, qui est répertoriée dans le fichier CNRSY-PREA-ER-002.

Le CNR IST bactériennes - syphilis a mis en place la collecte de deux types de prélèvements :

- 1) les prélèvements issus de protocoles d'études pour répondre aux objectifs du CNR à savoir l'Etude Microbiologique de la syphilis (2006-2010) et l'étude GENOSYPH (démarrée en 2011).
- 2) les prélèvements adressés au CNR IST bactériennes pour la syphilis pour expertise moléculaire et/ou sérologique.

Sur la période 2006-2020, le CNR IST LA syphilis a reçu 1062 échantillons positifs pour l'ADN de *T. pallidum*.

Collection d'échantillons positifs pour l'ADN de *T. pallidum*, CNR IST LA Syphilis (2006-2020)

LCR	Placenta	Liq. Amn	Cordon/Sg Cord	Ecouv.	Biopsie	Sg total
137	17	9	12	807	57	23

Nous disposons également de 440 immun-sérums répertoriés.

1.5 Démarche qualité du laboratoire

1.5.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Le laboratoire suit actuellement la démarche de la cellule qualité du Pôle de Biologie et Pathologie du CHU de Bordeaux pour l'obtention de l'accréditation totale en 2020 selon la norme EN ISO 15189. Le laboratoire est, tout au long du processus en cours accrédité à travers le Pôle de Biologie et Pathologie, pôle déclaré au COFRAC comme un laboratoire unique.

Les analyses requérant l'accréditation dans le cadre du nouvel CNR IST bactériennes sont **le diagnostic moléculaire de la LGV à *C. trachomatis* et le diagnostic moléculaire de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium***. Le laboratoire a entamé les démarches pour ces 2 analyses au sein du service de Bactériologie du CHU de Bordeaux avec l'aide de la cellule qualité du pôle Biologie et Pathologie. Toutes les fiches techniques ont été rédigées et sont enregistrées dans le logiciel Sharepoint permettant de gérer les documents qualité au CHU de Bordeaux. Les non-

conformités mises en évidence à la réception des échantillons sont tracées et chaque appel reçu au CNR fait l'objet d'une traçabilité. Le personnel technique du CNR a été habilité pour travailler sur le plateau de Biologie moléculaire du CHU de Bordeaux.

Une technicienne qualité a été recrutée à mi-temps en novembre 2018 pour le CNR IST et partagée avec le CNR Campylobacter-Helicobacter hébergé dans le même laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux. Un 1^{er} audit interne des CNR par le CHU de Bordeaux a été réalisé en 2019 et un test de traçabilité a été réalisé en 2020. De plus A. Touati et M. Gardette, ingénieurs du CNR, ont été formés et habilités en tant que correspondants assurance qualité (CAQ°).

Dans le cadre de la démarche d'accréditation du diagnostic moléculaire de la LGV à *C. trachomatis* un document de type « SH FORM 43 » a été déposé pour la validation en portée B de la « Détection de *Chlamydia trachomatis* souche L par PCR en temps réel qualitative ». Le CNR s'est référé au guide technique de validation et d'accréditation des méthodes en biologie médicale (SH-GTA-04) pour l'identification des paramètres à tester et au QUAMIC 2017 en référentiel utilisé pour définir les critères d'acceptation des tests.

En ce qui concerne **les contrôles de qualité** concernant l'activité du CNR IST bactériennes, le laboratoire participe, comme tous les ans dans le cadre de la démarche qualité du laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux, au contrôle de qualité externe proposé par Labquality concernant la détection moléculaire de ***C. trachomatis* et de *N. gonorrhoeae***. A propos du **diagnostic de la LGV**, un contrôle inter-laboratoire (CIL) annuel a été mis en place en 2019 via une convention entre le laboratoire de I.S.A. Morré, Institute for Public Health Genomics Maastricht University, Maastricht, Pays Bas et le CNR IST bactériennes. Cette collaboration inter-laboratoire a été suspendue en raison des délais de réception d'échantillons trop allongés et la difficulté que rencontrait le laboratoire de Maastricht pour collecter les prélèvements (absence de CIL en 2020). Une nouvelle collaboration inter-laboratoire annuelle a été mise en place entre notre centre au CHU de Bordeaux et le laboratoire associé gonocoques du CNR, APHP Saint Louis, Paris. La convention a été signée le 04/02/2021. Un premier échange a été réalisé en mars 2021 avec l'envoi de notre CNR vers le CNR à Saint Louis de 5 échantillons cliniques anorectaux. Un deuxième échange a été réalisé dans le sens inverse en avril 2021. Les résultats étaient conformes pour les 2 laboratoires.

Le contrôle de qualité ***M. genitalium*** du Quality Control Molecular Diagnostics (QCMD) a été réalisé en 2020 et a inclus un contrôle qualité pour la résistance aux macrolides. Nous avons également participé en 2020 à l'EEQ mycoplasmes urogénitaux (***M. hominis* et *Ureaplasma spp.***) que propose l'Association de Biologie Praticienne.

1.5.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Accréditation

Le laboratoire suit actuellement la démarche de la cellule qualité du Pôle de Biologie B2P du GH St Louis Lariboisière Fernand Widal pour l'obtention de l'accréditation totale en 2021 selon la norme EN ISO 15189. Le laboratoire est, tout au long du processus en cours accrédité à travers le Pôle de Biologie et Pathologie, pôle déclaré au COFRAC comme un laboratoire unique.

Le diagnostic moléculaire CT/NG a été accrédité sur Cobas 6800 depuis 2018. Le diagnostic MG/TV est présenté en extension de portée pour 2021 car le processus a été retardé avec la crise sanitaire COVID-19 entraînant la monopolisation de cet automate. Toutes les fiches techniques et préanalytiques ont été rédigées et sont enregistrées dans le logiciel Kalilab et Viskalis. Les analyses requérant l'accréditation dans le cadre du CNR IST bactériennes sont le diagnostic moléculaire de la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération et aux fluoroquinolones. La qualitiennne responsable de notre site a été recrutée à raison de 3 vacations/semaines et ces techniques d'implantation récente (fin 2018) doivent être incluses dans le processus d'accréditation.

En ce qui concerne les contrôles de qualité concernant l'activité du CNR IST bactériennes, le laboratoire participera comme tous les ans dans le cadre de la démarche qualité du laboratoire de Bactériologie du GH St Louis-LRB-FW, au contrôle de qualité externe européen QCMD concernant la détection moléculaire de *N. gonorrhoeae*/*C. trachomatis* et le panel syndromique IST.

Contrôle du process de Bioinformatique

La plateforme Moabi suit le processus d'accréditation. Les données brutes issues du séquençage haut débit de *N. gonorrhoeae* sont stockées sur deux serveurs :

- Sur un serveur français agréé à l'hébergement de données de santé et de recherche mise en place par la plate-forme bioinformatique de l'AP-HP « MOABI » <http://idfseqit.fr/>
 - Sur le serveur de la plate-forme MAGE Microscope (Genoscope, Évry) qui héberge et annote nos génomes de référence ainsi que d'autres génomes d'intérêt.
- Les runs sont analysés avec le pipeline d'analyse des données de séquençage du génome de *N. gonorrhoeae* (NG-AR2T) situé sur le portail web G-route de la plateforme Moabi. Le déploiement du pipeline sur cette interface permet la génération d'un rapport épidémiologique complet automatisé. Ce rapport comprend :
- (I) le contrôle qualité et l'assemblage *de novo* des données de séquençage
 - (II) le typage moléculaire *in silico* pour déterminer le NG-MAST, le MLST & le NG-STAR,
 - (III) la caractérisation des déterminants de la résistance aux antibiotiques ainsi que la détection des mutations chromosomiques connues et présentes sur ces gènes
 - (IV) la construction d'un arbre phylogénétique et le calcul des distances génomiques pour tracer les liens épidémiologiques entre les isolats.

Contrôles de qualité intra-laboratoire et inter-laboratoire

Pour la Microbiologie, le laboratoire participe au contrôle national de qualité biennuel de l'ANSM. Les techniques de séquençage sont encadrées par le séquençage de site de référence WHO.

Un échange de contrôle interlaboratoire a été mis en place en 2021 avec le contrôle de 5 échantillons cliniques anorectaux (3 LGV, 1 non L et 1 CT négatif) avec le site de Bordeaux du CNR. Les résultats étaient conformes pour les 2 laboratoires.

Contrôles de qualité externes supranationaux

Le laboratoire associé gonocoque participe à un contrôle de qualité externe (CQE) quadriennuel, sur la sensibilité de souches de gonocoque à différents antibiotiques et sur la recherche de *N. gonorrhoeae* dans des échantillons cliniques. Ces contrôles sont proposés par l'ECDC aux centres experts des IST de la plupart des pays européens.

1- Quality Control for molecular Diagnosis QCMD CT/NG (2/an) et STI syndromic panel (2/an)

Dix échantillons biologiques sont testés pour la recherche de *N. gonorrhoeae*. Les résultats des contrôles sont basés sur la détection et l'identification de *N. gonorrhoeae/C trachomatis* dans un échantillon. La restitution des résultats est effectuée en ligne avec comparaison aux autres laboratoires avec une visualisation des performances analytiques des automates utilisés.

2- EU STI Microbiology Network: *N.gonorrhoeae* antimicrobial resistance quality assurance programme : (4/an)

Huit souches OMS de *N. gonorrhoeae* sont testées pour la détermination des CMI sur un panel de 8 antibiotiques (ciprofloxacine, ceftriaxone, céfixime, azithromycine, gentamicine, spectinomycine) et la recherche de bêta-lactamase.

EU STI Microbiology Network: Sentinel Surveillance of Gonococcal Antimicrobial Susceptibility : (2/an)

Dans le cadre du projet européen de surveillance des IST (The European Surveillance System, TESSy) mis en place par l'ECDC depuis 2009, le CNR participe à la surveillance de la résistance aux antibiotiques de *N. gonorrhoeae* (AMR surveillance programme).

De façon annuelle, les CMI des 8 antibiotiques de référence cités ci-dessus d'une série de 200 souches testées consécutivement par le CNR ainsi que les données épidémiologiques de chaque cas sont transmises à l'ECDC via TESSy. Pour assurer la qualité des résultats rendus, les CMI pour 5 souches de référence OMS sont testées en début et en fin de série et envoyées en parallèle. Tous les résultats sont analysés à leur retour par les biologistes. Ils sont restitués à l'équipe du CNR avec mise en place d'actions correctives et préventives en cas d'inadéquation (ex : lecture CMI).

1.5.3 Laboratoire APHP Cochin

Une démarche pour l'accréditation du CNR syphilis a débuté en 2012 avec une visite du COFRAC en juin 2014 (famille Sérologie Infectieuse) et se poursuit depuis afin d'améliorer le fonctionnement interne, de fidéliser les demandes d'expertise et de collaboration des correspondants nationaux, et de favoriser la reconnaissance de la qualité de son

expertise par les autres partenaires d'organismes de santé publique, de recherche ou de l'industrie.

Le programme de mise en place de la démarche d'accréditation comprend à la fois la validation des techniques d'analyse déjà éprouvées (sérologie) et celles en cours de développement (détection moléculaire), la formalisation des processus d'analyse et de rendu des résultats, l'identification d'indices d'appréciation de la qualité et l'habilitation des personnes participant aux missions du CNR.

En ce qui concerne la sérologie, la participation à des contrôles de qualité externe est organisée depuis 2013, de même que des audits de pratique par des collègues externes au CNR. Ainsi en 2020, un contrôle de qualité externe EEQ «Accurun 256» VDRL sur LCR a été mise en place.

Plusieurs services supports du CNR syphilis, tels que le système de gestion informatique des laboratoires et la maintenance des équipements, sont partagés avec les Services du Pôle de Biologie du Groupe Hospitalier Cochin-Broca-Hôtel Dieu.

La démarche d'accréditation est effective pour le Pôle depuis Juin 2014 pour l'obtention de l'accréditation totale en 2020. Elle devra suivre la norme EN ISO 15189 qui décrit les exigences particulières concernant la qualité et la compétence requise pour la réalisation d'analyses biologiques médicales.

Liste des techniques :

-	Dépistage par CLIA (automate Architect)	20%
-	RPR pour sérum (Bio-Rad)	20%
-	VDRL pour LCR (All Diag)	20%
-	Immunoblot (IgG/IgM Ingen)	20%

Total 80% des techniques utilisées par le CNR syphilis sont accréditées depuis juin 2016.

Les visites de suivi et de surveillance sont réalisées tous les 2 ans pour les techniques sérologiques par le COFRAC, la dernière a eu lieu en mars 2019, aucun écart n'a été rapporté et l'accréditation de la sérologie est toujours valide.

Suite à la crise sanitaire une extension a été accordée par le COFRAC jusqu'en juin 2022.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

2.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Chlamydia trachomatis

- Liste des techniques disponibles pour le diagnostic, l'identification, et l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

• Recherche directe par culture cellulaire (sur cellules McCoy, tubes unitaires à lamelle, révélation à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-MOMP fluorescents, lecture au microscope à fluorescence)

• Recherche directe par amplification d'acides nucléiques

- Kit commercialisé cobas ® CT/NG détectant *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* sur le cobas ® 6800 (Roche Diagnostics).

- Détection de tous les génotypes : par 2 tests « maison », l'un ciblant le plasmide cryptique (Dutilh B, et al. 1989. Res Microbiol 140:7-16) et l'autre ciblant le gène *omp1* par PCR en temps réel en chimie SYBR Green sur Light Cycler 480 (Roche).

- Détection de tous les génotypes par une technique de PCR en temps réel chimie TaqMan quantitative adaptée de Stevens et al. 2010. J Clin Microbiol 48 :2060-2065. Cette PCR cible un fragment de 278/275 pb localisé dans le domaine VD4 du gène *ompA* codant pour MOMP. La quantification se fait en nombre de génome équivalent (ou copies)/µl grâce à un plasmide de calibration pGEMT+insert (cible) préparé au CNR.

- Un test de PCR en temps réel détectant le variant suédois de *C. trachomatis* (Raheison et al. 2009. J Microbiol Methods 78:101-103).

- Un test de PCR en temps réel « maison » détectant les souches de génotype L (Morré et al. 2005. Emerg Infect Dis 11:1311-1312). Ce test met à profit la particularité des souches L d'être délétées de 36 pb sur le gène *pmpH*, en utilisant une sonde TaqMan dessinée de part et d'autre de la délétion. Un signal de PCR n'est présent que si la sonde s'hybride signifiant que la délétion est présente et que la souche est de type L. Ce test permet d'identifier en une seule étape la présence d'une souche de type L dans les échantillons rectaux et urogénitaux positifs pour *C. trachomatis*.

- Un test de PCR en temps réel « maison » détectant spécifiquement les souches de génotype L2b (Verweij et al. 2011. Clin Microbiol Infect 17:1727-1730). Ce test met à profit une particularité du variant L2b qui est le seul à posséder un fragment d'insertion de 9 pb sur le gène *pmpH*. Une sonde dessinée au niveau de cette insertion permet d'identifier une souche L2b dans un prélèvement en une seule PCR.

• Recherche indirecte par sérologie : recherche des IgG par méthode ELISA (kit Medac, DiaSorin) sur automate XL-Liaison (DiaSorin) et recherche des IgM par immunofluorescence (lame Focus-Eurobio).

• Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de *C. trachomatis* ne se fait pas en routine étant donné la lourdeur de la technique. Le principe repose sur l'utilisation de tapis cellulaire infecté par un inoculum quantifié en présence de concentrations croissantes d'antibiotiques. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la concentration d'antibiotique où l'on n'observe plus d'inclusions normales au microscope (Suchland et al. 2003 Antimicrob Agents Chemother 47:636-642). La CMI et la concentration minimale bactéricide (CMB) peuvent être appréciées d'une manière plus précise par une technique moléculaire de RT-PCR développée au laboratoire (Peuchant et al. 2011. J Med Microbiol 60:508-514).

- Liste des techniques disponibles pour le typage

- Typage moléculaire de *C. trachomatis* pour déterminer le génotype par séquençage du gène *omp1*, après culture cellulaire (Rodriguez et al. 1991. J Clin Microbiol 29:1132-1136) ou directement à partir de l'échantillon biologique (Lan et al. 1994. J Clin Microbiol 32 : 528-530).
- Typage moléculaire intra-génotype de *C. trachomatis* par MLVA (Peuchant et al. 2012. PLoS One 7:e31538), Multiple Locus Sequence Typing (MLST) (Klint et al. 2007. J Clin Microbiol 45:1410-1414), analyse des Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) du gène *omp1* (Rodriguez et al. 1991. J Clin Microbiol 29:1132-1136).
- Séquençage du gène *omp1* des souches identifiées L2b afin de vérifier la présence de la mutation A→G (AAT Ser 162→ AGT Asp) spécifique de la souche épidémique L2b (Spaargaren et al. Emerg Infect Dis 11:1090-1092).

- Bases de données de séquences

Notre laboratoire utilise, entre autre, la technique de MLST développée par Bjorn Herrmann (Uppsala Univ, Sweden) pour le typage moléculaire des souches de *C. trachomatis* (Klint et al. 2007. J Clin Microbiol 45:1410-1414). Celle-ci cible cinq régions géniques ainsi que le gène *ompA*. Chaque nouvel allèle est répertorié dans la base de données publique dédiée à cette technique (<http://mlstdb.bmc.uu.se/>). Les nouveaux variants alléliques que nous avons identifiés ont été déposés dans cette banque de données.

Mycoplasmes urogénitaux

Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma hominis

- Liste des techniques disponibles pour le diagnostic, l'identification, et l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

Cette liste ne concerne que des techniques de détection directe car il n'existe pas de sérologie recommandée et utilisable pour le diagnostic des infections à mycoplasmes urogénitaux.

• Techniques phénotypiques

- Culture en milieu liquide et solide des quatre espèces de mycoplasmes urogénitaux (Waites et al. 2001. Cumitech 34, Laboratory diagnosis of mycoplasmal infections. American Society for Microbiology, Washington D. C).

Les souches cliniques de *M. genitalium* n'étant que très exceptionnellement cultivées en raison du caractère extrêmement fastidieux de cette espèce, les tests phénotypiques suivants ne concernent que les mycoplasmes urogénitaux *Ureaplasma spp.* et *M. hominis*.

- Galerie de détection, d'identification, de numération et de sensibilité aux antibiotiques : MYCOFAST Revolution2 (laboratoire ELITech).

- Identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF de *Ureaplasma spp.* et *M. hominis* (Pereyre et al. 2013. J Clin Microbiol 51:3314-3323).

- Détermination des concentrations minimales inhibitrices par dilution en milieu liquide de tous les antibiotiques potentiellement actifs sur les mycoplasmes selon le CLSI (Waites et al. 2011. 2011. Methods for antimicrobial susceptibility testing for human mycoplasmas : Approved guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (PA)).

- Détermination des concentrations minimales inhibitrices par dilution en milieu liquide de la tétracycline, doxycycline, lévofloxacine, moxifloxacine, érythromycine, azithromycine et clindamycine à l'aide des microplaques Sensititre customisées (Biocentric, Bruker).

• Techniques moléculaires « maison » et kits commercialisés

- Le diagnostic moléculaire de *M. genitalium* par PCR en temps réel est réalisé avec le kit cobas ® MG/TV détectant *M. genitalium* et *Trichomonas vaginalis* sur la plateforme cobas ® 6800 (Roche diagnostics).
- Le diagnostic moléculaire de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* par PCR en temps réel est réalisé avec le kit ResistancePlus™ MG (SpeeDx, Australie). Nous utilisons depuis octobre 2020 le kit Macrolide-R/MG ELITE MGB® sur l'automate InGenius d'ELITechGroup.
- PCR en temps réel de détection spécifique de *M. hominis* (Férandon et al. 2011. Clin Microbiol Infect 17:155-159.), de *U. parvum* et *U. urealyticum* (Yi et al. 2005. 19:255-260).
- PCR spécifique du genre *Mycoplasma* ciblant l'ARN ribosomique (van Kuppefeld et al. 1992. Appl Environ Microbiol 58:2606-2615.) pour la détection d'espèces peu courantes de mycoplasme dans les échantillons humains. L'identification d'espèce est ensuite réalisée par séquençage du produit d'amplification et comparaison des séquences obtenues avec les banques de données.
- Pour l'évaluation moléculaire de la sensibilité aux anti-infectieux : PCR ciblant le gène *tet(M)* et recherche de mutations de l'ARNr 16S pour l'étude de la résistance aux tétracyclines (Dégrange et al. 2008. Antimicrob Agents Chemother 52:742-744; Dégrange et al. 2008. Antimicrob Chemother 61:1390-1392), amplification et le séquençage des gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* pour l'étude de la résistance aux fluoroquinolones au niveau des QRDR-Quinolone Resistance Determining Regions- (Bébéar et al. 2003. Antimicrob Agents Chemother 47:3323-3325; Bébéar et al. 1999. Antimicrob Agents Chemother 43:954-956; Le Roy et al. 2016. Emerg Infect Dis 22:1677-1679), recherche de mutations de l'ARNr 23S associées à la résistance aux macrolides par amplification et séquençage (Pereyre et al. 2002, Antimicrob Agents Chemother 46:3142-3150; Chrisment et al. J Antimicrob Chemother 67:2598-2601) ou par méthode de PCR en temps réel de type FRET (Touati et al. 2014. J Clin Microbiol 52:1549-1555).

- Liste des techniques disponibles pour le typage

- Typage moléculaire de *M. hominis* par MLVA (Férandon et al. 2013. BMC Microbiol 13:120).
- Typage moléculaire de *M. genitalium* par analyse des SNPs du gène *mgpB* (MG191) combinée à l'analyse d'un marqueur VNTR dans le gène *mg309* (Cazanave et al. 2012. J Med Microbiol 61:500-506).

- Bases de données de séquences

Notre laboratoire a publié le génome de la souche type de *M. hominis* (*M. hominis* PG21) disponible dans GenBank (FP36530). Par ailleurs, la souche type de *M. genitalium* (*M. genitalium* G37) et les 14 sérovars de *Ureaplasma* spp. sont aussi disponibles dans GenBank.

Notre laboratoire consigne les séquences du gène *mgpB* (MG191) de *M. genitalium* utilisées pour le typage de *M. genitalium*. Tout nouvel allèle est répertorié et déposé dans GenBank. Un total de plus de 200 allèles est répertorié à ce jour.

2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Le laboratoire est équipé des matériels nécessaires pour les cultures de gonocoques, l'identification, le stockage et l'étude de la sensibilité des gonocoques.

- Liste des techniques disponibles pour le diagnostic, l'identification, et l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

- Recherche directe par culture

- Microscopie & coloration de Gram

- Culture en milieux solides qui reste la méthode de référence (nomenclature) pour le diagnostic

- Technique d'identification phénotypique classique (caractères cultureux, morphologiques, biochimiques et profil protéique) et identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF

- Techniques directes par amplification d'acides nucléiques (TAAN)

- Kit commercialisé marqué CE-IVD détectant *C. trachomatis* / *N. gonorrhoeae* / *M. genitalium* / *T. vaginalis* sur la plateforme extracteur-amplificateur automatisé et Cobas 6800 (Roche) depuis mai 2018

- Kit CT/NG Xpert (Cepheid) détectant *C. trachomatis*/*N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et sa résistance aux macrolides depuis fin 2019

- Techniques d'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

Le CNR pratique sur chaque souche reçue un antibiogramme par diffusion et une étude de 8 concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode E-test. Les concentrations critiques de *N. gonorrhoeae* sont précisées dans le communiqué annuel du CA-SFM version janvier 2019 : <http://www.sfm.asso.fr/>.

- Techniques disponibles pour le typage

- Typage moléculaire par méthode NG-MAST (amplification séquençage des gènes *porB* et *tbpB*) qui est la technique de typage de référence effectuée suivant les recommandations internationales (Belkacem A, et al, Antimicrob Chemother 71:2471-2478; Unemo et al, Clin Microbiol Rev 24:447-458)

- Typage moléculaire par MLST qui est basée sur l'amplification nucléotidique et le séquençage de fragments de 7 gènes de ménages (*abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *pdh* et *pgm*) qui permet de comparer des souches plus éloignées dans le temps (Belkacem A, et al, Antimicrob Chemother 71:2471-2478; Unemo et al, Clin Microbiol Rev 24:447-458))

- PCR nichée « maison » / séquence pour le génotypage de *N. gonorrhoeae* sur prélèvements cliniques TAAN positifs ciblant les gènes *porB* et *tbpB*.

- NGS sur colonies et extraction *in silico* du core genome sur colonies

- Techniques disponibles pour l'étude de la résistance aux antibiotiques

- Extraction de l'ADN bactérien de *N. gonorrhoeae* : kit InstaGene Matrix (Bio-Rad)

- Extraction du contenu plasmidique de *N. gonorrhoeae* (gros et petits plasmides)

- Technique de (Kieser, Plasmid 12:19-36.)

- Kit Qiagen QIAprep Spin Miniprep

- Séquençage des plasmides par PCR par chevauchement

- Séquençage du gène *penA* par PCR par chevauchement

- Détection des gènes *bla*_{TEM}

- Détection des mutations dans les QRDR *gyrA* et *parC*

- Détection des mutations dans les QRDR *gyrB* et *parE*

- Détection du gène *aac(6')-Ib-cr* (Fihman V, J Infect 2008 ;56:454-459).

- Détection des mutations dans les 4 allèles de l'ARNr 16S et 23S

- Détection des mutations des gènes de la pompe d'efflux *mtrCDE* et du répresseur *mtrR*
- Détection des mutations des protéines S10, L4, L22
- Détection du transposon portant le gène *tet(M)*
- Détection des mutations dans les gènes *ftsX*, *pilQ*, *ponA*, *penB*
- Détection des gènes de résistance acquis impliqués dans la résistance aux macrolides (*mefA*, *erm*, *ere* et *mphA*)
- PCR nichée de typage de *porB* et *tbpB*
- Pyrosequençage sur prélèvement pour la détection des mutations dans les gènes *gyrA* et *parC*
- 3 PCR spécifiques du génome de *N. gonorrhoeae* pour la détection des principaux déterminants de résistance aux cyclines sur prélèvements cliniques TAAN positifs ciblant les gènes *tet(M)*, *rspJ*, *mtrR* et sa région promotrice.

-Technique de séquençage haut débit à partir des cultures

Extraction, séquençage haut débit sur Miseq (Illumina) et extraction des séquences cibles (Poncin et al, Eurosurveil 2017 et 2019)

- Bases de données de séquences

Cf chapitre collections de génomes.

2.1.3 Laboratoire APHP Cochin

- Tous les tests sérologiques commerciaux utilisés dans le cadre du diagnostic de la syphilis sont accrédités et indiqués ci-dessous :

Test non tréponémiques : VDRL, RPR (BioRad)

Test tréponémiques : TPHA (BioRad)

ELISA Ig totaux (Architect)

Immunoblot (IgG/IgM Ingen)

- Détection du génome de *T. pallidum* par nested PCR -nPCR- (Grange *et al.*, 2012. J Clin Microbiol. 50 :546-552).

- Détection de la résistance aux macrolides (mutation A2058G) par PCR-RFLP (Lukehart SA *et al.* 2004. N Engl J Med. 351:154- 8 et Matejková P *et al.* 2009. J Med Microbiol. 58:832- 6)

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Les 3 laboratoires du CNR IST recommandent les techniques qu'ils utilisent (cf 2.1).

ANNEXES

Annexe : Fiche de recueil des données cliniques enquête Anachla



ANACHLA : Enquête épidémiologique sur les anorectites à *Chlamydia trachomatis*.
1 septembre- 30 novembre 2020.

COORDONNÉES DU MÉDECIN DEMANDEUR Nom : Prénom :
Adresse :
Mail :
SPÉCIALITÉ : Maladies infectieuses CeGIDD Médecine générale Dermatologie vénérologie
Gastro / Proctologie Autre

IDENTIFICATION DU PATIENT :
Date de la consultation :
___ / ___ / ____
Sexe : M F T
Si T, préciser si
- M vers F
- F vers M
Date de naissance :
___ / ___ / ____
Département :

MOTIF DE TYPAGE:
- Dépistage systématique hors PrEP
- Suivi PrEP
- Symptomatologie anale
- Symptomatologie autre
- IST partenaire
- Contrôle traitement
- Prise de risque
- Viol / Agression
- Autre

SITE DE PRÉLÈVEMENT :
Anus
Autre

STATUT HIV :
Pos Nég Inconnu
PREP EN COURS:
Oui Non Inconnu

RAPPORTS SEXUELS DANS LES 12 MOIS AVEC :
Homme (s) Femme (s)
Trans Prostitué (e-s)
Inconnu
Nombre de partenaires :

AUTRE IST VIRALE ACTIVE :
- Herpès
- HPV
- Hépatite A
- Hépatite B
- Hépatite C
- Aucune
- Inconnu

AUTRE IST BACTÉRIENNE ACTIVE :
- *Neisseria gonorrhoeae*
- Syphilis
- *Mycoplasma genitalium*
- Autre
- Aucune
- Inconnu

RAPPORT SEXUEL SUPPOSÉ CONTAMINANT :
En France
Avec une personne venant de l'étranger Pays
À l'étranger Pays
Inconnu

CNR des IST bactériennes
Laboratoire de Bactériologie
CHU de Bordeaux – Hôpital Pellegrin
33076 BORDEAUX Cedex
Tel : 05 57 57 56 37 / 05 57 57 16 25
Fax : 05 56 93 29 40
E-mail : cecile.laurier-nadslie@u-bordeaux.fr

Annexe. Résistance aux antibiotiques de *Mycoplasma genitalium* en métropole et outre-mer en 2019

Résistance de *Mycoplasma genitalium* en métropole et outre-mer en 2019

Sabine Pereyre^{1,2}, Cécile Laurier-Nadali¹, Chloé Le Roy², Marie Gardette¹, Nadège Hémin^{1,2}, Cécile Bébéar^{1,2}
¹CHU Bordeaux, Laboratoire de Bactériologie, Centre National de Référence des IST bactériennes, Bordeaux, France.
²Univ. Bordeaux, INRAE, IHMC, USC EA 3671, Bordeaux, France.

Le groupe d'investigateurs: J. Bador, G. Barnaud, A. Beby-Defaux, E. Beillard, B. Bergot, L. Bonzon, N. Bourgeois, J. Delmas, C. Domergue, P. Floch, A. Grob, P. Lanotte, S. Lastere, L. Luciani, M. Mari, G. Potiron, H. Salord, C. Schanen, N. Tetart, A. Trens, S. Trombert

INTRODUCTION

- Les résistances de *Mycoplasma genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones, antibiotiques de 1^{ère} et 2^{ème} intention, augmentent partout dans le monde.
- En 2018, nous avons déterminé les premières prévalences de résistance nationale française. Nous souhaitons surveiller leur évolution.

➤ **Objectif : Détermination de la prévalence de la résistance de *Mycoplasma genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine et dans les territoires ultra-marins en 2019.**

MATÉRIELS ET MÉTHODES

➤ Échantillons cliniques

- **Métropole**
- Enquête menée sur 1 mois, du 15 septembre au 15 octobre 2019.
- 19 centres métropolitains répartis sur l'ensemble du territoire.
- **Outre-mer**
- Enquête menée sur 3 mois, du 1 septembre au 30 novembre 2019.
- 3 territoires ultra-marins participants : La Réunion, Guyane, Polynésie française.
- **Envoi de tous les prélèvements positifs à *M. genitalium* :**
- Urines, écouvillons cervico-vaginaux, écouvillons rectaux et pharyngés.
- Envoi au CNR au moyen d'enveloppes T pré-adressées.
- Données colligées de façon anonyme sur un fichier comportant le sexe, la date de naissance, la nature de l'échantillon, le service demandeur, la notion de dépistage et de symptômes, le traitement antérieur par macrolides.

➤ Extraction d'ADN

- Kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume sur l'instrument MagNA Pure 96 (Roche Diagnostics).

➤ Recherche de la résistance aux macrolides

- PCR en temps réel de type FRET (Touati *et al.* J. Clin. Microbiol. 2014) + séquençage par méthode de Sanger de l'ARNr 23S pour déterminer la nature de la mutation (Le Roy *et al.* J. Clin. Microbiol. 2020).
- PCR multiplex commercialisée (ResistancePlus MG assay, SpeeDx) en cas d'absence d'amplification avec la PCR FRET.

➤ Recherche de la résistance aux fluoroquinolones

- Amplification et séquençage de la QRDR (« Quinolone Resistance Determining Region ») du gène *parC* (Le Roy *et al.* Emerg. Infect. Dis. 2016).
- Comparaison à la séquence de référence de *M. genitalium* G37.

RÉSULTATS

➤ France métropolitaine



Répartition géographique des centres participants et nombre d'échantillons reçus par ville.

Population étudiée

Un total de 391 échantillons provenant de 379 patients a été reçu de 19 centres (194 hommes, 185 femmes).
L'âge moyen des patients était de 30,1 ans, les hommes étaient statistiquement plus âgés que les femmes, respectivement 32,7 ans vs 27,2 ans ($p < 0.001$; test de Student).
La classe d'âge la plus représentée sur l'ensemble de la population était la classe 21-25 ans (27,3%), suivie de la classe 26-30 ans (27,1%); 35,5% des femmes avaient entre 21 et 25 ans et 32,0% des hommes étaient âgés de 26 à 30 ans.

- Pratiques sexuelles : 78,9% (299/379) des patients avaient des pratiques **non renseignées** **66,3%** (53/80) déclaraient avoir des **pratiques hétérosexuelles**.
Sur les 31 hommes ayant déclaré leurs pratiques, 80,6% (25/31) étaient des HSH.
- Co-infections à *C. trachomatis* : 9,8% (32/327) étaient positifs à *C. trachomatis* et *M. genitalium*.
Prévalence de co-infection : 11,6% chez les femmes (19/163) vs 7,9% chez les hommes (13/164) ($p = 0.25$; test du Chi2).
- Co-infections à *N. gonorrhoeae* : 3,7% (12/328) étaient positifs à *N. gonorrhoeae* et *M. genitalium*.
Prévalence de co-infection : 3,7% chez les femmes (6/163) vs 3,6% chez les hommes (6/165) ($p = 0.98$; test du Chi2).
- Parmi les patients pour lesquels le statut HIV était connu, **10,4%** (11/106) **d'entre eux était séropositifs**.
Le statut sérologique pour le HIV était inconnu pour 72,03% (273/379) des patients.

➤ Prévalence de la résistance aux macrolides

- 35,3% (103/291) des échantillons présentaient une mutation de l'ARNr 23S associée à la résistance : A2058G et A2059G : 63,1% (65/103) des cas (45 A2059G; 17 A2058G; 2 A2058G/A2059G/WT); A2058T : 11,6% (12/103) des cas.
La position exacte de la mutation n'a pas pu être déterminée dans 25,2% (26/103) des cas.
- La proportion de patients ayant une souche résistante aux macrolides était de 34,7% (99/285).
La prévalence de la résistance aux macrolides était de **52,4%** chez les hommes (77/147) **versus 15,9%** chez les femmes (22/138) ($p < 0.001$; test du Chi2).
Parmi les HSH, 71,4% (10/14) étaient résistants aux macrolides **versus 21,6%** (8/37) dans la population hétérosexuelle ($p < 0.05$; test exact de Fisher).
- Aucune amplification du gène de l'ARNr 23S n'a pu être obtenue chez 24,6% (84/342) des échantillons. **14,7%** (38/258) des échantillons présentaient une mutation de l'ARNr 23S associée à la résistance.
La position exacte de la mutation n'a pas pu être déterminée dans 84,2% (32/38) des cas et 6 échantillons présentaient une mutation A2059G.
- La proportion de patients ayant une souche résistante aux macrolides était de 14,7% (38/258).
33 issus de La Réunion (22 femmes et 11 hommes)
4 issus de Polynésie (4 femmes et 1 homme)
1 issu de la Guyane française (1 homme).

➤ Prévalence de la résistance aux fluoroquinolones

- 17,7% (52/293) des échantillons analysés présentaient une mutation dans la protéine *ParC*.
Seuls 44 échantillons (42 patients) étaient porteurs d'une mutation associée à la résistance aux fluoroquinolones : 36 Ser83(80)Ile, 3 Ser83(80)Arg, 3 Asp87(84)Tyr et 2 Asp87(84)Asn.
- La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones chez les patients testés en France métropolitaine est de 15,6% (44/282).
La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 17,1% chez les hommes (25/146) **versus 12,5%** chez les femmes (17/136) ($p = 0.3$; test du Chi2).
- 6,3% (17/268) hébergeaient une souche mutée au niveau de la QRDR *parC*.
Parmi les échantillons mutés, seuls 7 étaient porteurs d'une mutation associée à la résistance aux fluoroquinolones : 1 Gly81(78)Cys, 2 Ser83(80)Ile, 2 Asp87(84)Asn et 2 Asp87(84)Tyr.
- La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones chez les patients testés en outre-mer était de 2,6% (7/268).

➤ Double résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones

- 244 échantillons positifs à *M. genitalium* provenant de 239 patients ont pu être analysés pour la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones. La proportion de double résistance s'élevait à 9,2% (22/239).
- 216 patients positifs à *M. genitalium* ont pu être analysés pour la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones. La proportion de double résistance s'élevait à 0,9% (2/216).

CONCLUSION

- La résistance aux macrolides chez *M. genitalium* reste élevée et stable autour de 35% en métropole. Elle est plus de deux fois plus faible en outre-mer (14,7%).
- La résistance aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* se stabilise autour de 15% en métropole. Elle reste très faible en outre-mer (2,6%).