

# RAPPORT ANNUEL

# D'ACTIVITÉ 2023

*Année d'exercice 2022*

CNR Infections sexuellement transmissibles bactériennes

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	CHU de Bordeaux	Pr C. Bébéar, Pr S. Pereyre, Dr O. Peuchant, Dr J. Guiraud, A. Touati, C. Laurier, M. Gardette
Laboratoire Associé	Hôpital Saint Louis, APHP	Pr B. Berçot, Dr F. Caméléna, M. Mérimèche, A. Braille, M. Mainardis
Laboratoire Associé	Hôpital Cochin, APHP	Pr N. Dupin, Dr N. Bennhadou, P. Grange



	Résumé analytique- Faits marquants	7
	Executive summary- Highlights	9
<b>1</b>	<b>Missions et organisation du CNR</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>Activités d'expertise</b>	<b>12</b>
	2.1 Evolution des techniques	12
	2.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux	12
	2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis	13
	2.1.3 Laboratoire APHP Cochin	13
	2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	13
	2.2.1 Évaluation de trousse diagnostiques pour <i>C. trachomatis</i> et pour la LGV	13
	2.2.2 Evaluation de trois trousse pour le diagnostic moléculaire de <i>M. genitalium</i> et de sa résistance aux fluoroquinolones	14
	2.2.3 Evaluation de plaques à façon pour la détermination de CMI des mycoplasmes urogénitaux	14
	2.2.4 Trousse de diagnostic sérologique de la syphilis	15
	2.2.5 Mon test IST	16
	2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	18
	2.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux	18
	2.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis	19
	2.3.3 Laboratoire APHP Cochin	19
	2.4 Collections de matériel biologique	19
	2.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux	19
	2.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis	19
	2.4.3 Laboratoire APHP Cochin	20
	2.5 Activités d'expertises	21
	2.5.1 Laboratoire CHU de Bordeaux	21
	2.5.2 Laboratoire APHP Saint-Louis	26
	2.5.3 Laboratoire APHP Cochin	27
	2.6. Activités de séquençage	31
	2.6.1 Laboratoire CHU de Bordeaux	31
	2.6.2 Laboratoire APHP Saint-Louis	32
	2.6.3 Laboratoire APHP Cochin	35
	2.7. Partage de séquences produites par les CNR	36
	2.7.1 Laboratoire CHU de Bordeaux	36
	2.7.2 Laboratoire APHP Saint-Louis	36
	2.7.3 Laboratoire APHP Cochin	37
<b>3</b>	<b>Activités de surveillance</b>	<b>38</b>
	3.1 Description du réseau de partenaires	39
	3.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux : réseau de surveillance des anorectites à <i>C. trachomatis</i>	39

3.1.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	41
3.1.3	Laboratoire APHP Cochin	41
3.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	43
3.2.1	Anorectites à <i>C. trachomatis</i> : réseau et enquête Anachla	43
3.2.2	Infections à gonocoque	52
3.2.3	Syphilis	60
3.3	Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	67
3.3.1	Surveillance de la résistance de <i>Ureaplasma</i> spp. et <i>M. hominis</i> aux antibiotiques en France métropolitaine en 2021 (MYCOMET 2021)	67
3.3.2	Surveillance de la résistance de <i>M. genitalium</i> aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine et en Outre-mer	74
3.3.3	Surveillance de la résistance de <i>N. gonorrhoeae</i> en France	89
3.3.4	Surveillance de la résistance de <i>T. pallidum</i> aux macrolides en 2022	97
3.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	101
3.4.1	CNR IST	101
3.4.2	Laboratoire CHU de Bordeaux	102
3.4.3	Laboratoire APHP Saint-Louis	103
3.4.4	Laboratoire APHP Cochin	103
3.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	104
3.5.1	Enquête de surveillance européenne TESSy et contrôles de qualité européens pour le gonocoque	104
3.5.2	Surveillance de l'antibiorésistance du gonocoque en Afrique	105
3.5.3	Contrôles de qualité européens	105
3.5.4	Contrôles de qualité national externe pour les laboratoires participants aux enquêtes ENGON	106
3.5.5	Syphilis et grossesse	107
4	<b>Alertes</b>	<b>108</b>
4.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	108
4.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	108
4.3	Laboratoire APHP Cochin	108
5	<b>Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil</b>	<b>110</b>
5.1	Conseil et expertise aux professionnels de santé	110
5.1.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	110
5.1.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	112
5.1.3	Laboratoire APHP Cochin	113
5.2	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	115
5.2.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	115
5.2.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	115
5.2.3	Laboratoire APHP Cochin	116
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	117
5.3.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	117

5.3.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	117
<b>6</b>	<b>Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CN</b>	<b>118</b>
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	118
6.1.1	Projets de recherche communs	118
6.1.2	Laboratoire CHU de Bordeaux	121
6.1.3	Laboratoire APHP Saint-Louis	126
6.1.4	Laboratoire APHP Cochin	128
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	130
6.2.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	130
6.2.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	133
6.2.3	Laboratoire APHP Cochin	134
<b>7</b>	<b>Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux</b>	<b>135</b>
<b>8</b>	<b>Programme d'activité pour les années suivantes</b>	<b>136</b>
8.1	Evaluation de trousse diagnostiques des IST bactériennes et de leurs résistances aux antibiotiques	136
8.1.1	Trousses diagnostiques	136
8.1.2	Trousses de type Point of care (POC) et tests de diagnostic rapide	136
8.2	Développement d'une nouvelle technique de Séquençage Haut Débit (WGS, DNA-capture) à partir des prélèvements pour la détection et le typage des 4 agents d'IST bactérienne	136
8.2.1	<i>C. trachomatis</i> et <i>M. genitalium</i>	136
8.2.2	<i>N. gonorrhoeae</i>	137
8.2.3	<i>T. pallidum</i>	138
8.3	Contribution à la surveillance épidémiologique	138
8.3.1	Développement de réseaux de partenaires (cliniciens, laboratoires de biologie médicale) au niveau national, incluant l'Outre-mer et enquêtes à venir	138
8.3.2	Surveillance de la résistance aux anti-infectieux	139
8.3.3	Projets d'enquêtes ou d'études concourant à la surveillance	141
8.4	Travaux de recherche appliquées en lien avec les missions du CNR	141
8.4.1	Projets ANRS communs internationaux (cf annexe 3)	141
8.4.2	Laboratoire CHU Bordeaux (cf annexe 3)	142
8.4.3	Laboratoire APHP Saint-Louis (cf annexe 3)	142
8.4.4	Laboratoire APHP- GH Cochin	142
<b>1. Annexe 1</b>	<b>: Missions &amp; organisation du CNR</b>	<b>144</b>
1.1	Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	144
1.1.1	Expertise	144
1.1.2	Conseil	144
1.1.3	Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique	144
1.1.4	Contribution à l'alerte	145
1.2	Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	145

1.2.1	Laboratoire CHU de Bordeaux, laboratoire coordonnateur	145
1.2.2	Laboratoire APHP Saint-Louis, laboratoire associé	146
1.2.3	Laboratoire APHP Cochin, laboratoire associé	147
1.3	Locaux et équipements	148
1.3.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	148
1.3.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	149
1.3.3	Laboratoire Cochin	151
1.4	Collections de matériel biologique	152
1.4.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	152
1.4.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	154
1.4.3	Laboratoire APHP Cochin	155
1.5	Démarche qualité du laboratoire	156
1.5.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	156
1.5.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	156
1.5.3	Laboratoire APHP Cochin	158
2	<b>Annexe 2 : Capacités techniques du CNR</b>	<b>160</b>
2.1	Liste des techniques de référence	160
2.1.1	Laboratoire CHU de Bordeaux	160
2.1.2	Laboratoire APHP Saint-Louis	162
2.1.3	Laboratoire APHP Cochin	164
2.2	Liste des techniques recommandées par le CNR	165
3	<b>AUTRES ANNEXES</b>	<b>166</b>

Le CNR des IST bactériennes remercie Cécile Laurier pour son aide à la mise en forme du rapport.

## RÉSUMÉ ANALYTIQUE- FAITS MARQUANTS

### Laboratoire CHU de Bordeaux

#### 1. Infections à *Chlamydia trachomatis*

Une nouvelle **trousse commerciale** simplex pour le **diagnostic de la LGV** a été évaluée ainsi que deux **dispositifs d'auto-prélèvement** qui ont été validés pour une utilisation à domicile avec la trousse Xpert® CT/NG (projet mon test IST, CNAM).

**La surveillance des infections à *C. trachomatis*** en 2022 a concerné les infections anorectales dans le cadre de l'enquête **Anachla**, le réseau LGV s'étant arrêté en juin 2022. Le nombre de cas de LGV est stable avec une prévalence des souches L de 13,4% (197/1467 échantillons amplifiés), la LGV étant principalement diagnostiquée chez des HSH symptomatiques et séropositifs pour le VIH. Lors de cette enquête, après réception du typage L/non-L- les patients LGV ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans 73,94% des cas tandis que les patients non-LGV ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans 73,93% des cas.

Les résultats du PHRC national Chlazydoxy, étude multicentrique, randomisée en double aveugle comparant **l'efficacité de l'azithromycine et de la doxycycline pour le traitement de l'infection anorectale à *C. trachomatis* concomitante à une infection vaginale** ont été publiés dans le Lancet Infect Dis en 2022. Le taux de guérison anorectale microbiologique était significativement plus faible chez les femmes ayant reçu une dose unique d'azithromycine que chez celles ayant reçu un traitement de doxycycline d'une semaine. La doxycycline devrait être le traitement de première intention de l'infection à *C. trachomatis* chez les femmes.

#### 2. Infections à mycoplasmes urogénitaux

Trois nouvelles trousse commerciales de PCR en temps réel ont été évaluées pour la **détection de *M. genitalium* et de sa résistance aux fluoroquinolones**.

**La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. genitalium* en France métropolitaine** (38 centres, en augmentation) rapporte en 2021 une prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* à respectivement 35,2% (158/449) et 17,7%. La prévalence de la résistance aux macrolides était de 54,8% chez les hommes) versus 22,0% chez les femmes ( $p < 0,001$ ) tandis qu'il n'y a pas de différence de prévalence selon le sexe pour les fluoroquinolones. La résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* est stable depuis 4 ans. En Outre-mer, une **augmentation de la prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* est mise en évidence entre 2018 et 2021** avec un taux de 6,1% en 2018 vs 19,4% en 2021 pour les macrolides ( $p < 0,01$ ) et un taux de 1,3% en 2018 vs 5,3% en 2021 pour les fluoroquinolones ( $p < 0,05$ ).

**La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. en France métropolitaine en 2021** rapporte une prévalence de la résistance aux tétracyclines à 15% pour *M. hominis* et à 2% pour *Ureaplasma* spp. et une prévalence de la résistance aux fluoroquinolones à 5% pour *M. hominis* et à 2% pour *Ureaplasma* spp. Ces chiffres ne montrent pas de différence significative avec les taux de résistance observés dans l'enquête 2020.

### Laboratoire APHP Saint-Louis

En 2022, le **CA-SFM** a été modifié avec une diminution des molécules à tester et la disparition des zones intermédiaires pour la tétracycline ce qui fait augmenter le taux des souches résistantes qui inclut maintenant l'ancienne zone intermédiaire.

**L'étude ENGON 2021** rapporte une **proportion toujours très faible de souches résistantes au céfixime** (0,2% en 2020 vs 0,1% en 2021). Aucune souche résistante à la ceftriaxone n'a été retrouvée dans le cadre de cette enquête. On observe une **légère augmentation non significative des résistances aux fluoroquinolones (FQ<sup>R</sup>)** (64,9% vs 59,8% en 2020,  $p = 0,126$ ), de la résistance à la tétracycline (TET<sup>R</sup>) (91,4% vs 90,3% en 2020,  $p = 0,52$ ), avec une diminution des souches à haut niveau de résistance à la tétracycline (TET<sup>R-HN</sup>) (22,9% (168/734) vs 32,1% en 2020,  $p = 0,003$ ). Aucune résistance à la gentamicine ou à la spectinomycine n'a été observée. Les phénotypes de résistance les plus fréquemment observés sont TET<sup>R</sup> / FQ<sup>R</sup> (43%), TET<sup>R</sup> isolement (16,7%) et TET<sup>R-HN</sup> / FQ<sup>R</sup> (13%). **Le taux de résistance à l'azithromycine est similaire à celui observé en 2020** (9,7% en 2021 vs 9,5% en 2020,  $p = 0,94$ ) avec une émergence de souches à haut niveau de résistance.

Le séquençage des génomes des souches de 2021 rapporte que les quatre séquences types (ST) principaux circulants entre 2018 et 2020 (ST1583, ST9363, ST7822 et ST1599) sont toujours présents en 2021 dans des proportions légèrement moins importantes (12,7-7,5% 2018-2020 vs 6,6-5,4% en 2021). **L'émergence des ST9362 et ST11706** se confirme et s'intensifie en 2021 (respectivement 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> clone). Le clade ST9362 comportait plus de 50% des souches résistantes à l'azithromycine dont 77% (17/22) des souches résistantes de haut niveau. Nous avons également mis en évidence la transmission d'un clone ST9362 résistant aux quinolones en Polynésie Française.

En 2022, **sept souches invasives** sont décrites ; deux d'entre elles appartiennent au cluster MLST10314, cluster déjà rapporté en 2019 dans plusieurs cas d'anorectites abcédées, de kératoconjonctivites et de septicémie. Un nouveau cas de kératoconjonctivite perforée est rapporté chez un patient HSH de 24 ans et un cas d'arthrite chez une patiente hétérosexuelle de 44 ans. Ces données sont en faveur de la persistance et la circulation récente de ce clone sur les territoires Bourgogne-Franche Comté et Rhône Alpes.

Le CNR a réalisé cette année **2 alertes pour les infections génitales à gonocoques résistants aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G)** chez 2 patientes hétérosexuelles, ce qui va en faveur de l'importance de la surveillance de cette population.

### 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.

Nous avons évalué les performances cliniques pour **l'automatisation du test VDRL** sur le sérum ainsi que l'utilisation de **l'immunoblot pour l'analyse du LCR**.

Pour l'année 2022, **l'expertise moléculaire** a porté sur 670 échantillons analysés pour la détection du génome de *T. pallidum*, et **l'expertise sérologique** sur 739 échantillons de sérum et LCR.

Dans le cadre d'une **étude nationale engagée par l'EFS** sur les dons de sang syphilis positive, nous avons analysé 466 sérums.

Le **réseau GenoSyph** a permis de collecter 104 échantillons, dont 23 ont été positifs pour le génome de *T. pallidum*.

Dans le cadre de l'étude **Anachla** de Bordeaux, nous rapportons que 11% des échantillons anorectaux avec une sérologie syphilis positive présentaient une détection positive du génome de *T. pallidum*.

La surveillance de la **résistance aux anti-infectieux** en France métropolitaine et en Outre-Mer de *T. pallidum* en 2022 rapporte une prévalence de la **résistance à l'azithromycine de 74%**, ce chiffre est stable par rapport à l'année précédente.

Dans le cadre de **l'alerte**, nous rapportons 21 alertes pour des infections de neurosyphilis et 6 alertes pour des infections de syphilis congénitale en France métropolitaine en 2022.



## EXECUTIVE SUMMARY- HIGHLIGHTS

### Laboratory from Bordeaux University Hospital

#### 1. *Chlamydia trachomatis* infections

A new **commercial simplex kit for the diagnosis of LGV** was evaluated, and two **self-sampling devices** were validated for home use with the Xpert® CT/NG kit (my STI test project, CNAM).

**The surveillance of *C. trachomatis* infections** in 2022 concerned anorectal infections within the framework of the **Anachla** survey, the LGV network having stopped in June 2022. The number of LGV cases is stable with a prevalence of L strains of 13.4% (197/1467 amplified samples), LGV being mainly diagnosed in symptomatic and HIV-positive MSM. In this survey, after receiving the L/non-L- typing, LGV patients received treatment according to the recommendations in 73.94% of the cases while non-LGV patients received treatment according to the recommendations in 73.93% of the cases.

Results of the multicenter **CHLAZIDOXY study** were published in the Lancet Infect Dis in 2022. The Chlazidoxy trial is the first randomized controlled trial to compare doxycycline and azithromycin for the treatment of anorectal chlamydial infection in women. Our findings add to the evidence that doxycycline is superior to azithromycin for the treatment of anorectal *C. trachomatis* infection in women. Doxycycline should be the preferred first-line treatment for *C. trachomatis* infection.

#### 2. Urogenital mycoplasmal infections

Three new real-time PCR commercial assays for the **detection of *M. genitalium* and its resistance to fluoroquinolones** were evaluated in 2022.

Surveillance of ***M. genitalium* antimicrobial resistance in metropolitan France** (38 centers, increasing) reports in 2021 a prevalence of resistance to macrolides and fluoroquinolones in *M. genitalium* at 35.2% (158/449) and 17.7% respectively. The prevalence of macrolide resistance was 54.8% in males versus 22.0% in females ( $p < 0.001$ ) while there was no difference in prevalence by sex for fluoroquinolones. Resistance to macrolides and fluoroquinolones in *M. genitalium* has been stable over the last 4 years. **In overseas territories**, an increase in the prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance in *M. genitalium* is highlighted between 2018 and 2021 with a rate of 6.1% in 2018 vs 19.4% in 2021 for macrolides ( $p < 0.01$ ) and a rate of 1.3% in 2018 vs 5.3% in 2021 for fluoroquinolones ( $p < 0.05$ ).

Surveillance of **antimicrobial resistance in *M. hominis* and *Ureaplasma* spp. in metropolitan France** in 2021 reports a prevalence of resistance to tetracyclines of 15% for *M. hominis* and 2% for *Ureaplasma* spp. and a prevalence of resistance to fluoroquinolones of 5% for *M. hominis* and 2% for *Ureaplasma* spp. There was no significant difference with the resistance rates observed in the 2020 survey.

### Laboratory from APHP Saint-Louis

In 2022, the recommended molecules for antimicrobial susceptibility testing have been decreased by **the CA-SFM**. The intermediate zone for tetracycline has disappeared, increasing the rate of resistant strains that now encompasses the former intermediate zone.

**The ENGON 2021 study** reports that the **proportion of cefixime-resistant strains** is still very low (0.2% in 2020 vs. 0.1% in 2021). No ceftriaxone-resistant strain was found in this survey. There was a **slight non significant increase in resistance to fluoroquinolones** (FQR) (64.9% vs. 59.8% in 2020,  $p = 0.126$ ) and to tetracyclines (TET<sup>R</sup>) (91.4% vs. 90.3% in 2020,  $p = 0.52$ ), with a decrease in strains resistant to high-level tetracyclines (TET<sup>R-HN</sup>) (22.9% (168/734) vs. 32.1% in 2020,  $p = 0.003$ ). No gentamicin or spectinomycin resistance was observed. The most frequently observed resistance phenotypes were TET<sup>R</sup>/FQR (43%), TET<sup>R</sup> alone (16.7%), and TET<sup>R-HN</sup>/FQR (13%). **The rate of azithromycin resistance is similar** to that observed in 2020 (9.7% in 2021 vs. 9.5% in 2020,  $p = 0.94$ ) with the emergence of strains with high levels of resistance.

Whole genome sequencing (WGS) of NG isolates in the ENGON 2021 study reports that the top four sequence types (ST) circulating between 2018 and 2020 (ST1583, ST9363, ST7822, and ST1599) are still present in 2021 in slightly lower proportions (12.7-7.5% 2018-2020 vs 6.6-5.4% in 2021). **The emergence of ST9362 and ST11706** is confirmed and intensifies in 2021 (1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> clone, respectively). More than 50% of azithromycin-resistant NG isolates, including  $\frac{3}{4}$  of high-level azithromycin-resistant isolates, are found in the ST9362 clade. We also demonstrated transmission of a quinolone-resistant ST9362 clone in French Polynesia by WGS.

In 2022, **seven invasive strains** are described; two of them belong to the MLST10314 cluster, a cluster already reported in 2019 in several cases of abscessed anorectitis, keratoconjunctivitis, and septicemia. A new case of perforated keratoconjunctivitis is reported in a 24-year-old MSM patient and in a case of arthritis in a 44-year-old heterosexual patient. These data are in favor of the persistence and recent circulation of this clone in the Bourgogne-Franche Comté and Rhône Alpes territories.

The CNR has carried out two alerts for genital infections with 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin-resistant gonococci in two heterosexual women, confirming surveillance's importance in this population.

### **Laboratory from APHP Cochin**

In the context of re-emergence, syphilis remains a major health problem in at-risk groups and pregnant women who escape screening programs throughout pregnancy.

We evaluated clinical performance for the **automation of the serum VDRL assay** as well as the use of the **immunoblot for CSF analysis**.

For the year 2022, **the molecular expertise** covered 670 samples analyzed for the detection of the *T. pallidum* genome and **the serological expertise** on 739 serum and CSF samples.

As part of **a national study initiated by the EFS** on syphilis-positive blood donations, we analyzed 466 sera.

**The GenoSyph network** collected 104 samples, 23 of which tested positive for the *T. pallidum* genome.

As part of the **Bordeaux' Anachla study** we report that 11% of anorectal samples with positive syphilis serology had a positive detection of the *T. pallidum* genome.

Surveillance of **anti-infectious resistance in metropolitan France and overseas** for *T. pallidum* in 2022 reports a prevalence of azithromycin resistance of 74%, this number is stable compared to the previous year.

As part of **the alert**, we report 21 alerts for neurosyphilis infections and 6 alerts for congenital syphilis infections in metropolitan France in 2022.

# 1 Missions et organisation du CNR

---

Cf annexe 1.

## 2 Activités d'expertise

### Laboratoire CHU de Bordeaux : éléments clefs 2022

- Évaluation d'une trousse commerciale simplex pour le diagnostic de la LGV (90 échantillons).
- Évaluation de 3 trousse diagnostiques pour la détection de *M. genitalium* et de sa résistance aux fluoroquinolones (368 échantillons).
- Évaluation de plaques Sensititre (Biocentric) préparées à façon permettant de déterminer la sensibilité à 7 antibiotiques pour *M. hominis* et *Ureaplasma* spp.
- Évaluation de deux dispositifs d'auto-prélèvement validés pour une utilisation à domicile avec la trousse Xpert® CT/NG (projet mon test IST, CNAM)
- Echantillons biologiques positifs et souches de *C. trachomatis* en 2022 : 2325 échantillons positifs à *C. trachomatis* dans le cadre du diagnostic de la LGV, dont 1558 échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* (enquête Anachla 2022) et 143 échantillons anorectaux de génotype *C. trachomatis* L, 21 souches isolées.
- Echantillons biologiques positifs à *M. genitalium* : 989 en 2022 (recherche de résistance aux macrolides et fluoroquinolones), 599 (enquête surveillance résistance macrolides et fluoroquinolones, MYCOMET et DROM 2021).
- Souches de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* : 165 et (enquête sensibilité aux antibiotiques MYCOMET 2021), 61 et 25 souches antibiogrammées au CHU Bordeaux en 2019).

### Laboratoire APHP Saint-Louis : éléments clefs 2022

- Mise en place de la PCR LGV et de la détection de la résistance haut niveau à l'azithromycine par amplification et séquençage du gène *rrl* (ARNr 23S).
- 879 souches de gonocoques pour détermination de la sensibilité aux antibiotiques : 803 souches de l'enquête ENGON 2021, 8 souches résistantes à la ciprofloxacine du CH de Polynésie Française, 68 souches issues de demandes d'expertise au CNR (dont 7 invasives).
- 92 prélèvements cliniques positifs en TAAN *N. gonorrhoeae* pour la recherche de résistance sur prélèvements
  - 85 prélèvements de patients du Togo provenant de l'enquête ANRS DepIST-H
  - 7 prélèvements positifs à *N. gonorrhoeae* de cas cliniques expertisés au CNR
- 902 souches de gonocoques séquencées en NGS : 803 souches de l'enquête ENGON 2021, 82 souches provenant de l'étude ANRS174 Doxyvac, 7 souches invasives isolées en 2022, 8 souches du CH de Polynésie Française, 2 souches issues de cas envoyés au CNR.
- 902 séquences fastQ assemblées correspondantes aux souches séquencées stockées sur la plateforme bioinformatique de l'APHP « MOABI » <http://idfseqit.fr/> avec un bioprojet correspondant.
- Le CNR a stocké 82 souches de gonocoques issues de l'essai ANRS DOXYVAC174 et 635 souches de l'étude ENGON 2022 pour analyse en 2023.

### Laboratoire APHP Cochin : éléments clefs 2022

- 670 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise moléculaire, dont 33 ont été positifs pour *T. pallidum*
- 739 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise sérologique, dont 230 ont été positifs pour la syphilis.
- 104 échantillons analysés dans le cadre du protocole GenoSyph, dont 23 ont été positifs pour *T. pallidum*.

## 2.1 Evolution des techniques

### 2.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

La technique de **typage de *M. genitalium*** basée sur le séquençage du gène *mgpB* codant l'adhésine majeure MgPa a été modifiée avec une étape de PCR en temps réel pour améliorer sa sensibilité. Cette technique a été publiée en 2022 (Guiraud *et al.* Distinct *Mycoplasma genitalium* transmission networks among women and MSM in France, **Microorganisms**). Elle a notamment été utilisée pour typer *M. genitalium* au sein d'une cohorte de 305 femmes et 65 hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes (HSH).

Pour la détection de la **résistance aux fluoroquinolones chez *M. genitalium***, plusieurs kits commercialisés ont été testés et un article publié en 2022 dans **J Clin Microbiol** (cf paragraphe 2.2.3). Nous utilisons maintenant un de ces kits en routine, le kit Allplex MG & MoxiR de chez Seegene.

### 2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

- En 2022, le laboratoire de Bordeaux a transféré la technique de détection des souches L de *C. trachomatis* à l'hôpital Saint-Louis qui est maintenant équipé en routine de la trousse **VIASURE *C. trachomatis* LGV Real Time PCR Detection kit** de **CerTest BIOTEC** marquée CE-IVD et revendue par KeyOfLab.

La mise en place de cette technique a permis d'effectuer une étude rétrospective de prévalence de la LGV à l'hôpital St Louis en 2021. Le diagnostic de LGV au sein du GH Saint Louis/Lariboisière retrouve des données similaires à celles observées lors des enquêtes nationales ANACLHA menées par le CNR : prévalence de 15,7% vs 16,9% en 2021, tous les patients LGV + étaient des HSH d'âge moyen 34 ans (27-62 ans) dont la moitié étaient séropositifs pour le VIH. Ce travail a fait l'objet d'une présentation à la RICAI 2022.

Par ailleurs, le laboratoire de Saint-Louis a développé deux PCR spécifiques ciblant deux régions du gène *rrl* de *N. gonorrhoeae* codant l'ARNr 23S. Cette nouvelle technique détecte les mutations impliquées dans la résistance à haut niveau à l'azithromycine et permet de compléter l'analyse moléculaire des résistances aux antibiotiques pratiquée sur prélèvements. Ce travail a fait l'objet d'une présentation à la RICAI 2022 sous forme de poster et de l'ECCMID 2023 (cf. chapitre 6.1.3.2).

### 2.1.3 Laboratoire APHP Cochon

#### - Mise en place et validation d'un test multiplex pour *T. pallidum*

Ce travail a été réalisé dans le cadre du Master 2 de Romain Salle et financé par la Société Française de Dermatologie. Ce test réalise l'amplification simultanée de 2 gènes cibles (*tpp47* et *polA*) de *T. pallidum* par PCR en temps réel ainsi qu'un gène humain pour le contrôle interne d'extraction/amplification.

La qPCR a été comparée au diagnostic de syphilis basé sur une combinaison d'examens cliniques, de résultats sérologiques et de la PCR nichée (nPCR) utilisée en routine. Au total, d'octobre 2010 à décembre 2016, 320 échantillons cliniques documentés (écouvillons cutanéomuqueux) ont été prélevés sur des patients atteints ou non de syphilis fréquentant des centres d'IST en France. La qPCR avait une sensibilité globale de 89% (IC à 95% : 85,1-92,1%), une spécificité de 100%, une valeur prédictive positive de 100% et négative de 88% (IC à 95% : 84,3-91,5%). L'accord entre les résultats de la qPCR et de la nPCR était de 94% ( $\kappa = 0,88$ , IC à 95% : 0,83-0,93). L'étalonnage du test qPCR, en clonant à la fois les gènes *polA* et *tpp47*, a défini le seuil de détection à 1 copie/ $\mu$ l. Cette qPCR est maintenant utilisée en routine au LA Syphilis en remplacement de la nPCR.

Ce travail a fait l'objet d'une publication : Salle *et al.*, **Sex Transm Infect** 2022, doi: 10.1136/sextrans-2021-055364.

## 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

### 2.2.1 Évaluation de trousse diagnostiques pour *C. trachomatis* et pour la LGV

Nous avons testé la trousse commercialisée **VIASURE *C. trachomatis* LGV Real Time PCR Detection kit** (CerTest BIOTEC, Espagne). Ce kit permet d'identifier les souches de *C. trachomatis* de génovar L à partir d'échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis*. Ce kit inclut un contrôle interne et fait appel à une chimie de type TaqMan. Nous avons évalué les performances de ce kit en testant 90 échantillons anorectaux collectés prospectivement en 2022 au CNR des IST bactériennes. Parmi ces 90 échantillons, 45 étaient de génovar L et 45 de génovar non-L. Le diagnostic de la LGV au CNR est réalisé en utilisant une technique de PCR en temps réel ciblant le gène *pmpH* (Morré *et al.*, *Emerg Infect Dis*, 2005). Le typage du gène *ompA* des 45 échantillons de génovar L a montré une prédominance de génovar L2, suivie de génovariants L2b et d'un génovariant L1. Les tests avec le kit VIASURE *C. trachomatis* LGV Real-Time PCR Detection ont été réalisés selon les recommandations du fournisseur. L'amplification a été réalisée sur l'automate LightCycler 480 (Roche diagnostics), France). Au total, le kit a identifié une souche de génovar L de *C. trachomatis* pour les 45 échantillons LGV testés, montrant une

concordance globale de 100% (IC95% 95,9-100) avec notre méthode de référence et une sensibilité et spécificité analytique de 100% (IC95% 92,1-100).

En conclusion, le kit VIASURE *C. trachomatis* (LGV) Real-Time PCR Detection présente de très bonnes performances pour le diagnostic de la LGV à partir d'échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis*.

Ce kit est marqué CE-IDV et la demande d'IVDR est en cours.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal **Clinical Microbiol Infect** (Touati et al. Clin Microbiol Infect, 2022).

### 2.2.2 Evaluation de trois trousse pour le diagnostic moléculaire de *M. genitalium* et de sa résistance aux fluoroquinolones

La forte prévalence de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* entraîne un recours accru à la moxifloxacine, traitement de deuxième intention, mais la résistance à la moxifloxacine est en augmentation.

Nous avons évalué les performances de trois kits commercialisés de PCR en temps réel pour la détection des mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* : le test Allplex MG&MoxiR (Seegene), le kit LightMix Modular parC (TIBMOBIO) et le kit qPCR MGMO (NYtor) en comparaison avec le séquençage Sanger du gène *parC* utilisé comme référence.

Entre janvier 2018 et décembre 2020, les échantillons cliniques positifs pour *M. genitalium* reçus au CNR des IST bactériennes ont été collectés si un résultat de séquençage Sanger avait pu être obtenu pour le gène *parC*. Au total, 368 spécimens positifs pour *M. genitalium* ont été évalués. Les sensibilités cliniques pour la détection des mutations dans *parC* susceptibles d'avoir une signification clinique étaient de 91,8 % (IC 95 %, 83,2-96,21), 98,6 % (IC à 95 %, 92,4-99,8) et 94,4 % (IC à 95 %, 86,6-97,8) respectivement pour les trousse Allplex MG & MoxiR, LightMix Modular parC et MGMO qPCR, sans différence significative entre les trois trousse. La spécificité clinique des trousse Allplex MG & MoxiR et MGMO qPCR était de 100 % (IC 95 % respectifs de 97,7-100 et 98,7-100), ce qui était significativement plus élevé que la spécificité de la trousse LightMix Modular parC mesurée à 95,4 % (IC 95 %, 92,3-97,3). Pour cette dernière trousse, l'interprétation des courbes de fusion peut s'avérer trompeuse.

Ces kits seront utiles pour le choix de l'antibiothérapie dans les infections à *M. genitalium* résistant aux macrolides, bien que des développements supplémentaires puissent être nécessaires car les mutations *parC* impliquées dans la résistance aux fluoroquinolones n'ont pas été encore déterminées avec précision.

Ces données ont été présentées sous forme d'une **communication orale au 32<sup>ème</sup> congrès de l'ECCMID** à Lisbonne en avril 2022 et ont été publiées dans **J Clin Microbiol** en 2022.

### 2.2.3 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 MICRONAUT-S 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 (Figure ci-dessous). 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.

	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=Azithromycine ; T+=Témoin positif ; T-=Témoin négatif / Concentration en mg/L.

Figure. Plan de la plaque MICRONAUT-S customisée.

Un total de 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) a été testé avec les plaques en utilisant en parallèle comme référence la méthode de détermination des CMI en milieu liquide par microdilution définie par le CLSI. 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.

Avec un inoculum de  **$10^5$  UCC/ml incubé pendant 24 h pour *Ureaplasma* spp. et 48 h pour *M. hominis***, toutes les CMI obtenues avec les plaques MICRONAUT-S étaient conformes aux résultats de la méthode de référence du CLSI, avec une différence ne dépassant une dilution d'un facteur 2.

**En conclusion**, ces plaques, d'utilisation simple et rapide, donnent des résultats équivalents à la méthode de référence plus laborieuse. Cette technique a été utilisée pour déterminer les CMI de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* lors des enquêtes annuelles MYCOMET 2020 et 2021 (voir paragraphe 3.3.1).

Ces résultats ont été présentés sous forme de poster à la **RICAI 2022 et au 32<sup>ème</sup> congrès de l'ECCMID en 2022**. Ils seront aussi présentés au **congrès de l'International Organization for Mycoplasma en juillet 2023**. Une publication est en préparation.

## 2.2.4 Trousses de diagnostic sérologique de la syphilis

### - Automatisation du test non tréponémique (TNT)

Evaluation des performances d'un nouvel automate **Gold Standard Diagnostics AIX 1000**, système entièrement automatisé du TNT pour la détection et le dosage des anticorps anti-cardiolipidiques, lecithin et cholestérol par réaction d'agglutination de particules de charbon sensibilisées.

Tableau. Performances du test RPR Gold Standard Diagnostics validé au CNR sur le panel «syphilis n°1».

Caractéristiques	Patient (n)	Automate AIX 1000				Résultat de référence <sup>a</sup>			
		Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
Tous stades	69	78,3	100	100	69.7	80	100	100	71,8
Syphilis primaire	34	79	100	100	75	76,5	100	100	74,2
Syphilis secondaire	11	91	100	100	95	91	100	100	95,5
Latente précoce	1	100	100	100	100	100	100	100	100

<sup>a</sup>Les sérums ont été testés en parallèle avec le réactif RPR ASI (Launch), méthode de référence du CNR.

**Conclusion :** L'automatisation du TNT a été validée (sensibilité 78,3% et spécificité 100%) et est comparable au TNT utilisé en routine au laboratoire. L'automatisation a l'avantage d'être plus reproductible avec une lecture automatisée.

#### - Evaluation du test tréponémique (TT) Immuno Blots *versus* le TNT VDRL sur le liquide céphalo-rachidien dans le diagnostic de neurosyphilis.

112 LCR ont été testés par ImmunoBlot (*Treponema pallidum* (LINE) Line Immunoblot IgG, Virotech, Rüsselsheim, Germany) et VDRL (NADAL® VDRL Agglutination Slide Test, Nal von Minden, Moers, Germany)

Caractéristiques	Patient (n)	ImmunoBlot IgG				Résultat de référence VDRL			
		Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
LCR	112	62	85	68	82	51	92	70	85

**Conclusion :** le TT immunoBlot IgG présente une meilleure sensibilité mais une moins bonne spécificité.

#### 2.2.5 Mon test IST

O. Peuchant et C. Bébear travaillent avec le Dr Isabelle Vincent et ses collègues de la **CNAM** à propos du projet de **dépistage CT/NG « Mon test IST »** permettant d'accroître le recours au dépistage chez les jeunes de 18 à 25 ans « éloignés des soins » en France entière. Dans ce cadre, O. Peuchant a mis en place en 2022 au CNR IST une étude de validation de méthode pour le diagnostic CT/NG à partir d'écouvillons validés pour une utilisation à domicile avec l'automate GeneXpert de Cepheid.

Ce projet fait partie de la feuille de route de stratégie nationale de santé sexuelle 2021-2024. La stratégie de prévention de l'Assurance Maladie 2019-2022 à destination des Jeunes de 16 à 25 ans a prévu la mise en œuvre d'un dispositif de dépistage des infections à *C. trachomatis* par auto-prélèvement en France entière (Métropole + DROM sauf Guyane et Mayotte). Les objectifs de ce projet sont d'accroître le nombre de dépistages des IST à *C. trachomatis* et à gonocoque chez les jeunes (18-25 ans) éloignés du système de soins et/ou socialement défavorisés, et d'augmenter le dépistage ciblé, répété, et adapté aux modes de vie de populations exposées.

**Une première phase pilote de mise en œuvre d'un dispositif dématérialisé de dépistage par autoprélèvement des IST** sera menée, avec une ouverture du dispositif aux jeunes en 2023. SpF estime le volume des analyses à environ 50.000 par an. L'ensemble des analyses sera réalisé au sein du laboratoire de biologie médicale Réaumur de la CPAM de Paris, sur l'automate GeneXpert (Cepheid).

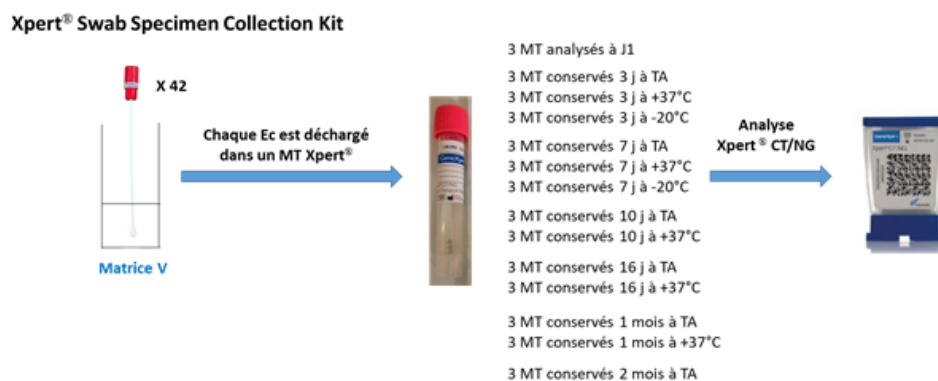
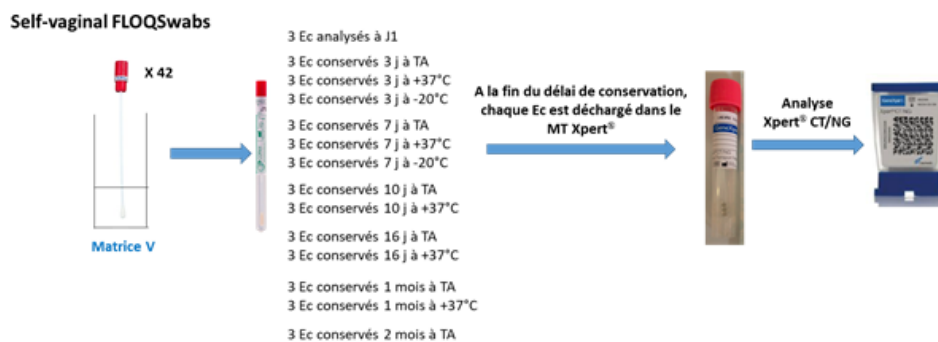
**En octobre 2021**, la CNAM a contacté le CNR des IST des bactériennes car le projet « Mon test IST » s'appuie sur des auto-prélèvements urinaires et vaginaux réalisés en milieu de transport Cepheid en dehors des conditions



autorisées par le fournisseur, dans un environnement dit « hors milieu clinique ». L'entreprise Cepheid n'a pas validé la méthode d'autoprélèvement en milieu hors clinique. Le CNR a participé activement, dans un premier temps, à la sélection de deux modalités d'autoprélèvements à domicile : recueil du premier jet d'urines à l'aide du Self UriSponge™ (Copan) et auto-prélèvement vaginal à l'aide du Self-Vaginal FLOQSwabs (Copan). Dans un deuxième temps, le CNR a évalué ces deux dispositifs d'auto-prélèvement validés pour une utilisation à domicile avec la trousse Xpert® CT/NG.

### - Etude du Self-Vaginal FLOQSwabs® (Copan) vs Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid)

Deux matrices humaines naturelles négatives constituées d'écouvillonnages vaginaux cliniques groupés ont été infectées avec les souches *C. trachomatis* D/UW-3/Cx (CT) et *N. gonorrhoeae* WHO B (NG) à forte concentration (CT à 106 IFU/mL et NG à 106 CFU/mL) et faible concentration (CT à 104 IFU/mL et NG à 10 CFU/mL). Chaque matrice vaginale infectée a été testée avec l'écouvillon vaginal/endocervical Xpert® CT/NG Cepheid® et l'écouvillon Copan, à différents temps de mesure (J1, J3, J7, J10, J16, M1 et M2) et à différentes températures (ambiante, +37°C et -20°C), afin de valider le transport des prélèvements par voie postale.



Ec: écouvillon; j: jour; TA: température ambiante; MT: Milieu transport (Xpert® Swab Transport Reagent)

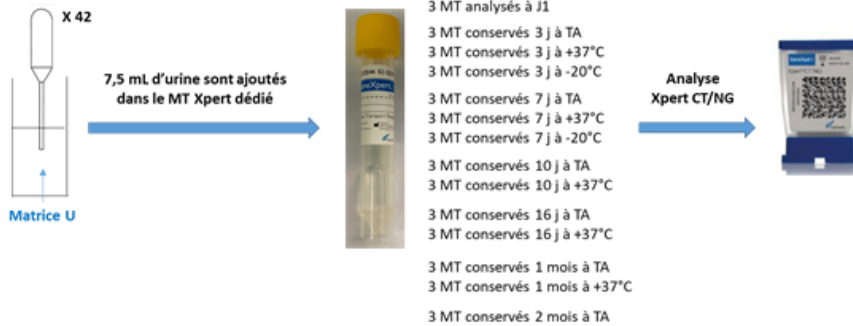
### - Etude du Self UriSponge™ (Copan) vs Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid)

Deux matrices naturelles négatives constituées d'urines d'hommes groupées ont été infectées avec les mêmes souches à forte concentration (CT à 106 IFU/mL et NG à 106 CFU/mL) et à faible concentration (CT à 104 IFU/mL et NG à 10 CFU/mL). Chaque matrice urinaire infectée a été testée selon les recommandations de recueil d'urines préconisées par Cepheid® et Copan, et selon les mêmes conditions que précédemment. Tous les tests ont été réalisés en triplicate.

### Self UriSponge™



### Xpert® Urine Specimen Collection Kit



### -Analyse des résultats :

Calcul de la Concordance globale + IC 95%

Calcul de la moyenne des Ct par condition et par type d'échantillon

Calcul du  $\delta$  Ct = différence de Ct entre la moyenne de Ct obtenue avec le dispositif Copan pour chaque condition testée et la moyenne de Ct obtenue avec le dispositif Cepheid à J1 à température ambiante (recommandations fournisseur). ( $\delta$  Ct = 3,33 correspond à une diminution de  $1\log_{10}$  de la charge bactérienne)

### Résultats

Pour chaque matrice, 84 tests ont été réalisés. Les 2 dispositifs d'auto-prélèvement vaginaux montrent une concordance globale de 98,8% [IC 95%, 93,5-99] pour la détection de CT à forte et faible concentrations, de 100% [95,6-100] et de 98,8% [93,5-99] pour NG respectivement à forte et faible concentrations. Les 2 dispositifs d'auto-prélèvement urinaires montrent une concordance globale de 100% [95,6-100] pour la détection de CT à forte et faible concentrations, de 100% [95,6-100] pour NG à forte concentration, et de 90,5% [82,3-95] pour NG à faible concentration. Ce dernier résultat est dû à une plus faible détection de NG avec l'Urisponge à partir de J16 quelle que soit la température testée.

### Conclusion

L'utilisation du Self-Vaginal FLOQSwabs présente de très bons résultats avec toutes les conditions testées. Avec l'Urisponge, il est recommandé de réaliser l'analyse dans les 16 jours après la réalisation du prélèvement.

Ce travail a fait l'objet d'une communication affichée au congrès de la **RICAI en décembre 2022**.

## 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

### 2.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

#### 2.3.1.1 Diagnostic de la LGV

- Envoi du protocole diagnostic de la LGV (PCR en temps réel maison) au Laboratoire de Biochimie-Biologie Moléculaire, CH Cornouaille à Quimper, au Laboratoire de Biologie Médicale de l'Hôpital Sainte Musse à Toulon et au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Saint Louis, APHP Paris.

- Envoi du protocole diagnostic de la LGV (PCR en temps réel maison) + un extrait ADN d'une culture de la souche de référence L2/434-Bu (ATCC VR-902B), à utiliser comme témoin positif, au Laboratoire de Bactériologie du CHU de Rennes.

- Conseils sur le choix des trousse commercialisées pour le diagnostic de la LGV pour le Laboratoire de Virologie du CHU de Rouen, pour Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Cochin à Paris, pour le Laboratoire Départemental d'Analyses 13 à Marseille, l'IFB PURPAN Toulouse et au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Saint Louis, APHP Paris.
- Envoi d'un extrait ADN d'une culture de la souche de référence L2/434-Bu (ATCC VR-902B), à utiliser comme témoin positif, à Eurofins Biomnis, Ivry sur Seine, à l'IFB PURPAN Toulouse, au Laboratoire de Virologie du CHU de Rouen.

### 2.3.1.2 Détection de résistance de *M. genitalium* aux macrolides

Réponses par courriel ou au téléphone à de nombreux questionnements de biologistes sur la mise en place et l'utilisation des différents tests commercialisés de PCR en temps réel pour la détection de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium*. Les réponses ont été apportées en se basant sur les tests de comparaison réalisés lors de la précédente mandature au CNR.

### 2.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Aucune technique n'a été transférée en 2022.

### 2.3.3 Laboratoire APHP Cochin

Aucune technique n'a été transférée en 2022.

## 2.4 Collections de matériel biologique

### 2.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Matériel biologique collecté au laboratoire du CHU de Bordeaux, conservé à -80°C dans des congélateurs sécurisés au CHU de Bordeaux ou envoyé au CRB Bordeaux Biothèque Santé (BBS) du CHU de Bordeaux, entre le 1<sup>er</sup> janvier et le 31 décembre 2022 :

- 2325 échantillons positifs à *C. trachomatis* dans le cadre du diagnostic de la LGV en 2022, dont 1558 échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* reçus dans le cadre de l'enquête Anachla 2022 et 143 échantillons anorectaux de génovar *C. trachomatis* L. Les échantillons positifs à souche L sont conservés au CRB, les autres sont conservés à -80°C au CHU de Bordeaux.
- 21 souches de *C. trachomatis* isolées au CHU de Bordeaux entre 2021 et 2022 envoyées au CRB.
- 989 échantillons biologiques positifs à *M. genitalium* envoyés au CNR en 2022 (869 extérieurs et 120 CHU de Bordeaux) dans le cadre de la recherche de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones. Parmi ces prélèvements, 67 ayant bénéficiés d'une recherche de résistance à la moxifloxacine ou à la pristinamycine ont été envoyés au CRB.
- 599 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 France métropolitaine pour 2021 (MGMET 2021). L'ensemble de ces prélèvements a été envoyé au CRB.
- 165 souches de *Ureaplasma* spp. et 40 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 (MYCOMET 2021), ces 205 souches ont été envoyées au CRB. De plus, 61 souches d'uréaplasmes et 25 souches de *M. hominis* ont été isolées et antibiogrammées au CHU de Bordeaux en 2022 et conservées au laboratoire du CHU de Bordeaux.

### 2.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Matériel biologique conservé au CNR à l'hôpital Saint-Louis, entre le 1<sup>er</sup> janvier et le 31 décembre 2022 :

Collection de souches de gonocoque

- o 803 souches collectées au niveau national et reçues en 2021-22 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2021)

- o 635 souches et questionnaires cliniques collectés au niveau national et reçus en 2022-23 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2022)
- o 68 souches issues de demandes d'expertise au CNR (dont 7 responsables d'infections invasives)
- o 82 souches isolées dans le cadre de l'essai clinique DOXYVAC ANRS174
- o 8 souches issues d'une collaboration avec le CH de Polynésie Française pour l'étude d'une suspicion de cas groupés au sein d'une cohorte de patients

Collection de 92 prélèvements cliniques positifs en qPCR à gonocoque et expertisés pour les études suivantes :

- o 7 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* issus de cas cliniques expertisés au CNR
- o 85 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* issus d'une cohorte de patients HSH à Lomé, Togo dans le cadre de l'étude DepISTH

Collection de 1724 prélèvements cliniques positifs par TAAN dans le cadre de l'essai DOXYVAC ANRS174

- o 544 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* (dont 222 en 2021)
- o 195 échantillons positifs à *C. trachomatis* (dont 88 en 2021)
- o 890 échantillons positifs à *M. genitalium* (dont 301 en 2021)
- o 44 échantillons positifs à *T. vaginalis* (dont 10 en 2021)
- o 51 tubes UTM positifs à *C. trachomatis* (dont 1 en 2021)

Collection de séquences de génomes complets :

- o 902 génomes séquencés en NGS en 2022
- o 432 génomes séquencés en NGS en 2021
- o 457 génomes séquencés en NGS en 2020
- o 396 souches séquencées en NGS en 2019
- o 355 souches séquencées en NGS en 2018
- o 11 souches WHO A → Z

Matériel biologique envoyé au CRB Bordeaux Biothèque Santé (BBS) du CHU de Bordeaux (flux tendu ANRS) entre le 1<sup>er</sup> janvier et le 31 décembre 2022 dans le cadre de l'étude DOXYVAC : 6071 tubes en milieu de transport Roche et 6071 tubes en milieu Eswab.

### 2.4.3 Laboratoire APHP Cochin

Matériel biologique envoyé au CNR en 2022 :

- 670 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise moléculaire, dont 33 ont été positifs pour *T. pallidum*.

- o 291 LCR, dont 52 positifs pour *T. pallidum*
- o 233 échantillons périnataux dont 8 positifs
- o 113 écouvillons lésions cutanéomuqueuses dont 20 positifs
- o 30 biopsies dont 8 positives
- o 14 sangs totaux dont 1 positif
- o 11 prélèvements « autres » dont 2 positifs

- 396 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise sérologique, dont 230 ont été positifs pour la syphilis.

- 104 échantillons analysés dans le cadre du protocole GenoSyph, dont 23 ont été positifs pour *T. pallidum*.

- 53 échantillons positifs pour *T. pallidum* provenant de l'expertise et de GenoSyph analysés pour la recherche des marqueurs génétique de résistance à l'azithromycine : 74% des échantillons présentent la mutation A2058G (numérotation *Escherichia coli*).

## 2.5 Activités d'expertises

### 2.5.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

#### 2.5.1.1 Réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis*

Entre 2017 et 2022, dans le cadre du **réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis***, le CNR a reçu 15 215 échantillons dont 15 010 d'origine anorectale. En 2022, dans le cadre du **réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis***, le CNR a reçu et typé 2320 échantillons dont 2290 d'origine anorectale.

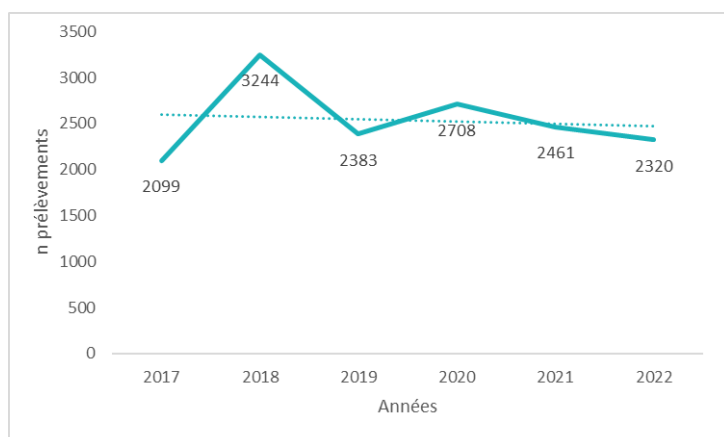


Figure. Évolution du nombre d'échantillons reçus au CNR depuis 2017.

La répartition et le typage des 30 échantillons non rectaux sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau. Nature des échantillons extra-rectaux typés en 2022 dans le cadre du réseau de surveillance de la LGV.

Nature des échantillons	Souche L	Souche non L
Adénopathie	7	4
Pharyngé	0	6
Ulcération	1	0
Urètre	0	1
Total	8	22

#### 2.5.1.2 Mycoplasmes urogénitaux

##### - *Mycoplasma genitalium*

En 2022, dans le cadre de la **recherche de résistance chez *M. genitalium***, le CNR a reçu 989 échantillons provenant de 106 centres, avec une augmentation de 29% par rapport à 2021 (767 échantillons reçu en 2021). La répartition des échantillons par centre en 2022 est donnée dans le tableau global.

Les pourcentages de résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones des échantillons reçus sont présentés dans le Tableau ci-dessous. Ces prévalences de résistance sont nettement supérieures à celles retrouvées lors des enquêtes annuelles de prévalence de la résistance de *M. genitalium* en métropole (MGMET 2021, cf. paragraphe 3.3.2), suggérant que les laboratoires extérieurs envoient surtout des échantillons lors de difficultés de traitement en lien avec la résistance des souches.

Tableau. Pourcentage de résistance de *M. genitalium* aux macrolides et fluoroquinolones, 2021-2022.

% résistance	2021	2022
Aux macrolides	45,0%	45,6%
Aux fluoroquinolones	71,4%	75,4%

- *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma* spp.

En 2022, le CNR a reçu 34 échantillons pour la recherche mycoplasmes urogénitaux par PCR provenant de 15 centres, 47 échantillons pour la recherche de mycoplasmes urogénitaux par culture provenant de 26 centres. La répartition des échantillons par centre en 2022 est donnée dans le tableau global.

Tableau. Activité d'expertise, mycoplasmes urogénitaux, 2022.

	Nombre d'échantillons
<b>Culture, antibiogrammes et CMI de <i>Ureaplasma</i> spp. et <i>M. hominis</i></b>	
CH FOCH	12
CH PAU	3
CHU ANGERS	3
CHU DIJON	3
CHU MONTPELLIER	4
CHRU BREST	2
CH ARGENTEUIL	1
CH ARMAND TROUSSEAU	1
CH ARRAS	1
CH BESANCON	1
CH BRIVE LA GAILLARDE	1
CH CHOLET	1
CH FELIX GUYON	1
CH METROPOLE SAVOIE	1
CH ROBERT DEBRE	1
CH VALENCIENNES	1
CHI CRETEIL	1
CHU GABRIEL-MONTPIED	1
CHU HOPITAL ARCHET	1
GH SUD REUNION SAINT PIERRE	1
HOPITAL SAINT LOUIS	1
HOPITAL SAINT-JEAN	1
LABM ASTRALAB PONT NEUF	1
LABM BIOGROUP ORIADE NOVALE	1
LABM ESPACEBIO	1
LABM LABORIZON MAINE ANJOU	1
<b>Total</b>	<b>47</b>

---

**PCR *Ureaplasma* spp. et *M. hominis***

CH FOCH	9
CH PAU	4
CH LIBOURNE R. BOULIN	3
HOPITAL SAINT-JEAN	2
CH BRIVE LA GAILLARDE	2
CH METROPOLE SAVOIE	2
CH PERIGUEUX	2
CHU HOPITAL ARCHET	2
CH AGEN-NERAC - HOSPILAB 47	1
CH ARMAND TROUSSEAU	1
CH LE MANS	1
CH NECKER ENFANTS MALADES	1
CH NORD ESSONNE LONGJUMEAU	1
CH RENE DUBOS	1
CH ROBERT DEBRE	1

---

<b>Total</b>	<b>34</b>
--------------	-----------

---

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

CHU BORDEAUX	120
LABM LXBIO	129
LABM BIOSITES MONTREUIL JUIGNE	127
LABM EUROFINS BIOMNIS	106
HOPITAL SAINTE MUSSE	63
CHG CAHORS	37
CH LA SOURCE	32
CH BRABOIS	27
CHT GASTON BOURRET NOUMEA	24
LABM BIOFFICE BORDEAUX	23
LABM CERBALLIANCE	20
CH BESANCON MINJOZ	16
LABM EUROFINS BIOFFICE	16
CHU NANTES - INST. BIOLOGIE	13
LABM UNILABS	13
CH MOULINS YZEURE	10
LABM MAYMAT MOULINS	9
CH DU HAVRE MONTIVILLIERS	8
CH PITIE-SALPETRIERE	8
LABM CBM25 TERRE ROUGE	8
CH VALENCIENNES	7

CH BAYONNE COTE BASQUE	6
CH OUEST REUNION	6
CH VERSAILLES	6
CHU LIMOGES	6
LABM ORIADE	6
CHI SUD GIRONDE	5
GHI CATHOLIQUE DE LILLE - CH SAINT PHILIBERT	5
CH MONTAUBAN	4
CH TOURCOING	4
CHI MARMANDE	4
CHU DIJON BOURGOGNE	4
INSTITUT ALFRED FOURNIER	4
CH BIGORRE TARBES	3
CH FELIX GUYON	3
CH SAINT BRIEUC YVES LE FOLL	3
CHU MONTPELLIER A. VILLENEUVE	3
GH SUD REUNION SAINT PIERRE	3
HOPITAL SAINT ANTOINE	3
LABM BASSIN POTASSIQUE	3
LABM BIOALLIANCE ORLEANS	3
LABM BPO BIOEPINE	3
LABM ESPACEBIO	3
LABM LABORIZON BRETAGNE	3
CH ANNECY GENEVOIS	2
CH CHARLES PERRENS	2
CH DAX COTE D'ARGENT	2
CH DELAFONTAINE	2
CH LONS LE SAUNIER	2
CHU AMIENS PICARDIE SITE SUD	2
CHU CHARLES NICOLLE	2
CHU GABRIEL-MONTPIED	2
CHU LYON	2
CHU POITIERS LA MILETRIE	2
CHU RENNES PONTCHAILLOU	2
CHU TOULOUSE PURPAN - IFB	2
GRAND HOPITAL DE L EST FRANCILIEN	2
HOPITAL APHP TENON	2
HOPITAL SAINT LOUIS	2
LABM BC-LAB DIJON	2



LABM CERBA	2
UNILIANS DECINES	2
BIO LAM LCD GAGNY	1
CENTRE MEDICO SOCIAL LA PLAINE	1
CH CANNES	1
CH CENTRE BRETAGNE	1
CH CHARLEVILLE MEZIERES	1
CH DOURDAN	1
CH DR SCHAFFNER LENS	1
CH DU PAYS D'AIX	1
CH LE MANS	1
CH LOUIS MOURIER	1
CH MACON	1
CH MONT DE MARSAN LAYNE	1
CH PAU	1
CH RODEZ	1
CH SAINT-MALO- BROUSSAIS	1
CH WILLIAM MOREY	1
CHG BEZIERS	1
CHU LE CORBUSIER FIRMINY	1
CHU STRASBOURG- HOPITAL CIVIL	1
CLINIQUE AMBROISE PARE	1
HOPITAL BICHAT CLAUDE BERNARD	1
HOPITAL COCHIN	1
HOPITAL DE MERCY	1
HOPITAL HOTEL-DIEU	1
HOPITAL NORD FRANCHE COMTE	1
HOPITAUX DROME NORD	1
LABM ARC-EN-CIEL - CERBALLIANCE	1
LABM ATOUTBIO STANISLAS	1
LABM BIOFUTUR BELLEVILLE	1
LABM BIOGROUP CAB - OBERNAI	1
LABM BIOGROUPE BIOMAG	1
LABM BIOLAB 33 HAILLAN	1
LABM BIOLOR	1
LABM BIOPATH COQUELLES	1
LABM BIORYLIS	1
LABM BIO-VAL THONON	1
LABM DYNABIO DU CARREAU	1

LABM EUROFINIS BIOLAB	1
LABM EXALAB J.VILLAR	1
LABM MARX DORMOY BIOLAB LCD	1
LABM OUILAB	1
LABM SELAR XL BIO	1
LABM TANNERIE - BIOGROUP	1
LBM ALLIANCE ANABIO MELESSE	1
<b>Total</b>	<b>989</b>

Les résultats concernant les mycoplasmes urogénitaux sont transmis dans un délai de cinq 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 une à deux semaines.

## 2.5.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Au cours de l'année 2022, le CNR a reçu un total de 690 souches de gonocoque et 92 prélèvements cliniques provenant de centres hospitaliers ou laboratoires pour une expertise dans le cadre d'une suspicion de gonococcie.

Le Tableau ci-dessous recense le nombre souches reçues pour l'étude ENGON 2022.

**Tableau. Nombre de souches reçues pour activités d'expertise gonocoque en 2022**

LABM ou Hôpitaux	2022	LABM ou Hôpitaux	2022
CH ABBEVILLE	2	CHU STRASBOURG	6
CH AIX-EN-PROVENCE	4	CHU TOULOUSE	17
CH BOULOGNE SUR MER	1	HOPITAL AMBROISE PARE (Boulogne-Billancourt)	1
CH COMPIÈGNE-NOYON	1	HOPITAL ANTOINE BECLERE (Clamart)	5
CH ÉMILE DURKHEIM	3	HOPITAL BEAUJON (Clichy)	9
CH JURA SUD	1	HOPITAL BICHAT (Paris)	10
CH LA CROIX ROUSSE (Lyon)	48	HOPITAL HENRI MONDOR (Créteil)	2
CH LA ROCHELLE	2	HOPITAL KREMLIN-BICETRE (Le Kremlin-Bicêtre)	28
CH LENS	9	HOPITAL LARIBOISIERE (Paris)	32
CH MONTÉLIMAR	1	HOPITAL LOUIS MOURIER (Colombes)	9
CH MOULINS-YZEURE	3	HOPITAL PITIE-SALPETRIERE (Paris)	9
CH PERPIGNAN	1	HOPITAL SAINT ANTOINE (Paris)	20
CH POLYNESIE (Papeete)	8	HOPITAL SAINT LOUIS (Paris)	51
CH SAINT-NAZAIRE	1	HOPITAUX DROME NORD (Romans-Sur-Isère)	2
CH TOULON	9	INSTITUT ALFRED FOURNIER (Paris)	68
CH TOURCOING	2	LABM BIOCEANE (Le Havre)	22
CH VERSAILLES (Le Chesnay)	6	LABM BIOEXCEL (Saint-Doulchard)	5
CHI COMPIÈGNE	1	LABM BIOLAM LCD (Saint-Denis)	31
CHR ORLEANS	6	LABM BIOLYSS (Limoges)	6
CHRU BREST	17	LABM BIOPAJ VAUBAN (Valenciennes)	20
CHRU NANCY	8	LABM BIO-VSM (Torcy)	1
CHRU TOURS	8	LABM CBM25 (Besançon)	12
CHU ANGERS	4	LABM CERBALLIANCE MIDI-PYRÉNÉES (Toulouse)	1
CHU BESANCON	1	LABM CERBALLIANCE NORMANDIE (Lisieux)	1

CHU BORDEAUX	8	LABM DES ANDAINES (La Ferté Macé)	9
CHU DE Clermont-Ferrand	13	LABM DYOMEDEA REPUBLIQUE (Lyon)	1
CHU GRENOBLE	3	LABM LABOSUD (Montpellier)	54
CHU LIMOGES	2	LABM LABOUEST (Trelaze)	24
CHU MONTPELLIER	16	LABM NOVABIO (Notre-Dame-de-Sanilhac)	9
CHU NANTES	8	LABM SYNLAB SYLAB (Aurillac)	3
CHU POITIERS	12	LDA13 (MARSEILLE)	2
CHU RENNES	3	SELARL BIO 2000 (Dammartin-En-Goële)	7
CHU SAINT-ÉTIENNE	1	<b>TOTAL</b>	<b>690</b>

**Tableau. Nombre d'échantillons à *N. gonorrhoeae* reçus en 2022 pour l'étude de résistance sur prélèvements**

LABM ou Hôpitaux participants	Nombre d'échantillons
LOME, TOGO (projet ANRS DepistH)	85
BIORYLIS	2
CERBALLIANCE ILE DE FRANCE SUD	1
CH BIGORRE	1
CH LA ROCHELLE	1
CHR ORLEANS	1
BICHAT (AP-HP)	1
<b>TOTAL</b>	<b>92</b>

### 2.5.3 Laboratoire APHP Cochin

**Tableau. Nombres d'expertises syphilis réalisées en 2022**

Année 2022	
- Nombre des centres participants :	131, >95% laboratoires hospitaliers
- Nombre total d'expertises :	2250, 29,8% PCR et 70,2% sérologies
- Nombre total d'échantillons :	1409
LCR	291 1% positifs par qPCR et 7% par sérologie
Périnataux <sup>a</sup>	233 3,4% positifs par qPCR
Écouvillon	113 18% positifs par qPCR
Biopsie	30 20% positifs par qPCR
Sérum	396 58% positifs par qPCR et/ou sérologie
Sang total	14 aucun positif par qPCR
Autre	11 18% positifs par qPCR

<sup>a</sup> Placenta, liq. amniotique, cordon, sang cordon, écouvillon nasal/buccal, sécrétions naso-pharyngées, sang total.

Pour l'année 2022, nous avons réalisé 2250 expertises pour 131 centres demandeurs (cf. Tableau ci-dessous) le délai moyen de restitution des résultats est de 4,4 jours pour la PCR, de 6,9 jours pour la sérologie sanguine et de 5,1 jours pour la sérologie du LCR.

Tableau. Activités d'expertise syphilis, 2022.

Nb Centre	Centre (CH, CHRU, CHI, CHD, CHU)	Nb Echantillon / centre
1	Aix en Provence	1
2	Albertville	2
3	Amiens	8
4	Antibes	1
5	Armentières	3
6	Arpajon	2
7	Arras	6
8	Auxerre	1
9	Avignon	32
10	Avranches	1
11	Bagnols / Cèze	3
12	Bastia	1
13	Beauvais	6
14	Begin	2
15	Besançon	8
16	Bezannes	5
17	Béziers	7
18	Hôp. Bichat (Paris)	12
19	Blois	6
20	Bobigny	14
21	Bondy	42
22	Bordeaux	9
23	Boulogne Billancourt	10
24	Brest	3
25	Briis-sous-Forges	1
26	Hôp. Broca (Paris)	1
27	Caen	1
28	Calais	7
29	Cannes	1
30	Cayenne	1
31	Cergy-Pontoise	3
32	Châlons	1
33	Chambéry	5
34	Cholet	1
35	Clamart	2
36	Clichy	4
37	Hôp. Cochin (Paris)	51
38	Colmar	17
39	Colombes	15

40	Compiègne	2
41	Créteil	52
42	Hôp. Croix Saint Simon (Paris)	4
43	Dax	7
44	Douai	6
45	Dunkerque	1
46	Evreux	5
47	Hôp. Foch (Suresnes)	9
48	Fort de France	2
49	Fréjus	14
50	Garches	3
51	Grenoble	11
52	Guadeloupe	1
53	Guéret	4
54	Haguenau	1
55	HEGP (Paris)	9
56	Institut Mutualiste Montsouris (Paris)	1
57	Hôp. La Pitié Salpêtrière	9
58	La Roche / Yon	28
59	Langon	2
60	Hôp. Lariboisière (Paris)	29
61	Le Chesnay	13
62	Le Havre	1
63	Hôp. du Kremlin-Bicêtre	32
64	Le Mans	20
65	Lens	13
66	Libourne	5
67	Lille	27
68	Limoges	1
69	Lisieux	7
70	Lisses	1
71	Lomme	2
72	Longjumeau	13
73	Lorient	1
74	Luçon	2
75	Macon	2
76	Mayotte	2
77	Montauban	6
78	Montluçon	6
79	Montpellier	1
80	Montreuil	3
81	Morlaix	1

82	Moulins-Yzeure	9
83	Mulhouse	6
84	Nancy	2
85	Nanterre	2
86	Nantes	16
87	Hôp. Necker (Paris)	17
88	Neuilly-sur-Seine	27
89	Nice	35
90	Nîmes	2
91	Orléans	3
92	Orsay	4
93	Papeete	3
94	Perpignan	7
95	Poissy	1
96	Poitiers	18
97	Pontoise	2
98	Quimper	2
99	Rambouillet	7
100	Reims	16
101	Rennes	15
102	La Réunion	53
103	Hôp. Robert Debré (Paris)	22
104	Rouen	10
105	Hôp. Saint Antoine (Paris)	3
106	Saint Briec	1
107	Saint Cloud	2
108	Saint Denis	10
109	Hôp. Saint Joseph (Paris)	17
110	Saint Laurent du Maroni	5
111	Hôp. Saint Louis (Paris)	23
112	Saint Omer	3
113	Saint-Brieuc	2
114	Seclin	1
115	Sète	1
116	Strasbourg	16
117	Tarbes	4
118	Hôp. Tenon (Paris)	5
119	Thiers	1
120	Toulon	3
121	Toulouse	23
122	Tourcoing	9
123	Tours	7

124	Trévenans	5
125	Hôp. Trousseau (Paris)	3
126	Troyes	2
127	Valenciennes	7
128	Vandoeuvre-lès-Nancy	20
129	Vesoul	1
130	Villefranche	1
131	Villeneuve Saint Georges	25

## 2.6. Activités de séquençage

### 2.6.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Nous n'avons pas eu d'activité de séquençage génomique sur la mandature en dehors de nos activités de recherche. De tels séquençages, à partir d'échantillons, sans avoir de souche sont difficiles à réaliser. Nous développons actuellement une technique de séquençage génomique directement à partir des échantillons que nous espérons utiliser en routine dans la mandature à venir (cf. paragraphe 8.2.1).

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Accès externe, plateforme de séquençage d'Eurofins
	Séquençage Sanger et analyse MLVA

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Interne : ingénieurs du CNR, 0,5 ETP bioinformaticien à recruter
	Outils utilisés pour l'analyse des séquences : commercial (BioNumerics par exemple), outil open source, outil maison ... BioNumerics, BioEdit, MEGA, iTOL

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Investigations dans le cas de la surveillance des mycoplasmes urogénitaux aux anti-infectieux

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)	
Recherche de mutation de résistance aux antibiotiques, génotypage typage MLVA, analyse phylogénétique	

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies : NON
--

#### Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

- Séquençage des QRDR des gènes *parC/gyrA/gyrB/parE* pour 8 souches de *M. hominis*, 6 souches de *U. parvum* et 2 souches de *U. urealyticum* résistantes phénotypiquement à la lévofloxacine
- Séquençage de l'ARNr 23S pour 449 sur 580 échantillons de patients *M. genitalium*-positifs reçus et inclus dans l'analyse MGMT 2021
- Séquençage du gène *parC* pour 446 sur 580 échantillons de patients *M. genitalium*-positifs reçus et inclus dans l'analyse MGMT 2021
- Séquençage de l'ARNr 23S pour 206 sur 268 échantillons de patients *M. genitalium*-positifs reçus et inclus dans l'analyse MGDROM 2021
- Séquençage du gène *parC* pour 206 sur 268 échantillons de patients *M. genitalium*-positifs reçus et inclus dans l'analyse MGDROM 202
- Séquençage de l'ARNr 23S pour 418 sur 470 échantillons de patients *M. genitalium*-positifs reçus et inclus dans l'analyse MGMT 2022
- Séquençage du gène *parC* pour 393 sur 470 échantillons de patients *M. genitalium*-positifs reçus et inclus dans l'analyse MGMT 2022

#### Modalités de sélection des échantillons pour séquençage :

- *M. hominis* et *Ureaplasma* spp : souches résistantes à la lévofloxacine obtenues en subculture des échantillons positifs reçus.
- *M. genitalium* : les échantillons reçus ayant amplifié pour la PCR donnée

#### Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : Les séquences (FASTQ et FASTA) sont stockées sur un lecteur sécurisé Autombio\$ (2 To) sur le réseau du CHU de Bordeaux.

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : Précisez

Dès que les données sont publiées, les séquences FastQ générées sont relarguées avec leur numéro d'accès sur NCBI.

### 2.6.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

En 2022, le séquençage haut débit (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 est réalisé à Saint-Louis 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 séquençage Sanger tend à être remplacé par un séquençage des produits de PCR en séquençage haut débit Nanopore.

#### Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Le CNR de St Louis a accès à une plateforme de séquençage interne situé le site de Saint Louis
	Les extractions sont automatisées sur différents extracteurs de type Qiagen. Le séquençage haut débit est réalisé sur plusieurs Miseq et/ou Nextseq (Illumina) et/ou Nanopore.



### Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input type="checkbox"/> <b>NON</b>	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> <b>OUI</b>	L'accès est interne au CNR à St Louis avec une bioinformaticienne dédiée aux analyses et à l'amélioration et l'incrementation de nouveaux génomes de gonocoques qui sont importés pour analyse. La plateforme MOABI de l'APHP héberge les génomes et le pipeline (voir ci-dessous et annexe 1, paragraphe 1.5.2)  Les outils utilisés sont en constante évolution et sont décrits dans la figure ci-dessous : pipeline personnalisé NG-AR2T (Neisseria gonorrhoeae genome Assembly, Resistome, Typing and Tree). Les autres données provenant du site NG-STAR ont été importés en 2022. Les bases de données de virulence seront importées en 2023.

### Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> <b>NON</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>OUI</b>	Le CNR est en complete autonomie en terme d'extraction d'ADN et du NGS sur colonies sur le site de St Louis permettant d'investiguer en moins de une semaine une souche résistante et de réaliser les investigations intervenues dans le cadre de la surveillance

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

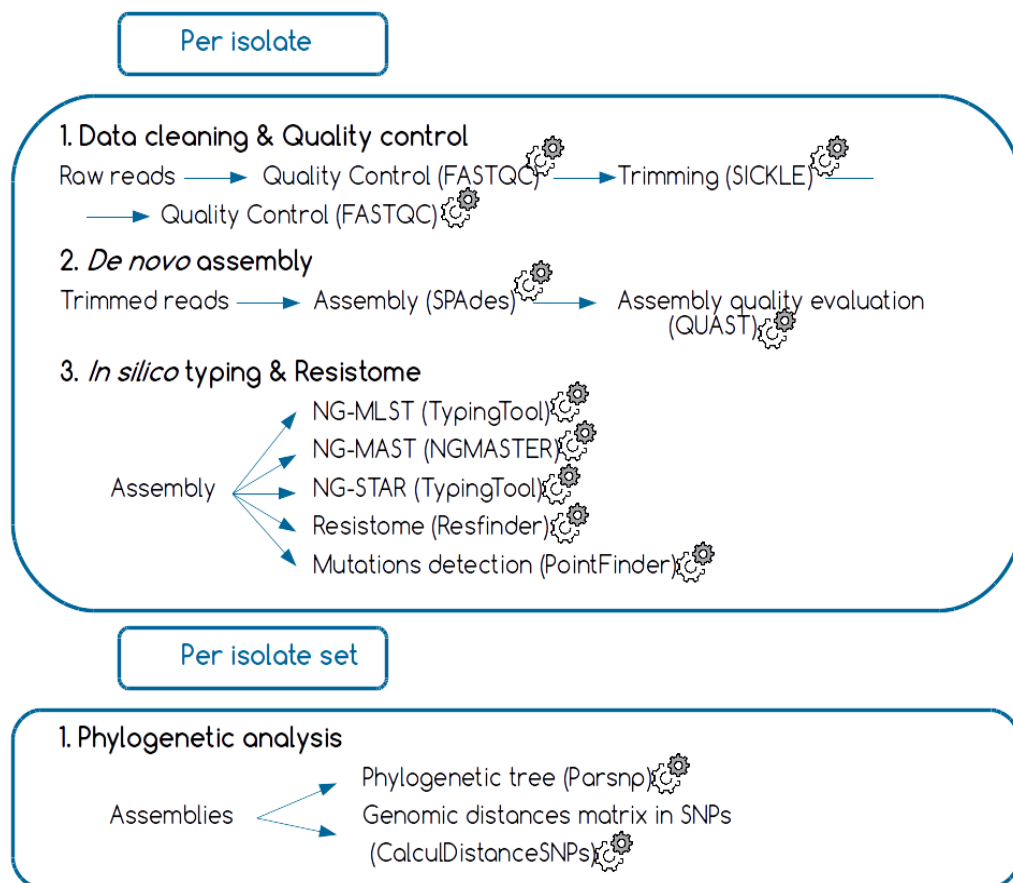
### Analyse des runs à l'aide du « pipeline » bio-informatique

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 bio-informatique 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 bio-informatique schématisé ci-dessous.



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

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies : OUI

- Huit souches de polynésie française ont été explorées après demande des collègues bactériologistes du centre hospitalier de Polynésie Française pour l'étude d'une suspicion de cas groupés au sein d'une cohorte de patients.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

**Séquençage de 902 souches en 2022 par la technique Illumina sur Miseq ou Nextseq**

- 803 souches de gonocoque séquençées dans le cadre de l'enquête de surveillance ENGON 2021
- 7 souches de gonocoque invasives reçues au CNR
- 2 souches de gonocoque résistantes reçues au CNR
- 8 souches de gonocoque provenant de Polynésie française
- 28 souches de gonocoque isolées dans le cadre de l'étude ANRS DOXYVAC en 2021
- 54 souches de gonocoque isolées dans le cadre de l'étude ANRS DOXYVAC en 2022

**Séquençage de 92 prélèvements en 2022**

- Séquençage des gènes *penA*, *rrl*, codant l'ARNr23S, *tbpB* et *porB* pour 75/85 échantillons de patients *N. gonorrhoeae*-positifs reçus dans le cadre de la surveillance de la résistance au Togo (ANRS DepIST-H)
- Séquençage des gènes *penA*, *rrl* codant l'ARNr23S, *tbpB* et *porB* pour 7 échantillons de patients *N. gonorrhoeae*-positifs reçus dans le cadre de la surveillance de la résistance en France

Pour l'année 2023, 635 souches de gonocoque sont en cours de séquençage dans le cadre de l'enquête de surveillance ENGON 2022

Modalités de sélection : Le séquençage NGS est réalisé pour toutes les souches reçues dans le cadre des enquêtes de surveillance nationale et européenne de la résistance (ENGON, TESSy) et des études de typage

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées :

Les séquences FastQ sont conservées sur un serveur français agréé pour l'hébergement de données de santé et de recherche mise en place par la plateforme bio-informatique de l'APHP « MOABI » <http://idfseqit.fr/> qui est inclus dans la plateforme de données eucaryotes séquoia.

Ces éléments sont décrits dans le chapitre 1.5.2.

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées :

Dès que les données sont publiées, les séquences FastQ générées sont relargées avec leur numéro d'accès sur NCBI.

Lorsque les séquences fastQ des génomes français ont été adressées dans le cadre de la surveillance européenne, ceux-ci peuvent être stockés dans TESSy. À l'issue du projet pour lequel le CNR est sollicité, tous les fichiers FASTQ sont stockés et mis à la disposition du public sur le site European Nucleotide Archive.

### 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. Actuellement, 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.

Cette activité sera mise en place lors de la mandature à venir avec le Laboratoire de Saint-Louis (cf. paragraphe 8.2.3.).

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

NON

Si NON ou accès limité, précisez les raisons

OUI

Le laboratoire expert syphilis aura accès à la plateforme de séquençage de St Louis (cf ci-dessus)

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

NON

Si NON ou accès limité, précisez les raisons

OUI

Le laboratoire expert syphilis aura accès à la plateforme de bioinformatique de St Louis (cf ci-dessus)

Les outils et le pipeline seront à travailler sur la mandature à venir

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

NON

Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?

OUI

Ce travail est à réaliser sur la mandature à venir

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies : NON pas en 2022

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

- Séquençage du gène *rrl* codant l'ARNr 23S pour 15 échantillons de patients *T. pallidum*-positifs reçus dans le cadre de l'enquête épidémiologique Anachla sur les anorectites en 2022.

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : Les séquences (FASTQ et FASTA) sont stockées sur un lecteur sécurisé sur le réseau de l'hôpital Cochin.

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadatas associées : Précisez

Dès que les données sont publiées, les séquences FastQ générées sont relargées avec leur numéro d'accès sur NCBI.

NON

## 2.7. Partage de séquences produites par les CNR

### 2.7.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Les échantillons urogénitaux reçus proviennent des différents laboratoires participant aux enquêtes de surveillance de la résistance aux anti-infectieux des mycoplasmes urogénitaux (cf paragraphes 2.5.1.2, 3.3.1 et 3.3.2).

Il n'y a pas de partage de séquence au niveau national ou international. Nous donnons cependant le détail des séquences obtenues aux laboratoires partenaires nous les demandant.

### 2.7.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Les souches de gonocoque reçues proviennent des différents laboratoires participant aux enquêtes de surveillance de la résistance aux anti-infectieux, du projet ANRS Doxyvac et d'une collaboration avec les collègues de Polynésie française (cf paragraphes 2.5.2, 3.2.2, 3.3.3).

Le CNR n'a pas été sollicité par les collègues participants aux enquêtes nationales pour les données de NGS.

Le partage est essentiellement international et réalisé avec les participants du réseau TESSy. En 2022, à la demande de Benjamin Bluemel, un Data Transfert Agreement a été signé entre le Centre National de Référence français des IST bactériennes (expertise gonocoque) et l'ECDC afin de permettre le transfert de données dans le cadre d'un projet sur la surveillance génomique de *N. gonorrhoeae* résistant aux antimicrobiens. Dans ce travail, les données fournies par la France sont celles provenant de données de 50 souches en 2013 (NGS décentralisés en Suède, Hôpital Universitaire d'Örebro), 61 souches (FastQ envoyés avec les souches) et 200 séquences en 2020 (transfert des FastQ).

Les données sont stockées comme suit :

- Les données WGS sont stockées dans la base de données externe sécurisée de ÖUH.
- Une fois l'analyse terminée, les données WGS liées aux données de sensibilité aux antimicrobiens et aux informations épidémiologiques minimales approuvées (pays et année d'isolement) de chaque isolat/patient seront stockées et mises à la disposition du public sur Pathogenwatch. Elles peuvent également être publiées sur Microreact.

c. Les données WGS (enregistrements avec des résultats sélectionnés) peuvent également être stockées dans TESSy.

d. À l'issue du projet, tous les fichiers FASTQ seront stockés et mis à la disposition du public sur le site European Nucleotide Archive.

Le CNR a également partagé des données des séquences FastQ (ex : souches du Burkina Faso, cf article 2022).

Les partages se font via un lien wi transfert depuis la base de données Moabi par la bioinformaticienne.

### 2.7.3 Laboratoire APHP Cochin

Compte-tenu du peu de séquences réalisées, Il n'y pas à ce jour de partage de séquence au niveau national ou international.

## 3 Activités de surveillance

### Laboratoire CHU de Bordeaux : les éléments clefs

**La surveillance des infections à *C. trachomatis* en 2022** a concerné **les infections anorectales** dans le cadre de l'enquête **Anachla**, le réseau LGV s'étant arrêté en juin 2022.

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 stable avec une prévalence des souches L de 13,4% (197/1467 échantillons amplifiés), la LGV étant principalement diagnostiquée chez des HSH symptomatiques et séropositifs pour le VIH.
- Lors de cette enquête, après réception du typage L/non-L- les patients LGV ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans 73,94% des cas tandis que les patients non-LGV ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans 73,93% des cas.

**La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. genitalium* en France métropolitaine** (38 centres, en augmentation) rapporte en 2021 une prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* à respectivement 35,2% (158/449) et 17,7%. La prévalence de la résistance aux macrolides était de 54,8% chez les hommes *versus* 22,0% chez les femmes ( $p < 0,001$ ) tandis qu'il n'y avait pas de différence de prévalence selon le sexe pour les fluoroquinolones. La résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* est stable depuis 4 ans. En outre-mer, une **augmentation de la prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* est mise en évidence entre 2018 et 2021** avec un taux de 6,1% en 2018 vs 19,4% en 2021 pour les macrolides ( $p < 0,01$ ) et un taux de 1,3% en 2018 vs 5,3% en 2021 pour les fluoroquinolones ( $p < 0,05$ ).

**La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. en France métropolitaine en 2021** rapporte une prévalence de la résistance aux tétracyclines à 15% pour *M. hominis* et à 2% pour *Ureaplasma* spp. et une prévalence de la résistance aux fluoroquinolones à 5% pour *M. hominis* et à 2% pour *Ureaplasma* spp. Ces chiffres ne montrent pas de différence significative avec les taux de résistance observés dans l'enquête 2020.

### Laboratoire GH Saint-Louis : éléments clefs 2022

**La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *N. gonorrhoeae* en France métropolitaine en 2021** rapporte un contrôle de propagation de souches résistantes aux C3G en France avec une **proportion toujours très faible de souches résistantes au céfixime** (0,2% en 2020 vs 0,1% en 2021). Aucune souche résistante à la ceftriaxone n'a été retrouvée dans le cadre de cette enquête. Les phénotypes de résistance les plus fréquemment observés sont **TET<sup>R</sup> / FQ<sup>R</sup> (43%)**, TET<sup>R</sup> isolement (16,7%) et TET<sup>R-HN</sup> / FQ<sup>R</sup> (13%). On observe une **légère augmentation non significative des résistances aux fluoroquinolones (FQ<sup>R</sup>)** (64,9% vs 59,8% en 2020,  $p = 0,126$ ) et à la tétracycline (TET<sup>R</sup>) (91,4% vs 90,3% en 2020,  $p = 0,52$ ), avec une diminution des souches à haut niveau de résistance à la tétracycline (TET<sup>R-HN</sup>) (22,9% (168/734) vs 32,1% en 2020,  $p = 0,003$ ). Aucune résistance à la gentamicine ou à la spectinomycine n'a été observée. Le **taux de résistance à l'azithromycine est similaire à celui observé en 2020 (9,7% en 2021 vs 9,5%,  $p = 0,94$ )**. Parmi ces souches, 2,6% présentaient un haut niveau de résistance lié à des mutations dans l'opéron *rrl* codant l'ARNr 23S (C2611T >> A2059G >> 2058G).

Les quatre ST principaux entre 2018 et 2020 (ST1583, ST9363, ST7822 et ST1599) sont toujours présents en 2021 dans des proportions légèrement moins importantes (12,7-7,5% 2018-2020 vs 6,6-5,4% en 2021). L'émergence des **ST9362 et ST11706** se confirme et s'intensifie en 2021 (respectivement 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> clone).

En 2022, sept souches invasives sont décrites ; deux d'entre elles appartiennent au **cluster MLST10314, cluster déjà rapporté en 2019 dans plusieurs cas d'anorectites abcédées, de kératoconjonctivites et de septicémie**. Un nouveau cas de **kératoconjonctivite perforée** est rapporté chez un patient HSH de 24 ans et un cas d'arthrite chez une patiente hétérosexuelle de 44 ans. Ces données sont en faveur de la persistance et la circulation récente de ce clone sur les territoires Bourgogne-Franche-Comté et Rhône Alpes.

Le CNR a réalisé cette année **deux alertes pour les infections génitales à gonocoques résistants aux C3G chez deux patientes hétérosexuelles** ce qui va en faveur de l'importance de la surveillance de cette population.

## Laboratoire APHP Cochin : éléments clefs 2022

Dans le cadre de l'étude **Anachla** de Bordeaux nous rapportons que 11% des échantillons anorectaux avec une sérologie syphilis positive présentaient une détection positive du génome de *T. pallidum*.

La surveillance de la résistance aux anti-infectieux en France métropolitaine et en Outre-Mer de *T. pallidum* en 2022 rapporte une **prévalence de la résistance à l'azithromycine de 74%**, ce chiffre est stable par rapport à l'année précédente.

**Dans le cadre de l'alerte**, nous rapportons 21 alertes pour des infections de neurosyphilis et 6 alertes pour des infections de syphilis congénitale en France métropolitaine en 2022

### 3.1 Description du réseau de partenaires

Le CNR IST bactériennes a développé depuis 5 ans un réseau commun de cliniciens et de laboratoires partenaires dans le cadre de ses enquêtes pluriannuelles sur les anorectites à *C. trachomatis*, la résistance aux antibiotiques pour *N. gonorrhoeae* et les mycoplasmes urogénitaux. Depuis 2019, les enquêtes concernant la résistance aux antibiotiques du gonocoque et des mycoplasmes urogénitaux sont lancées ensemble par les laboratoires du CHU de Bordeaux et de l'hôpital Saint-Louis. Cette action coordonnée nous a permis d'augmenter de 20% le nombre de participants volontaires en Métropole et en Outre-Mer pour les enquêtes CT/MG et de 50% pour les enquêtes ENGON en France Métropolitaine.

Pour la prochaine mandature, nous continuerons cette coordination commune des réseaux partenaires en y incluant le réseau GenoSyph animé par le LA syphilis.

#### 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.

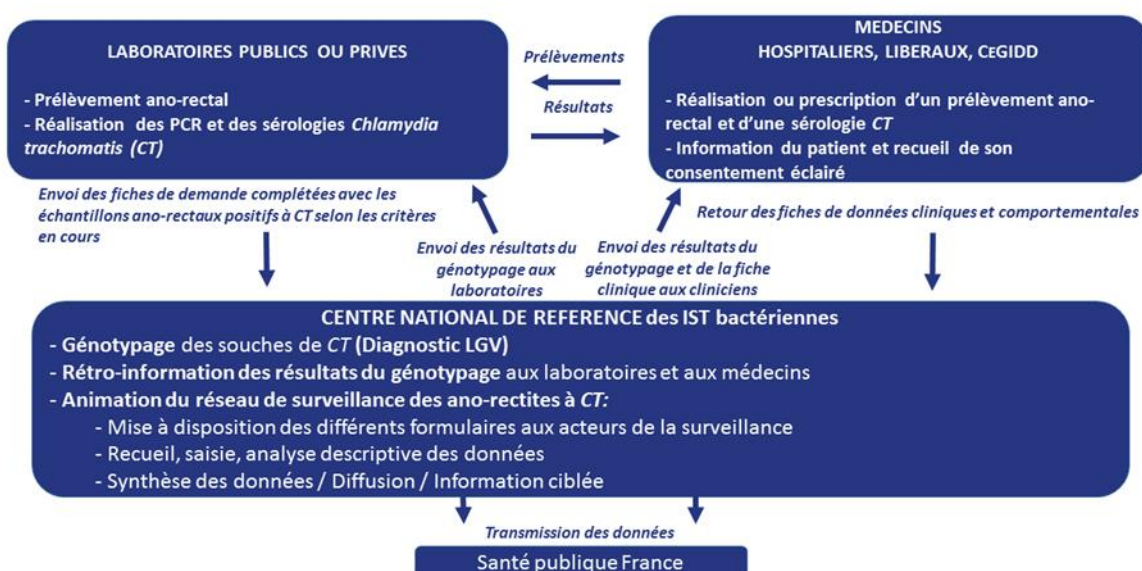


Figure. Coordination du réseau de surveillance des anorectites à *C. trachomatis*.

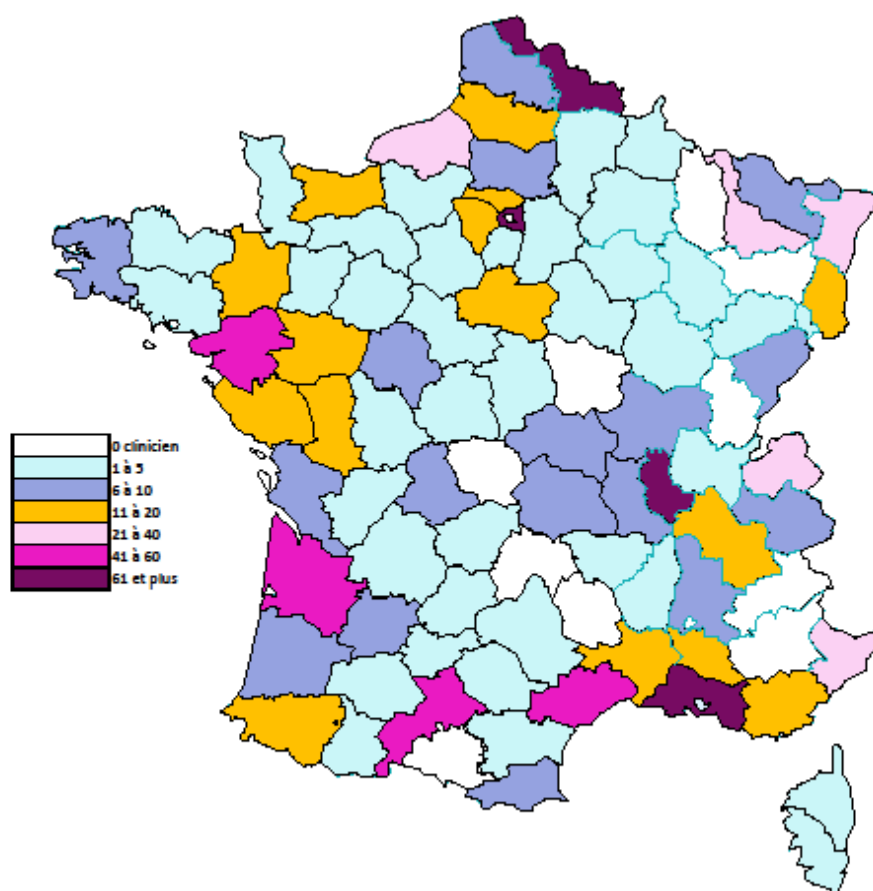
Le réseau de surveillance des infections rectales à *C. trachomatis* permettait de surveiller l'épidémiologie de la LGV tout en proposant une aide diagnostique grâce au typage des souches. Ce travail, extrêmement chronophage, ne rentre pas dans les missions du CNR ; de plus, des trousse commercialisées marquées CE-IVD pour le diagnostic

des souches de *C. trachomatis* de génovar L sont disponibles sur le marché et mettent le diagnostic de la LGV à disposition des laboratoires privés et hospitaliers. Ces trousse ont été évaluées par le CNR et montrent de bonnes performances cliniques.

De fait, le diagnostic de la LGV n'est plus réalisé par le CNR des IST bactériennes depuis juin 2022. Nous nous sommes mis à disposition des laboratoires pour apporter des informations sur les kits et partager notre expertise pour les aider à mettre en place une PCR « maison ».

Nous avons mis en place depuis 2020 l'enquête Anachla avec typage gratuit, sans critère d'inclusion, de tous les échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* pendant 3 mois du 1 mars au 31 mai.

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 participants en France métropolitaine.**

En 2022, le réseau comporte 2017 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 2022, 541 médecins ont collaboré au réseau. Le nombre de cliniciens maintient sa tendance à la hausse grâce à l'enquête Anachla qui a mobilisé nos correspondants. Depuis 2010, 364 laboratoires ont contribué au réseau et en 2022, ce sont 116 laboratoires qui ont envoyé des échantillons.



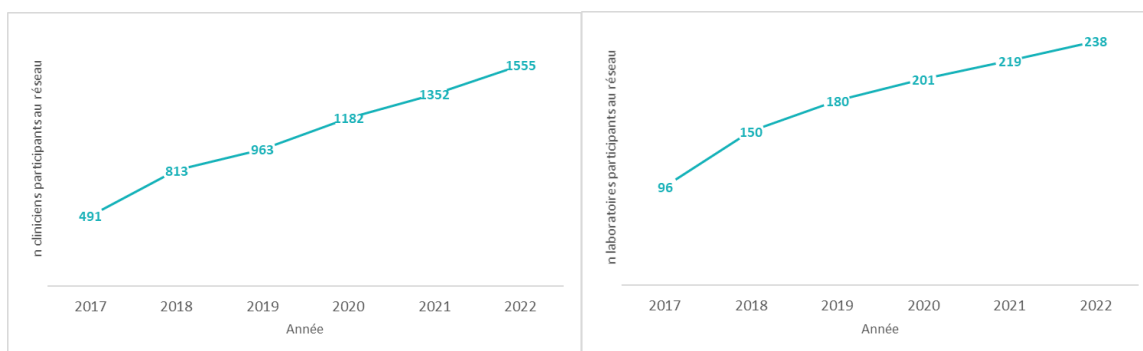


Figure. Evolution du nombre de correspondants actifs du réseau.

### 3.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Les enquêtes annuelles ENGON consistent à collecter, tous les ans, les souches de gonocoques isolées en France métropolitaine et DROM sur une période allant de septembre à décembre avec un objectif minimal de 400 souches sur la période. La période de septembre à décembre a été choisie en terme de correspondance avec le recueil des souches qui nous est demandé dans le cadre de notre participation au réseau de surveillance européen EuroGASP. Les collectes sont effectuées en novembre et janvier afin d'avoir des premières données pour le bilan du rapport annuel de l'année suivante. Les enquêtes sont ouvertes aux laboratoires publics des CHU/CHG et aux laboratoires privés.

Le nombre de centres participants n'a cessé d'augmenter depuis la création des enquêtes et compte une partie des laboratoires qui appartenaient au réseau Renago, qui comportait 85% de laboratoires privés. Les laboratoires hospitaliers de CHG et CHU affiliés pour la plupart aux CeGIDD ont enrichi le réseau de ces enquêtes et on compte 63 laboratoires participants en 2021 et 55 en 2022.

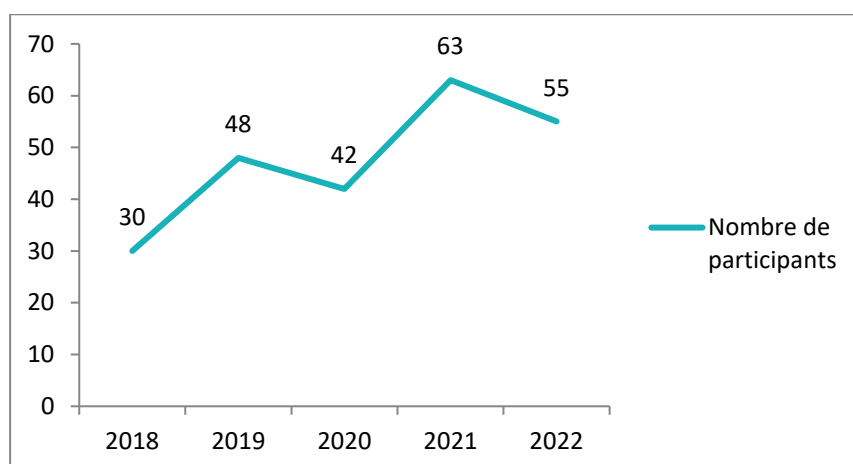


Figure. Evolution du nombre de laboratoires participants aux enquêtes ENGON entre 2018 et 2022.

### 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 2022, le CNR a reçu un total de 104 échantillons (écouvillons) provenant de 3 centres collecteurs de l'étude GenoSyph (Services de Dermatologie-MST des hôpitaux Cochin, CeGIDD de Marseille, de La Réunion). Les échantillons proviennent principalement d'Ile-de-France et de Marseille (Figure ci-dessous). ). C'est la raison pour

laquelle nous allons fusionner le réseau GenoSyph avec l'étude Anachla afin d'augmenter la collecte potentielle de souches de *T. pallidum*.

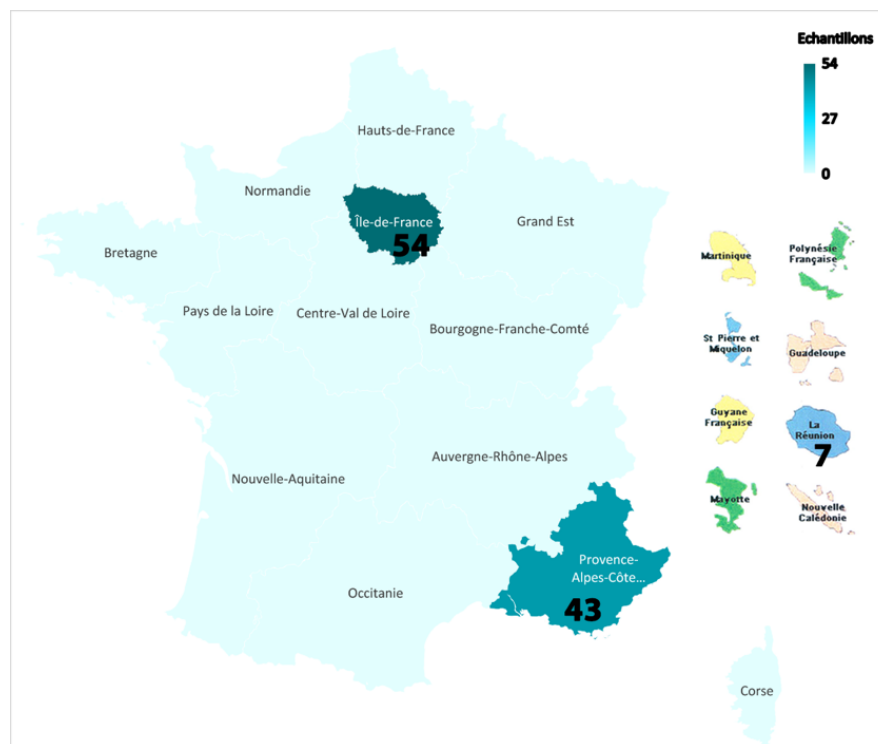


Figure. Provenance des échantillons GenoSyph reçus en 2022.

### 3.1.3.2 Dans le cadre de l'expertise

Pour l'année 2022, le CNR a reçu 1409 échantillons correspondant à 1093 patients répartis sur 131 centres différents. Les échantillons envoyés proviennent de l'ensemble du territoire avec principalement l'Île-de-France qui reste fortement représentée (Figure ci-dessous).

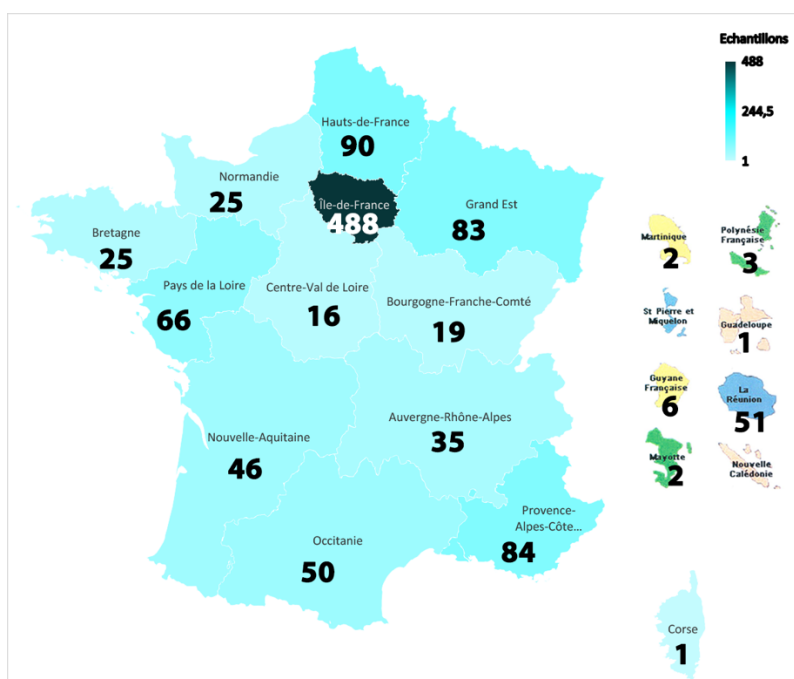


Figure. Nombre et provenance des échantillon envoyés pour expertise en 2022.

A partir de l'année 2011, le nombres de centres envoyant des échantillons pour expertise n'a cessé d'augmenter graduellement pour se stabiliser sur une moyenne de 136 à partir de 2020 (cf. Tableau ci-dessous).

Tableau. Evolution du nombre de centres participants depuis 2011.

Année	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Nb de centres	39	37	65	92	91	86	100	130	129	141	138	131

Sur la période 2006-2022, 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.

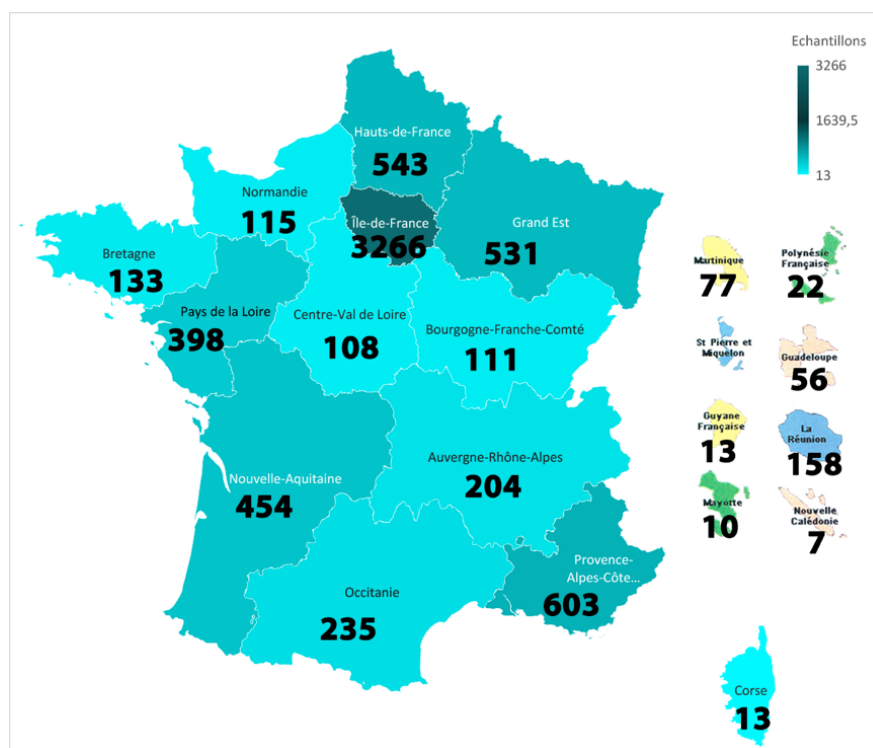


Figure. Provenance des échantillons reçus par le CNR syphilis pour expertise en 2006-2022.

## 3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

### 3.2.1 Anorectites à *C. trachomatis* : réseau et enquête Anachla

Le nombre de cas de LGV diagnostiqués au CNR s'élève à 5 569 depuis la création du réseau en 2010 (Figure ci-dessous).

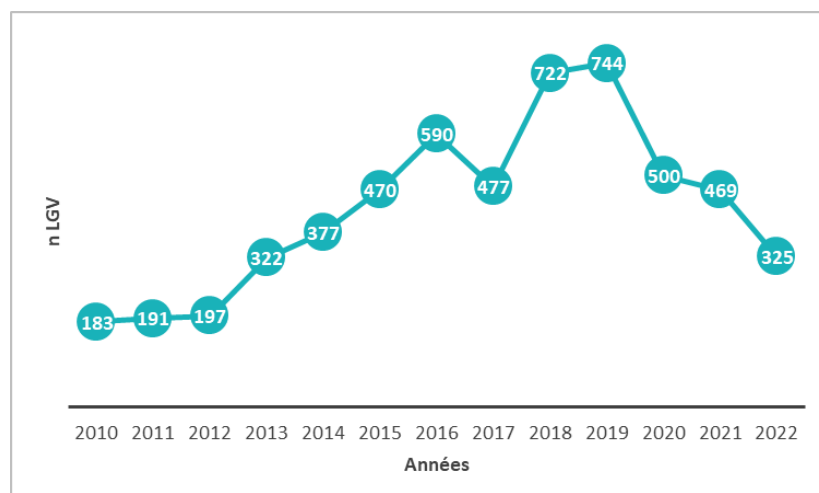


Figure. Evolution des cas de LGV en France 2010-2022.

Cette diminution du nombre de cas depuis 2020 peut être due à plusieurs facteurs :

- Restriction de typage aux seuls patients symptomatiques et / ou VIH positif (arrêt du typage systématique pour les PREPeurs).
- Utilisation par les laboratoires privés ou hospitaliers des trousse commercialisées marquées CE-IVD pour le diagnostic des souches de *C. trachomatis* de génovar L qui sont disponibles sur le marché.
- Arrêt du typage gratuit par le CNR en juin 2022.

## Enquête Anachla 2022

Les objectifs de l'enquête étaient :

- 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.
- État des lieux des habitudes de prescription

## Matériels et méthodes

Du 1er avril au 30 juin 2022, les laboratoires ayant accepté 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* (codant pour une protéine polymorphe de membrane externe).

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). 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 Chi<sup>2</sup> 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 l'environnement de développement intégré RStudio. Les intervalles de confiance des odds ratios ont été calculés selon la Méthode de Woolf.

## Résultats

Le CNR a reçu 1558 échantillons, dont 1467 ont été amplifiés (94,2%). 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 61,8% (907/1467).

Un total de 1467 échantillons provenant de 1446 patients a été reçu de 134 laboratoires de France métropolitaine et des DROM (Figures suivantes).

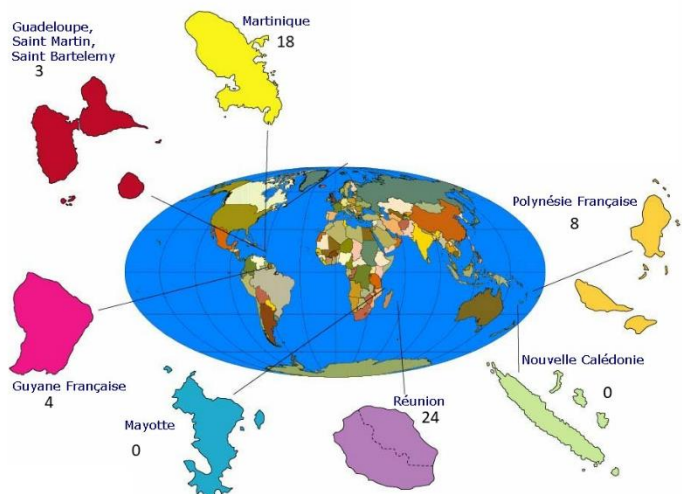
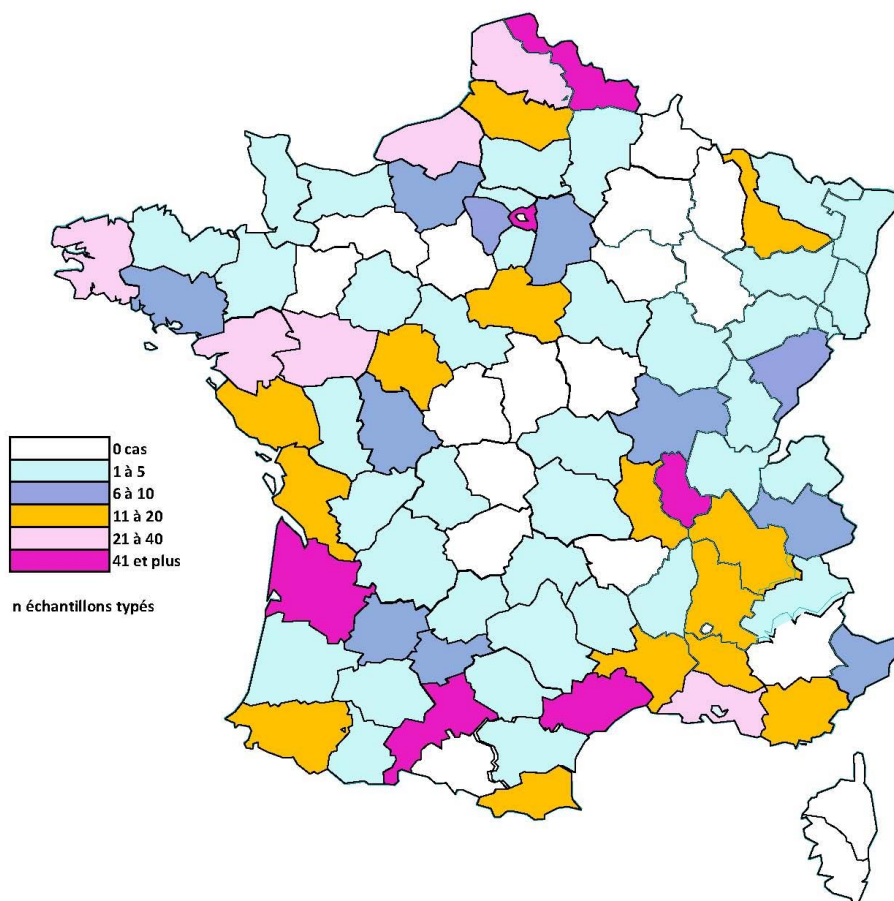
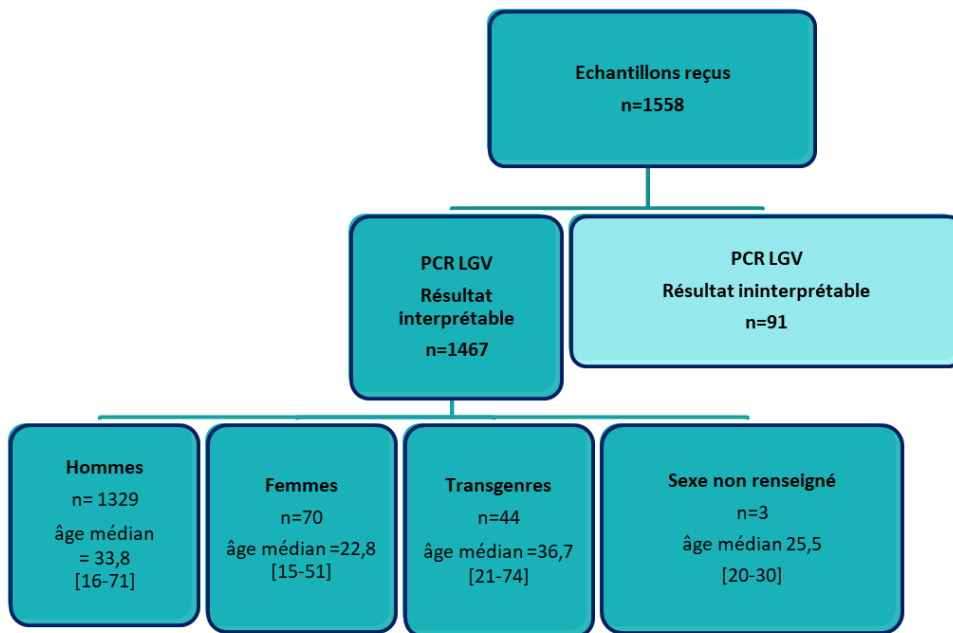


Figure 1 : Répartition géographique des échantillons typés.

### Population étudiée

Les 1467 échantillons amplifiés appartenaient à 1446 patients : 1329 hommes (91,9%), 70 femmes (4,8%), 44 transgenres (3,0%) et 3 personnes de sexe inconnu. L'âge médian était de 33,8 ans [16-71] chez les hommes, de 22,8 ans [15-51] chez les femmes et de 36,7 ans [21-74] chez les transgenres (Figure suivante). Parmi les transgenres, un seul avait un sens de conversion femme vers homme, les autres avaient un sens de conversion homme vers femme. L'information était indisponible pour 7 patients. Les échantillons typés étaient statistiquement comparables à ceux qui n'avaient pas amplifié en termes de sexe (91,9% d'hommes vs 93,4%, 4,8% de femmes vs 6,6%) et d'âge (pour les hommes, moyenne de 36,2 vs 37,6 et pour les femmes, 25,9 vs 27,2 ans).



**Figure. Flow chart des prélèvements reçus.**

Parmi les hommes ayant accepté de renseigner leur orientation sexuelle (59,2%, 787/1329), 93,0% (732/787) étaient des HSH et 6,1% (48/787) avaient des relations avec des hommes et des femmes, quatre avec uniquement des femmes et trois avec des hommes et des personnes transgenres. Les 44 femmes ayant déclaré leurs pratiques (62,9%, 44/70) avaient toutes des relations avec des hommes excepté deux bisexuelles et une qui avait des relations avec une personne transgenre. Quant aux transgenres, un tiers d'entre eux se déclarait travailleur du sexe et 97,2% avaient des relations avec des hommes ou avec d'autres transgenres.

Nous avons exclu de l'analyse 21 échantillons provenant de patients pour lesquels un premier échantillon avait déjà été reçu au cours de l'étude :

\* 14 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 récurrences car le typage est identique.

\* 3 patients ont vu leur typage modifié et sont donc considérés comme des recontaminations, deux patients sont passés d'un type L à un non-L et inversement pour l'autre.

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

Parmi les 1467 échantillons amplifiés, 197 (13,4%) étaient de génotype L et 1270 (86,6%) de génotype non-L.

En excluant les 21 échantillons provenant de patients déjà connus, nous obtenons une prévalence de 13,4% pour les génotypes L (194/1446) et 86,6% (1252/1446) pour les génotypes non-L.

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

#### Sexe

Sur les 194 cas de LGV, 98,5% (191/194) étaient des hommes et 1,5% (3/194) des transgenres.

La prévalence de LGV était de 14,4% (191/1329) chez les hommes et de 6,8% (3/44) chez les transgenres ( $p > 0,05$ ). Aucun cas de LGV n'a été détecté chez les femmes.

#### Age

Les patients ayant une LGV étaient statistiquement plus âgés que les patients non-LGV, avec respectivement un âge moyen de 40,7 ans vs 34,9 ans ( $p < 0,05$ ).

Les hommes LGV avaient une moyenne d'âge de 40,8 ans vs 35,4 pour les non-LGV ( $p < 0,05$ ).

### Lieu de résidence

Nous retrouvons une différence dans la provenance des échantillons entre l'Île de France et la province. Les souches L provenaient de province dans 55,7% (108/194) des cas vs 43,3% (84/194) pour l'Île de France ( $p < 0,05$ ) (Tableau ci-dessous).

Parmi les 887 échantillons issus de province, 108 (12,2%) étaient de génovar L ; parmi les 503 échantillons venant de l'Île de France, 84 (16,7%) étaient de génovar L ( $p < 0,05$ ). Deux cas de LGV ont été retrouvés dans les DROM (Guadeloupe et Guyane).

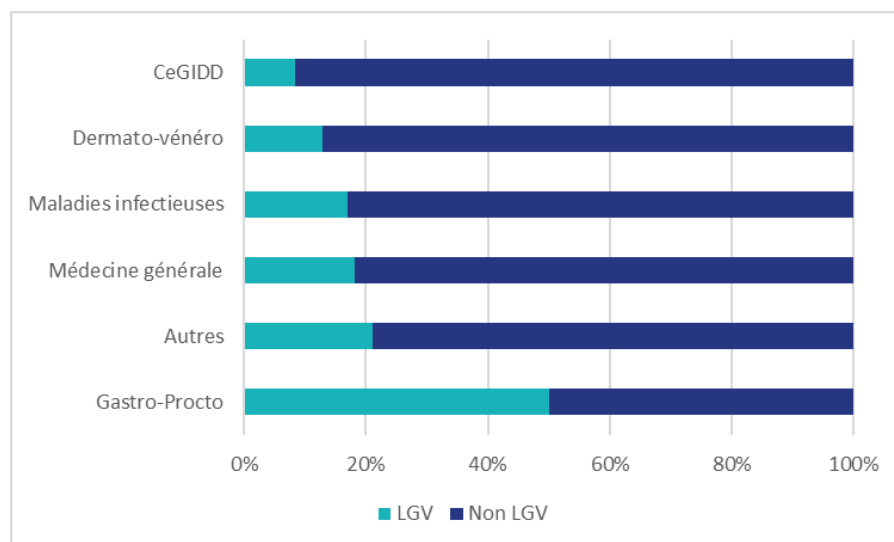
### Pratiques sexuelles chez les hommes

Les pratiques sexuelles des patients de sexe masculin étaient connues pour 56,2% (109/194) des patients LGV vs 54,2% (678/1252) des non-LGV ( $p > 0,05$ ). La proportion d'HSR est équivalente chez les patients ayant accepté de renseigner leurs pratiques sexuelles, 98,2% (107/109) pour les LGV vs 99,7% (676/678) pour les non-LGV ( $p > 0,05$ ) (Tableau).

Le nombre de partenaires rapportés dans l'année influait sur la présence d'une souche de génovar L (29,4 partenaires dans l'année) ou non-L (18,8 partenaires) ( $p < 0,05$ ). Nous observons une différence en fonction du pays d'origine de la contamination : 11,5% (11/96) des patients LGV ont été infectés à l'étranger ou par un partenaire venant de l'étranger vs 2,8% (19/669) chez les non-LGV ( $p < 0,001$ ).

### Services prescripteurs

Les patients porteurs d'une souche non-L provenaient des CeGIDD dans 51,0% (639/1252) des cas vs 30,4% (59/194) pour les LGV ( $p < 0,001$ ). À l'inverse, les patients LGV étaient plus souvent issus de consultations de médecine infectieuse et tropicales, 42,8% (83/194) vs 32,3% (404/1252), de médecine générale 18,0% (35/194) vs 12,6% (158/1252) et d'hépatogastro-entérologie/proctologie que les patients LGV 4,6% (9/194) vs 0,7% (10/1252) ( $p < 0,05$ ). Aucune différence statistiquement significative n'était retrouvée pour les services de dermatologie et les autres spécialités (Tableau). La moitié des patients consultant en hépatogastro-entérologie/proctologie avait une LGV contre seulement 8,5% des personnes consultant en CeGIDD.



**Figure. Prévalence des patients LGV et non LGV en fonction des services prescripteurs (Autres : Andrologie, Endocrinologie, Gynécologie, Psychiatrie, Urgences, Urologie).**

### Motifs de consultation

Les patients LGV présentaient plus souvent des symptômes anorectaux que les patients non-LGV (respectivement 40,2% (78/194) vs 8,3% (104/1252), ( $p < 0,001$ ) (Tableau, Figure suivante).

Les patients non-LGV consultaient plus souvent pour un suivi de PrEP que les patients LGV, respectivement 22,4% (281/1252) vs 8,8% (17/197), ( $p < 0,001$ ).

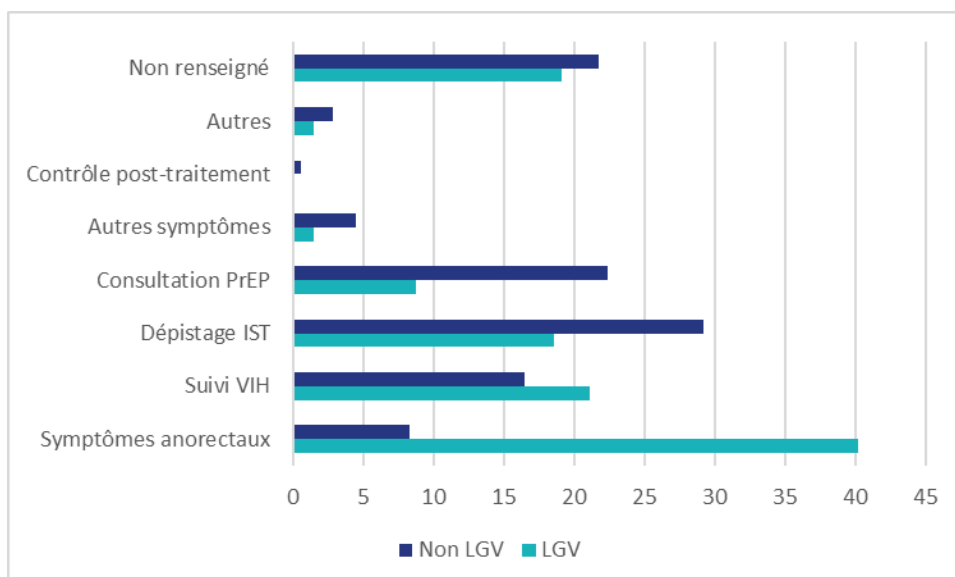


Figure. Fréquence des motifs de consultation en fonction du typage.

### Statut VIH

Les patients LGV étaient plus fréquemment séropositifs pour le VIH (38,7%, 75/194) que les patients non-LGV (23,6%, 296/1252), ( $p < 0,001$ ).

Nous ne trouvons pas de différence statistiquement significative entre la prévalence de LGV parmi les PrEPeurs vs l'ensemble de la population des hommes étudiée, respectivement 12,7% (53/418) et 14,4% (191/1329), ( $p > 0,05$ ).

### Autre co-infection virale

Nous ne notons pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes de patients pour une co-infection virale active autre que le VIH. En excluant les patients pour lesquels l'information n'était pas disponible, moins de 5% des patients de chaque groupe présentaient une co-infection virale.

### Co-infection bactérienne

Un quart des patients de chaque groupe était co-infecté par *N. gonorrhoeae*. Une co-infection syphilitique était plus fréquemment rapportée chez les patients LGV que les patients non-L (respectivement, 15,9% (27/170) vs 8,7% (73/833)  $p < 0,05$ ). Nous retrouvions plus de patients sans aucune co-infection bactérienne dans le groupe non-L que dans le groupe L (respectivement 60,2% (503/835) vs 51,2 (87/170)  $p < 0,05$ ).

Tableau. Résultats de l'enquête Anachla 2022.

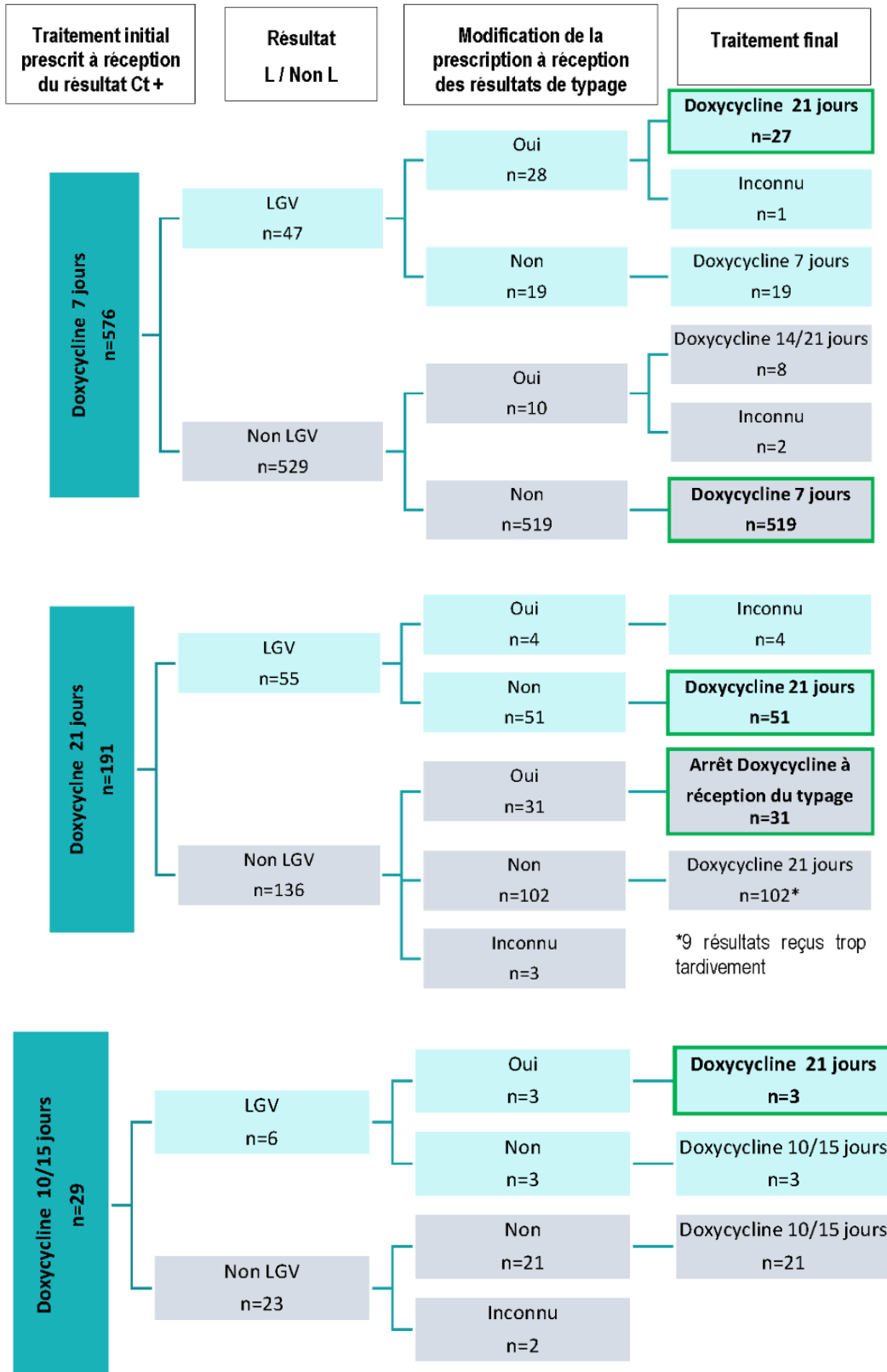
	Souche L (n=194) N(%)	Souche non L (n=1252) N(%)	OR [IC 95%]	P-value
<b>Genre</b>				
Homme	191 (98,5)	1138 (90,9)		
Femme	0 (0)	70 (5,6)		
Transgenre	3 (1,5)	41 (3,3)		
Non renseigné	0 (0)	3 (0,2)		
<b>Age (années)</b>				
Écart	[19-70]	[15-74]		

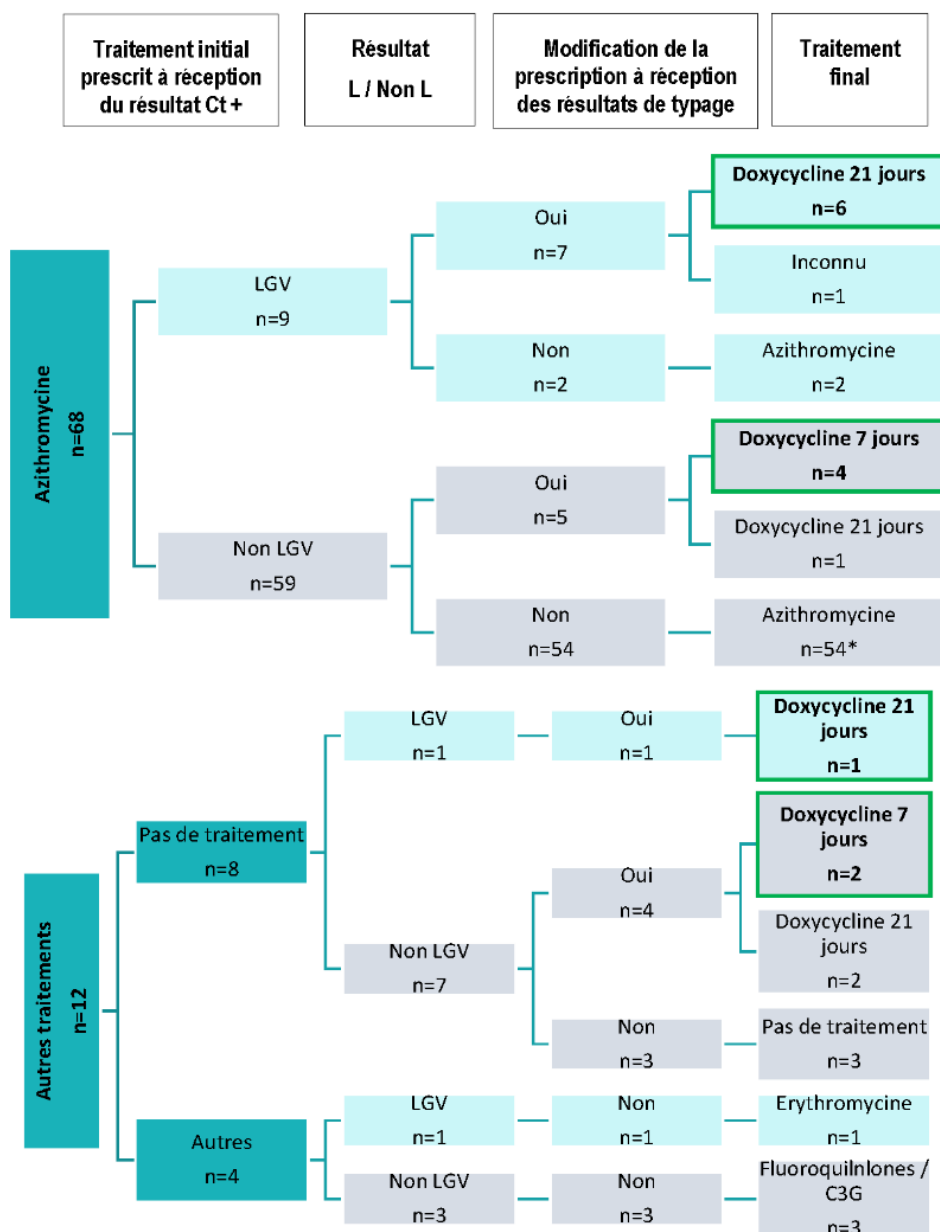


Moyenne	40,8	34,9		<0,001
Médiane [Q1-Q3]	40,5 [32,3-49,7]	33,5 [26,0-43,6]		
<b>Lieu de résidence</b>				
Province	108 (55,7)	779 (62,3)	1	
Paris	84 (43,3)	419 (33,4)	1,45 [1,06-1,97]	<0,05
Outre-mer	2 (1,0)	54 (4,7)	0,27 [0,06-1,12]	NS
<b>Pratiques sexuelles chez les hommes</b>				
HSH	107 (55,7)	676 (59,4)	1	
HTX	2 (1,0)	2 (0,2)	6,32 [0,88-45,34]	NS
Non renseigné	82 (43,2)	460(40,4)	1,13 [0,83-1,54]	
<b>Service prescripteur</b>				
CeGIDD	59 (30,4)	639 (51,1)	1	
SMIT	83 (42,8)	404 (32,2)	2,23 [1,56-3,8]	<0,05
Médecine générale	35 (18,0)	158 (12,6)	2,40 [1,53-3,78]	<0,05
Gastro-entérologie/proctologie	9 (4,6)	9 (0,7)	10,83 [4,14-28,33]	<0,001
Dermatologie	4 (2,1)	27 (2,2)	1,6 [0,54-4,73]	NS
Autres *	4 (2,1)	15 (1,2)	2,89 [0,93-8,99]	NS
<b>Motif de consultation</b>				
Asymptomatique	78 (40,2)	827 (66,1)	1	
Symptomatique	79 (40,7)	152 (12,1)	5,51 [3,85-7,88]	<0,001
Non renseigné	37 (19,1)	273 (21,8)	1,44 [0,95-2,18]	NS
<b>VIH</b>				
Négatif	94 (48,4)	787 (62,9)	1	
Positif	75 (38,7)	296 (23,6)	2,12 [1,52-2,95]	<0,001
Non renseigné	25 (12,9)	169 (13,5)	1,24 [0,77-1,99]	NS
<b>Autre co-infection virale</b>				
Non	142 (73,2)	908 (72,5)	1	
Oui	1 (0,5)	37 (3,0)	0,17 [0,02-1,25]	
Non renseigné	51 (26,3)	307 (24,5)	1,06 [0,75-1,50]	NS
<b>Co-infection bactérienne</b>				
Aucune	93 (47,9)	728 (58,1)	1	
<i>N. gonorrhoeae</i>	52 (26,8)	239 (19,1)	1,70 [1,17-2,46]	<0,05
Syphilis active	30 (15,5)	103 (8,2)	2,28 [1,44-3,61]	<0,001
<i>M. genitalium</i>	4 (2,1)	18 (1,4)	1,74 [0,58-5,25]	NS
Non renseigné	30 (15,5)	200 (15,9)	1,17 [0,75-1,82]	NS

Evaluation des bonnes pratiques de prescription

Lors de cette enquête, il été demandé aux cliniciens quel traitement avait été instauré à réception du résultat de détection de *C. trachomatis*, puis, si, à réception du typage (L ou non L), ils avaient modifié leur prescription. Les résultats sont présentés dans les diagrammes de flux suivants.





Dans l'enquête Anachla, l'analyse des résultats montre que, après réception du typage L/non-L :

- les patients LGV ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans 73,94% des cas (88/119).
- les patients non-LGV ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans 73,93% des cas (556/752).

Rappel des recommandations :

Dans le cadre d'une localisation rectale,

- Si le patient a un géovar non-L, le traitement est de la doxycycline 100 mg, 2 fois par jour pendant 7 jours.
- Si le patient a un géovar L, le traitement est de la doxycycline 100 mg 2 fois par jour pendant 21 jours.

Le poster (en annexe) sera envoyé aux cliniciens et aux laboratoires du réseau avant le début de la période d'inclusion d'Anachla 2023, ce qui nous permettra d'évaluer si la rétro-information concernant les prescriptions a permis une amélioration de la prise en charge des patients.

## 3.2.2 Infections à gonocoque

### 3.2.2.1 Cas d'infections recensées dans l'enquête ENGON 2022

Pour l'enquête ENGON de 2022, le réseau étant maintenant très actif, le CNR a collecté 635 souches isolées du 1 septembre au 31 décembre 2022 associées à 685 recueils de données cliniques ce qui montre une participation active aux enquêtes. Le traitement de ces 635 souches est en cours pour la détermination des CMI et le séquençage.

Les cas cliniques provenaient de 55 centres hospitaliers ou laboratoires privés dont la répartition géographique est localisée sur la carte et dans le Tableau ci-dessous. Les souches envoyées proviennent de l'ensemble du territoire avec principalement l'Ile-de-France qui reste fortement représentée.

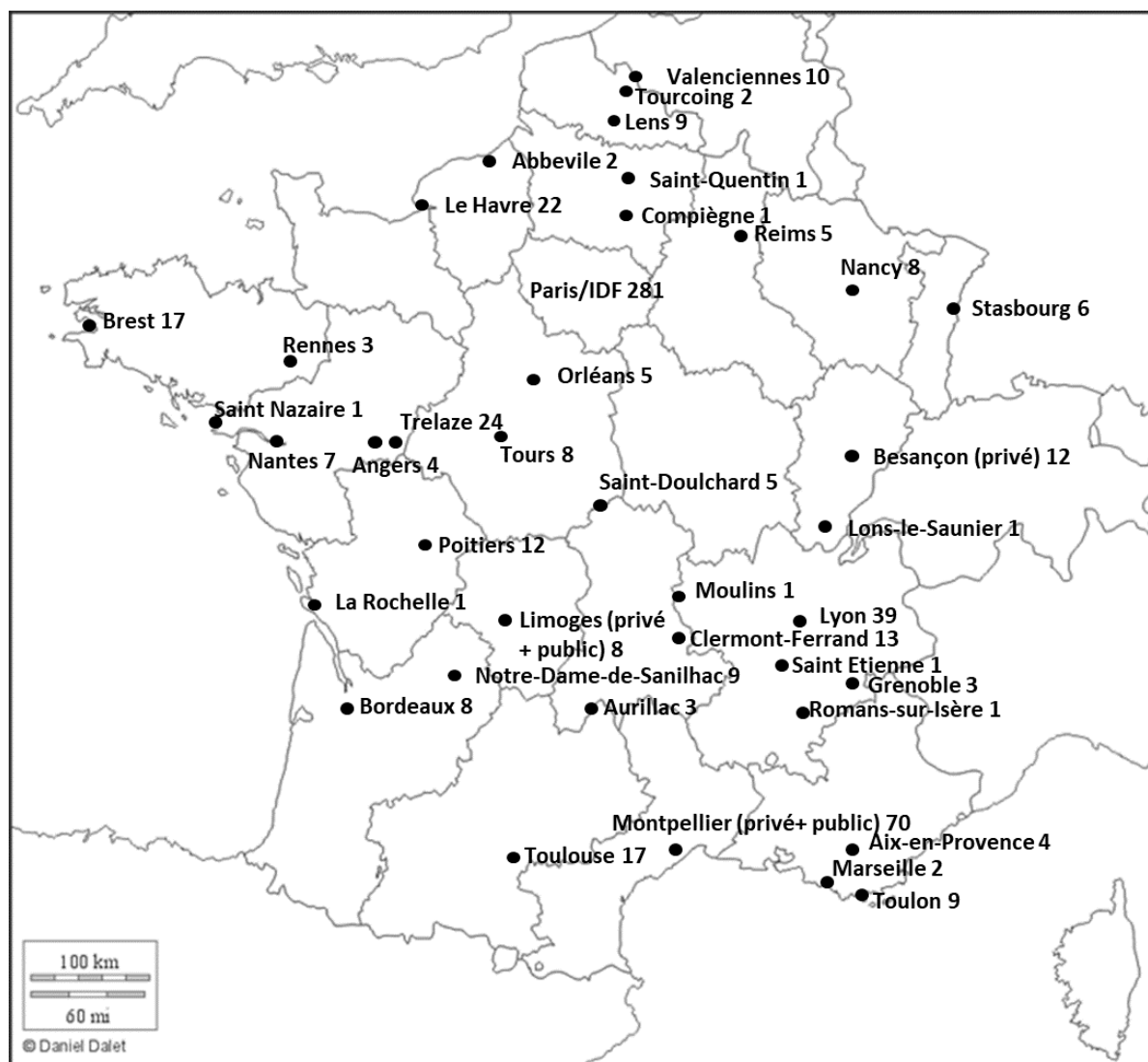


Figure. Répartition géographique des 635 souches envoyées par les participants de l'enquête ENGON 2022

Tableau. Répartition géographique des 635 souches de l'enquête ENGON 2022

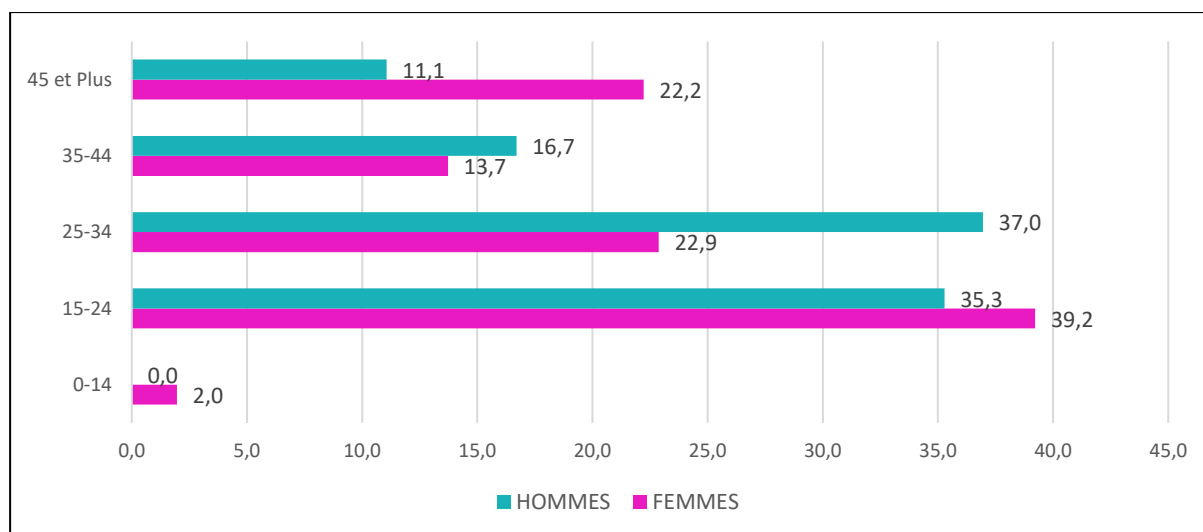
ZONE	1-IDF	2-NO	3-NE	4-SE	5-SO
Nombre	276	89	70	141	59
%	43,5%	14,0%	11,0%	22,2%	9,3%

Sur les 635 cas de gonococcies déclarés pour lesquels une souche a été isolée, 75,4% (479/635) proviennent d'hommes, 24,1% (153/635) de femmes, 0,2% (1/635) de transgenre et 0,3% (2/635) d'individus de sexe inconnu.

Dans 53,2% (338/635) des cas, les informations cliniques étaient renseignées rapportant 79,6% (269/338) de patient(e)s symptomatiques et 20,4% (69/338) patient(e)s asymptomatiques venu(e)s pour un dépistage.

L'orientation sexuelle était renseignée dans moins d'un tiers des cas (28,3% ; 190/635) ; la moitié des cas était rapportée chez des HSH ou bi/sexuels [51,1% (97/190)], un quart chez des hommes hétérosexuels [26,3% (50/190)], le quart restant étant rapporté chez des femmes hétérosexuelles.

L'âge moyen des patients était de 31 ans et l'âge médian était de 28 ans avec une amplitude allant de 0 à 82 ans. Les femmes étaient statistiquement plus âgées que les hommes, respectivement 33 ans vs 31 ans. La classe d'âge la plus représentée sur l'ensemble de la population était la classe 15-24 ans, suivie de la classe 25-34 ans. Les femmes étaient le plus représentées parmi les 15-24 ans (60/153 ; 39,2 %) et les hommes parmi les 25-34 (177/479 ; 37%) comme indiqué dans la Figure ci-dessous.

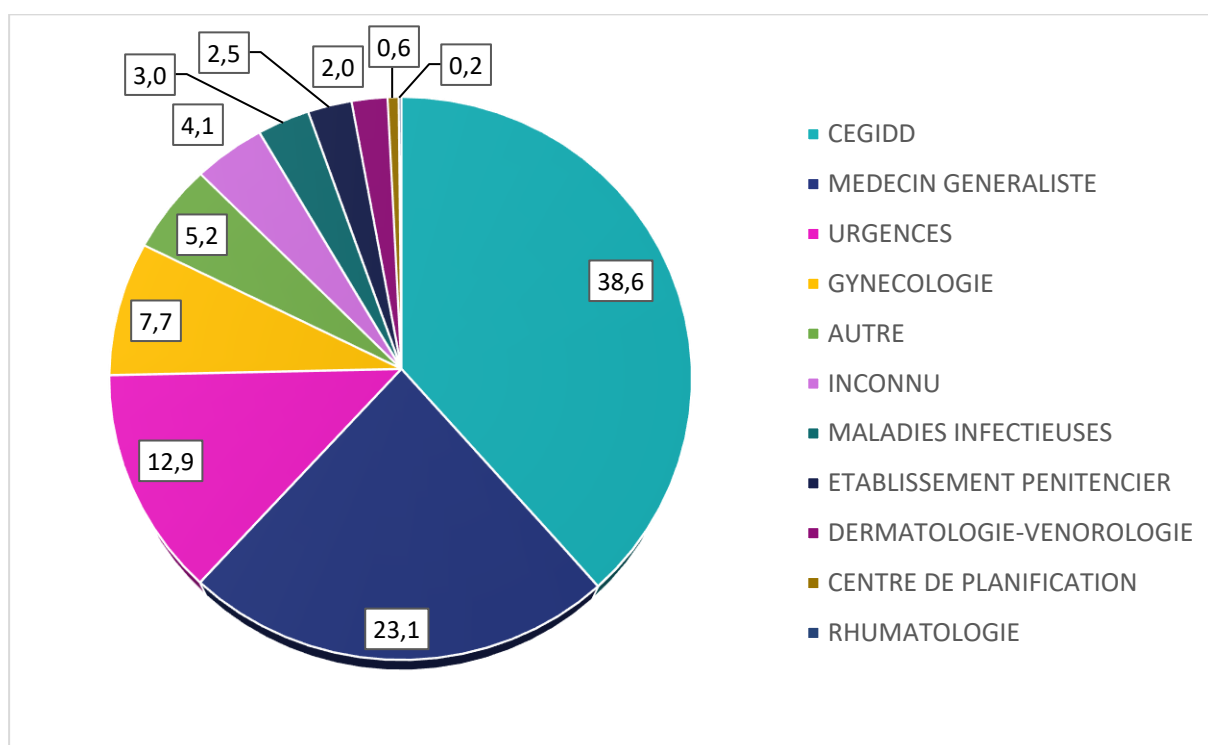


**Figure. Répartition des gonococcies en pourcentage selon l'âge et le sexe des patient(e)s de l'enquête ENGON 2022**

Parmi les prélèvements répertoriés, 88,3% (561/635) sont issus d'un prélèvement urogénital (277 urètres, 128 prélèvements vaginaux, 142 urines et 14 autres), 9,9% (63/635) sont issus d'un prélèvement extragénital (52 rectaux, 11 pharyngés), et 1,7% (11/635) sont issus d'autre types de prélèvements (6 liquides articulaires, 1 liquide gastrique, 3 prélèvements oculaires et 1 hémoculture).

Dans cette cohorte de patients, une co-infection avec *C. trachomatis* est fréquemment observée, (15,0% des cas, 95/635) ; on dénombre également 13 cas de syphilis, 8 infections à *M. genitalium* et 2 infections à *T. vaginalis*. Dans cette cohorte, 4,4% des patients (28/635) vivaient avec le VIH.

La répartition en fonction de la structure de consultation et du type de prescripteur est visualisée dans la Figure ci-dessous. Sur l'ensemble des données recueillies, la majorité proviennent de patient(e)s consultant(e)s en CeGIDD (38,6%), suivi par les médecins généralistes (23,1%) et les urgences (12,9%).



**Figure. Répartition des gonococcies en pourcentage selon la structure consultée par le patient(e)s de l'enquête ENGON 2022**

Les profils génétique et phénotypique des 635 souches associés aux données cliniques sont en cours d'analyse.

### Comparaison des patients inclus dans les périodes ENGON 2017-2020 et ENGON 2021-2022

Les données cliniques des enquêtes ENGON 2017-2020, ENGON 2021 et ENGON 2022, les sites d'infections et les co-infections ont été regroupées dans les 3 Tableaux ci-dessous.

Les populations sont comparables dans le temps et on note un axe d'amélioration possible sur le recueil de l'orientation sexuelle, du motif de consultation et du lieu d'infection.

De manière générale, les patient(e)s chez le(la)quel(le)s une souche de gonocoque est isolée sont des hommes (sexe ratio 4/1) au niveau du 1<sup>er</sup> jet d'urine ou urètre. Les tranches d'âge sont les 15-35 ans avec des patient(e)s symptomatiques dans environ 40% des cas. Les patient(e)s consultent en priorité au CEGIDD. On note une augmentation de consultation chez le médecin généraliste et moins de consultations en maladies infectieuses.

La co-infection à *C. trachomatis* est stable dans le temps.

**Tableau. Caractéristiques des patients inclus dans les enquêtes 2017-2020 ENGON, 2021 et 2022**

Caractéristiques des patients	Patients inclus dans ENGON 2017-2020 (n=981, %)	Patients inclus dans ENGON 2021 (n=803, %)	Patients inclus dans ENGON 2022 (n=635, %)
<b>Genre</b>			
Homme	786 (80,1%)	647 (80,6%)	480 (75,6%)
Femme	187 (19,1%)	155 (19,3%)	153 (24%)
Transgenre	6 (0,6%)	0 (0%)	1 (0,2%)
Non renseigné	2 (0,2%)	1 (0,1%)	1 (0,2%)
<b>Orientation sexuelle</b>			
HSH	219 (22,3%)	67 (8,3%)	97 (15,3%)
Homme hétérosexuel	113 (11,5%)	42 (5,2%)	50 (7,9%)
Bi-sexuel	12 (1,2%)	5 (0,6%)	11 (1,7%)
Transgenre	5 (0,5%)	0 (0%)	0 (0%)
Non renseigné	632 (64,4%)	648 (80,7%)	445 (70,1%)

<b>Tranche d'âge</b>			
0-14	4 (0,41%)	5 (0,6%)	3 (0,5%)
15-24	345 (35,17%)	302 (37,6%)	229 (36,1%)
25-34	357 (36,39%)	275 (34,2%)	213 (33,5%)
35-44	162 (16,51%)	132 (16,4%)	101 (15,9%)
≥ 45	109 (11,11%)	88 (11%)	87 (13,7%)
Non renseigné	4 (0,41%)	1 (0,1%)	2 (0,3%)
<b>Motif de consultation</b>			
Symptomatologie génitale	437 (44,5%)	328 (40,8%)	249 (39,2%)
Dépistage systématique	78 (8,0%)	36 (4,5%)	51 (8,0%)
Symptomatologie autre	44 (4,5%)	17 (2,1%)	20 (3,1%)
Prise de risque sexuel	18 (1,8%)	14 (1,7%)	7 (1,1%)
Contrôle après traitement	16 (1,6%)	3 (0,4%)	3 (0,5%)
Autre	12 (1,2%)	3 (0,4%)	6 (0,9%)
IST chez le partenaire	9 (0,9%)	6 (0,7%)	1 (0,2%)
IVG	8 (0,8%)	0	0 (0%)
Agression / Viol	1 (0,1%)	1 (0,1%)	1 (0,2%)
Non renseigné	358 (36,5%)	395 (49,2%)	297 (46,8%)
<b>Pays infection probable</b>			
Non renseigné	548 (55,8%)	524 (65,2%)	410 (64,6%)
France	428 (43,6%)	264 (32,9%)	219 (34,5%)
Autres(Europe, US, Bénin, Croatie)	5 (0,5%)	15 (1,9%)	6 (0,9%)
<b>Structures de consultation</b>			
CEGIDD	404 (41,2%)	296 (36,9%)	245 (38,6%)
Urgences	132 (13,5%)	99 (12,3%)	82 (12,9%)
Maladies infectieuses	<b>121 (12,3%)</b>	<b>51 (6,4%)</b>	<b>19 (3,0%)</b>
Médecin généraliste	<b>77 (7,9%)</b>	<b>133 (16,6%)</b>	<b>147 (23,1%)</b>
Non renseigné	74 (7,5%)	49 (6,1%)	26 (4,1%)
Gynécologie	71 (7,3%)	59 (7,3%)	49 (7,7%)
Divers	59 (6,0%)	103 (12,8%)	33 (5,2%)
Dermatologie-Vénérologie	16 (1,6%)	1 (0,1%)	13 (2,0%)
Centre de planification	16 (1,6%)	3 (0,4%)	4 (0,6%)
Établissement pénitencier	8 (0,8%)	9 (1,1%)	16 (2,5%)
Rhumatologie	3 (0,3%)	0 (0%)	1 (0,2%)

**Tableau. Co-infections dans les enquêtes ENGON 2017-2020, ENGON 2021 et ENGON 2022.**

<b>IST bactérienne associée</b>	<b>Nombre IST associées dans ENGON 2017-20 (n=981, %)</b>	<b>Nombre IST associées dans ENGON 2021 (n=803, %)</b>	<b>Nombre IST associées dans ENGON 2021 (n=635, %)</b>
Aucune	517 (52,7%)	344 (42,8%)	385 (60,6%)
<i>C. trachomatis</i>	<b>141 (14,4%)</b>	<b>116 (14,4%)</b>	<b>90 (14,2%)</b>
<i>C. trachomatis</i> / <i>T pallidum</i>	8 (0,8%)	2 (0,2%)	1 (0,2%)
<i>C. trachomatis</i> / <i>M. genitalium</i>	8 (0,8%)	4 (0,5%)	2 (0,3%)
<i>C. trachomatis</i> / <i>T. vaginalis</i>	4 (0,4%)	2 (0,2%)	2 (0,3%)
<i>T pallidum</i>	34 (3,5%)	22 (2,7%)	12 (1,9%)
<i>T. pallidum</i> / <i>M. genitalium</i>	1 (0,1%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>M. genitalium</i>	7 (0,7%)	9 (1,1%)	6 (0,9%)
<i>T. vaginalis</i>	0 (0%)	1 (0,1%)	0 (0%)
Non renseigné	261 (26,6%)	303 (37,7%)	137 (21,6%)
Total	981 (100%)	803 (100%)	635 (100%)

Tableau. Types d'infections dans les enquêtes ENGON 2017-2020, ENGON 2021 et ENGON 2022.

Types d'infections	Site de l'infection	Patients inclus dans ENGON 2017-20 (n=981, %)	Patients inclus dans ENGON 2021 (n=803, %)	Patients inclus dans ENGON 2022 (n=635, %)
Invasive	Abcès	2 (0,2%)	0 (0%)	0 (0%)
	Liquide articulaire	9 (0,9%)	4 (0,5%)	6 (0,9%)
	Œil	3 (0,3%)	0 (0%)	3 (0,5%)
	Sang	3 (0,3%)	0 (0%)	1 (0,2%)
Uro-génital	Urètre	489 (49,8%)	466 (58,0%)	278 (43,8%)
	Urine	111 (11,3%)	105 (13,1%)	142 (22,4%)
	Sperme	1 (0,1%)	1 (0,1%)	0 (0%)
	Autres	3 (0,3%)	13 (1,6%)	0 (0%)
	Cervico-vaginal	108 (11%)	141 (17,6%)	128 (20,2%)
	Vaginal	61 (6,2%)	0 (0%)	1 (0,2%)
	Liquide péritonéal	2 (0,2%)	1 (0,1%)	0 (0%)
	Endocervical	1 (0,1%)	2 (0,2%)	1 (0,2%)
	Autre	4 (0,4%)	2 (0,2%)	9 (1,4%)
	Extra-génital (2 sexes)	Anus	156 (15,9%)	60 (7,5%)
Gorge		20 (2%)	5 (0,6%)	11 (1,7%)
Inconnu		8 (0,8%)	3 (0,4%)	3 (0,5%)
<b>Total</b>	<b>Total</b>	<b>981 (100%)</b>	<b>803 (100%)</b>	<b>635 (100%)</b>

### 3.2.2.2 Cas de gonococcies invasives expertisées au CNR

Le CNR a reçu en 2022, **7 souches invasives** de *N. gonorrhoeae* provenant de 7 patients(e)s responsables de **2 gonococcémies**, d'**1 arthrite**, de **2 kératoconjonctivites** et de **2 infections génitales hautes** dont une survenant sur stérilet.

Le récapitulatif de l'origine géographique de ces cas est représenté par la carte ci-dessous. Les cas sont décrits brièvement ci-dessous, l'analyse phénotypique et génotypique des souches a été réalisée.



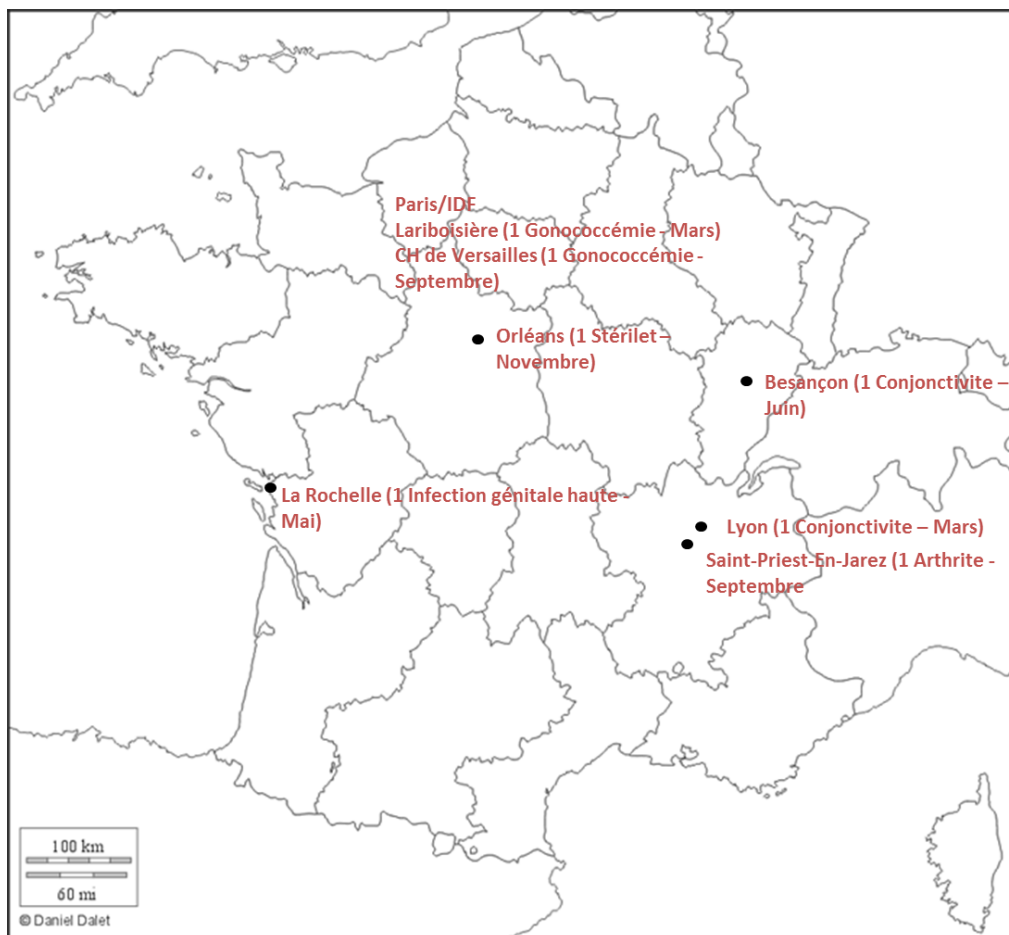


Figure. Répartition géographique des souches invasives réceptionnées au CNR en 2022

#### Kératoconjonctivite :

- **Cas 1** (CHU de Lyon) : En **mars 2022**, une souche invasive a été isolée d'un prélèvement oculaire provenant d'un patient souffrant de conjonctivite de l'œil droit. La souche était sensible à la ceftriaxone et au céfixime, résistante aux fluoroquinolones et aux tétracyclines et de MLST7827, NG-MAST2318 et NGSTAR38.

-**Cas 2** (CHU de Besançon) : En **mai 2022**, une souche a été isolée d'un prélèvement oculaire chez un patient HSH de **24 ans souffrant d'une kératoconjonctivite perforée**. Le patient a été traité par ceftriaxone pendant 5 jours et collyre. La souche était sensible aux C3G, résistante aux fluoroquinolones et de MLST10314, NG-MAST13487 et NGSTAR1615.

#### Gonococcémies

- **Cas 3** (Hôpital Lariboisière) : En **mars 2022**, une souche invasive a été isolée d'une hémoculture périphérique chez un patient de 31 ans hospitalisé en réanimation (exposition régulière au chem-sex). La souche était sensible à la ceftriaxone et uniquement résistante aux fluoroquinolones. La souche présentait le MLST1588, NG-MAST338 et NGSTAR1873.

- **Cas 5** (CH de Versailles) : En **septembre 2022**, une souche invasive a été isolée à partir d'une hémoculture d'un patient de 63 ans souffrant de polyarthralgies épaule/cheville/genoux. Il a été traité avec de la ceftriaxone. La souche était sensible aux C3G, résistante aux fluoroquinolones et aux tétracyclines et de MLST8774, NGSTAR4026 et NG-MAST inconnu.

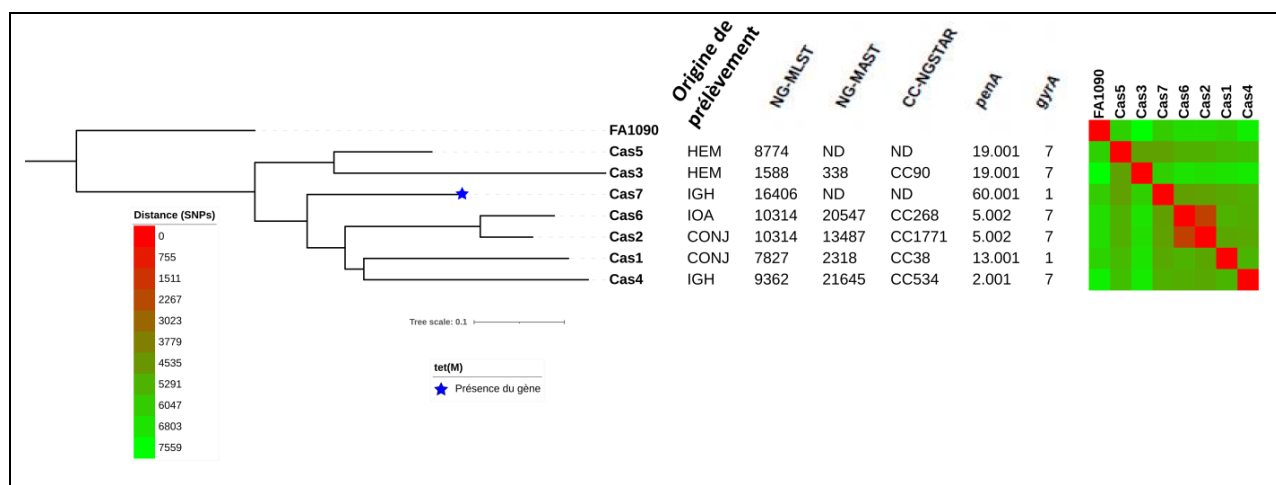
#### Arthrites septiques

- **Cas 6** (CHU de Saint-Etienne) : En **septembre 2022**, une patiente de 44 ans est hospitalisée en rhumatologie pour un tableau de polyarthralgies fébriles. La souche invasive a été isolée à partir d'un **liquide articulaire du genou droit**. La patiente a été traitée par de la ceftriaxone. La souche était sensible aux C3G, résistante aux fluoroquinolones et aux tétracyclines. Elle présentait un MLST10314, un NGSTAR1824 et un NG-MAST20547.

## Infections génitales hautes

- **Cas 4** (CH de La Rochelle) : En **avril 2022**, une souche a été isolée chez une patiente souffrant d'une infection génitale haute. La patiente a été traitée par doxycycline, métronidazole et ceftriaxone. La souche était sensible aux antibiotiques excepté la tétracycline et la ciprofloxacine et était de MLST 9362, NGSTAR1031 et un NG-MAST inconnu.
- **Cas 7** (CHR d'Orléans) : En **novembre 2022**, une patiente de 19 ans présente une infection génitale haute sur dispositif intra-utérin associée à une inflammation de l'appendicite objectivée au scanner abdomino-pelvien. La patiente est opérée et une souche de gonocoque est isolée à partir du stérilet et des prélèvements vaginaux. La PCR réalisée sur le pus de Douglas est positive à *N. gonorrhoeae*. La souche présentait une résistance au céfixime (CMI=1 mg/L), une CMI située au niveau du breakpoint pour la ceftriaxone (CMI=0,125mg/l), était à haut niveau de résistance à l'azithromycine (>256mg/l), à la tétracycline, à la ciprofloxacine. La souche avait le MLST16406, un NGSTAR4465 et un NG-MAST inconnu.

La clonalité de ces souches (Figure ci-dessous) et leur contenu en gènes de résistance a été déterminée. Six MLST différents ont été retrouvés dont 1 cluster de 2 isolats portant le MLST10314 : la souche (cas 2) isolée à Saint Etienne et celle de Besançon (cas 6) qui sont cependant assez éloignées phylogénétiquement (1774 SNP d'écart).

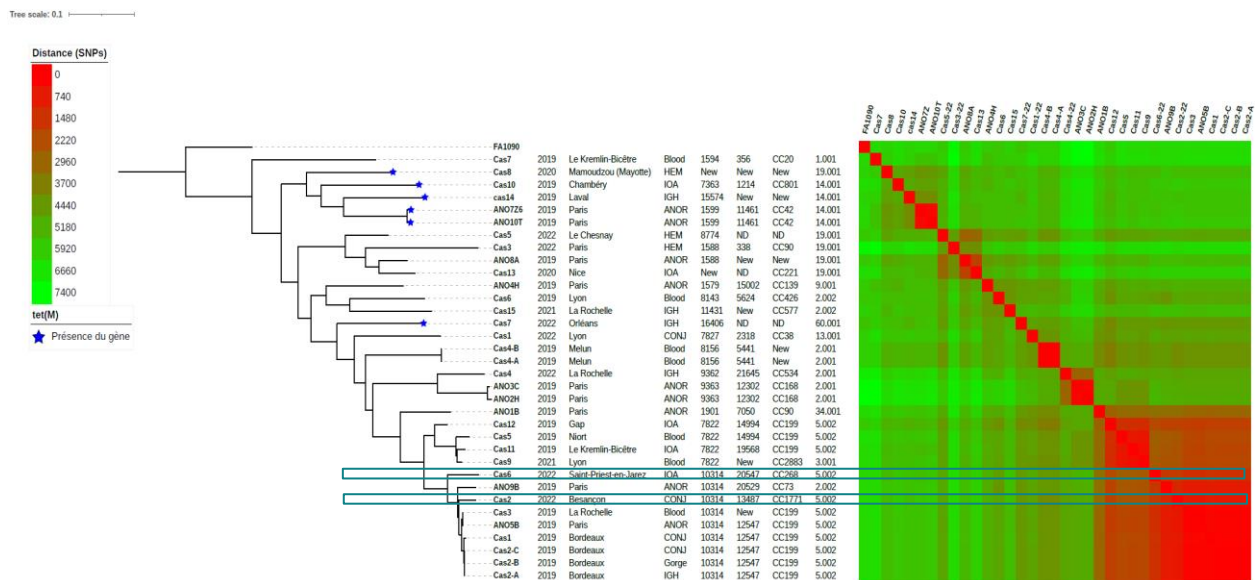


**Figure. Alignement phylogénétique de 7 souches responsables d'infections invasives observées en 2022.** La souche de référence FA1090 a été choisie pour enracer l'arbre.

Le core génome des souches des **cas 2 et 6** a été comparé à celui des 33 souches invasives isolées depuis 2019 (22 en 2019, 2 en 2020, 2 en 2021, 7 en 2022). Ces dernières **clustrent avec 7 souches déjà rapportées dans les rapports précédents de MLST10314** (cf. Figure ci-dessous). Les souches anciennes avaient été isolées chez des patients HSH seulement en 2019 [2 cas d'anorectites ANO5B et ANO9B (Paris), 2 cas de kératoconjonctivites Cas1 et Cas2-isolatABC (Bordeaux), un cas d'hémoculture/arthritis Cas3 (La Rochelle)]. Le cas 2 isolé en 2022, également chez un patient HSH, a plus de 600 SNP d'écart avec les souches isolées en 2019.

La virulence du clone ST10314 invasif est en cours d'investigation en **collaboration avec l'équipe Inserm U1151, CNRS UMR8253 dirigée par Matthieu Coureuil** où les souches seront caractérisées d'un point de vue phénotypique à l'aide de différents tests standardisés, avec un intérêt particulier sur l'expression des phages filamenteux (cf. 6.1.3.3).

Le CNR reste en alerte par rapport à la circulation de souches invasives et notamment du clone MLST10314 chez les HSH.



**Figure. Alignement phylogénétique de 23 souches responsables d'infections invasives isolées en France depuis 2019.** La souche de référence FA1090 a été choisie pour enraciner l'arbre. Les cas 2 et 6 isolés en 2022 sont encadrés en bleu.

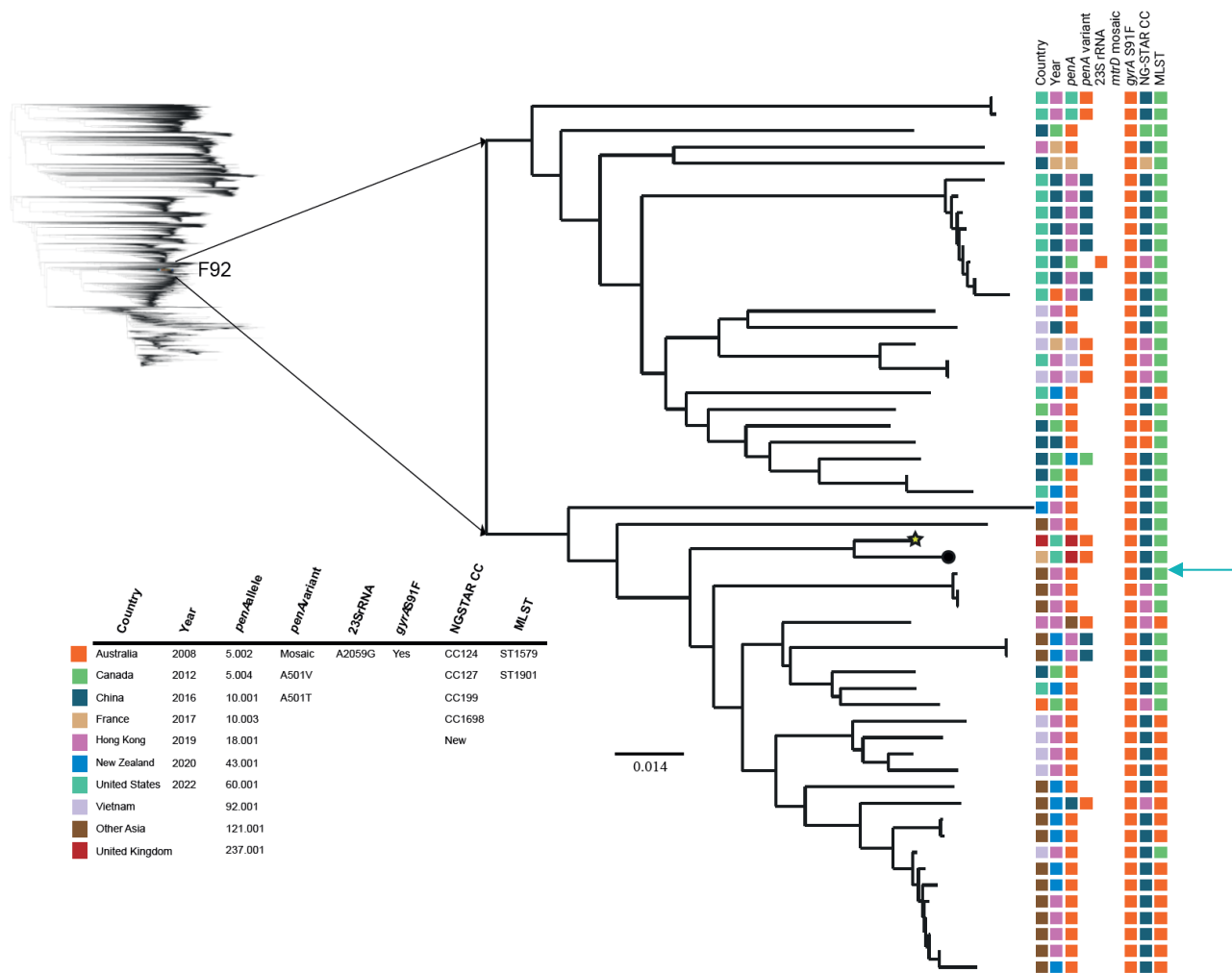
### 3.2.2.3 Description d'une souche résistante aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération en 2022

En mai 2022, une patiente hétérosexuelle a présenté un premier épisode de vaginite après un rapport sexuel non protégé avec son partenaire présentant une urétrite non compliquée qui revenait d'un voyage d'affaire au Vietnam et en Suisse. Le prélèvement vaginal est revenu positif à *N. gonorrhoeae* par TAAN mais négatif en culture. Après un traitement avec une dose unique de 1g de ceftriaxone, la patiente ne présentait plus de symptômes et le test of cure était négatif. Six semaines plus tard, en juin 2022, la patiente présente les mêmes symptômes après avoir eu des rapports uniquement avec ce même partenaire. Une souche de *N. gonorrhoeae* résistante à la ceftriaxone appelée F92 est isolée à partir du prélèvement vaginal. La patiente a été traitée avec succès par prise orale unique de 2g d'azithromycine.

La souche F92 présentait un phénotype multi-résistant avec un haut niveau de résistance à la ceftriaxone (CMI = 0,5 mg/L), au céfixime (CMI = 2 mg/L), à la ciprofloxacine (CMI  $\geq$  32 mg/L), une résistance de bas niveau à la tétracycline (CMI = 4 mg/L). L'isolat était sensible à la spectinomycine (CMI = 16 mg/L) et à l'azithromycine (CMI = 0,5 mg/L, le cut-off épidémiologique étant fixé à 1mg/L).

L'analyse *in silico* des données de WGS a permis d'attribuer à la souche le type MLST1901 et un NG-MAST inconnu (*porB*-2553, *tbpB*-2459). La souche a été assignée avec un nouveau typage pour la résistance aux antimicrobiens NG-STAR ST4837 suite au nouvel allèle *penA*, désigné comme *penA*-237.001. Celui-ci code avec 99,1% de similarité en acides aminés à l'allèle *penA*-60.001 hébergé par le clone international à succès FC428. Le *penA*-237.001 code une protéine mosaïque de liaison à la pénicilline 2 (PBP2) comprenant les substitutions d'acides aminés A311V, I312M, V316T et G545S associé à la résistance aux céphalosporines. De nombreux déterminants de résistance supplémentaires ont généré le phénotype multirésistant (MDR), mutations des QRDR GyrA S91F/D95A et ParC S87R (haut niveau de résistance à la ciprofloxacine), mutation V57M dans la protéine ribosomique S10 (bas niveau de résistance à la tétracycline), délétion d'une adénine du promoteur de *mtrR* (hyperexpression du système d'efflux MtrCDE) et haplotype G120K/A121D dans la porine PorB.

Une comparaison du core-genome de la souche F92 avec les génomes C3- résistants F89, F90, F91 montre un éloignement important (2546, 5152, et 5068 SNP d'écart). Après comparaison avec 36 100 génomes gonococciques [(base Orebro, Suède)], la souche est similaire (42 SNP d'écart) à la souche UK722 isolée en Angleterre (cf. Figure ci-dessous). Concernant la souche britannique UK722, Day M. et al. (Eurosurveill 2022) rapportent la probable acquisition de ce clone chez une jeune femme en Angleterre en 2021. Cette observation permet de suspecter l'implantation et la circulation de ce nouveau clone dans les réseaux de transmission en Europe. Ces travaux ont été publiés dans Eurosurveill en 2022.



CC: clonal complex; NG-STAR: Neisseria gonorrhoeae sequence typing for antimicrobial resistance; MLST: multilocus sequence typing.

**Figure. Phylogénie de l'isolat multirésistant F92, de souches de *N. gonorrhoeae* accessibles au public (n = 36 310), de souches résistantes à la ceftriaxone décrites dans d'autres publications (n = 28). La souche F92 est signalée par une flèche.**

### 3.2.3 Syphilis

Sur la période 2006-2022, le laboratoire associé syphilis a réceptionné 482 sérums et 2043 écouvillons dans le cadre des protocoles d'étude et 8898 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 2022, le CNR a reçu un total de 104 écouvillons provenant de 104 patients (90,4% d'hommes, d'âge moyen 35 ans) testés par qPCR pour les gènes *tp47* et *poIA*. La majorité des prélèvements réceptionnés sont des écouvillons d'origine génitale (52%), buccale (22%) et anale (16%) alors que les écouvillons d'origine cutanée sont moins représentés à 9%, (Figure ci-dessous). La détection du génome de *T. pallidum* par qPCR dans l'ensemble des écouvillons est de 22,1% (23/104) se répartissant à 15,4% (16/104) d'échantillons positifs pour les écouvillons génitaux, 5% (5/104) pour les écouvillons buccaux et 1% (1/105) pour les écouvillons anaux et cutanés.

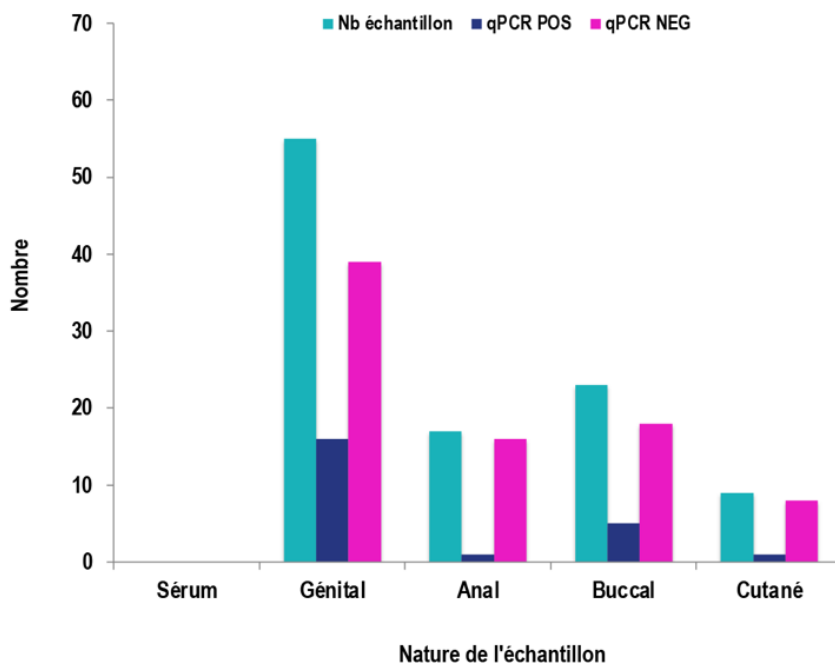


Figure. Répartition de la nature des échantillons et résultats qPCR en 2022.

Sur l'ensemble de la période de collecte, la population incluse dans le réseau 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).

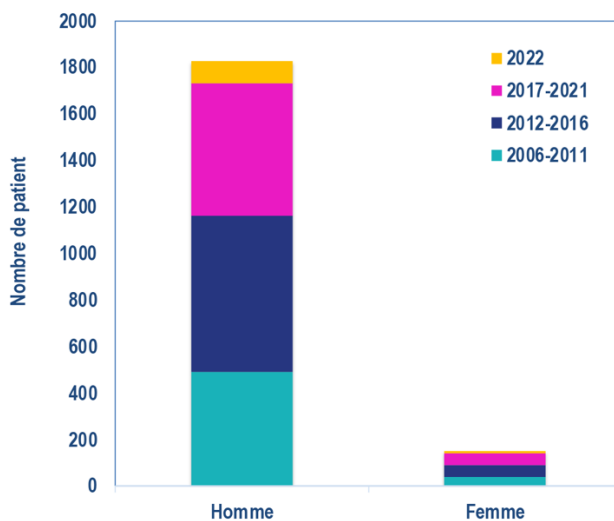


Figure. Répartition du sexe des patients recrutés sur la période 2006-2022.

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.

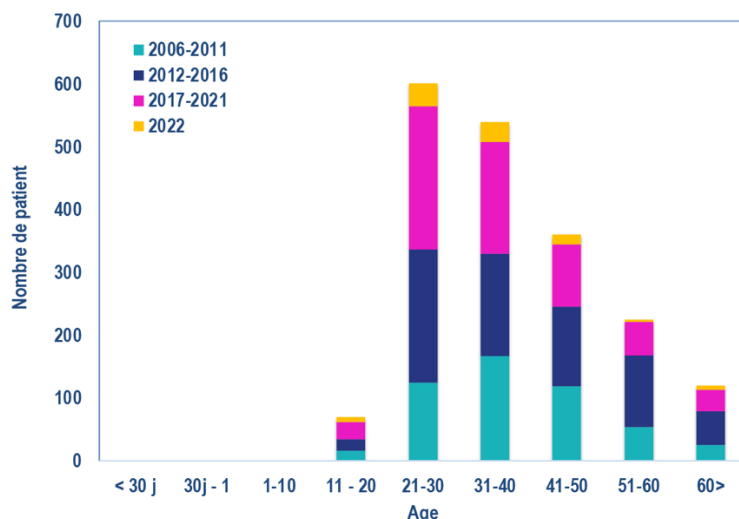


Figure. Répartition en fonction de l'âge des patients sur la période 2006-2022.

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 cutanéomuqueuses 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).

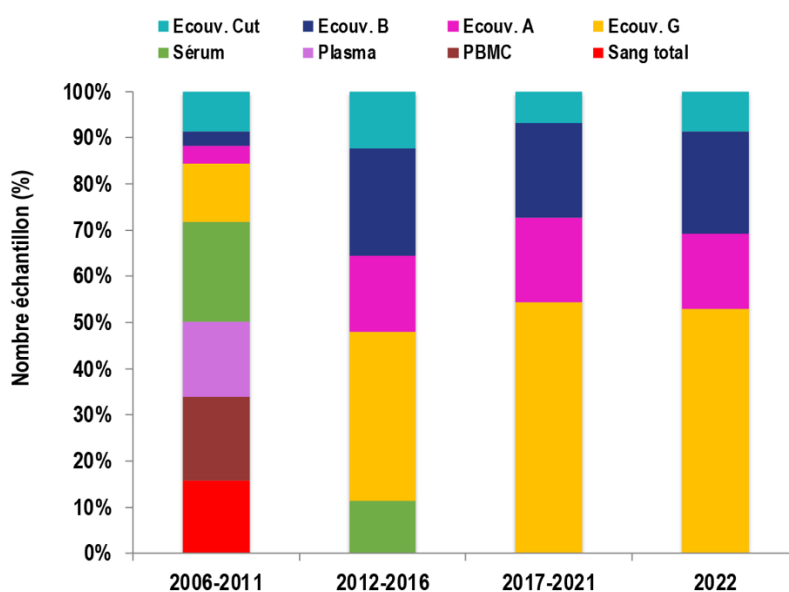


Figure. Répartition du site de prélèvement pour GenoSyph sur la période 2006-2020.

Sur l'ensemble de la période de collecte des échantillons, ce sont principalement les régions Ile-de-France et PACA qui ont fourni au CNR la majeure partie du matériel génétique des souches de *T. pallidum* (cf. Figure ci-dessous).

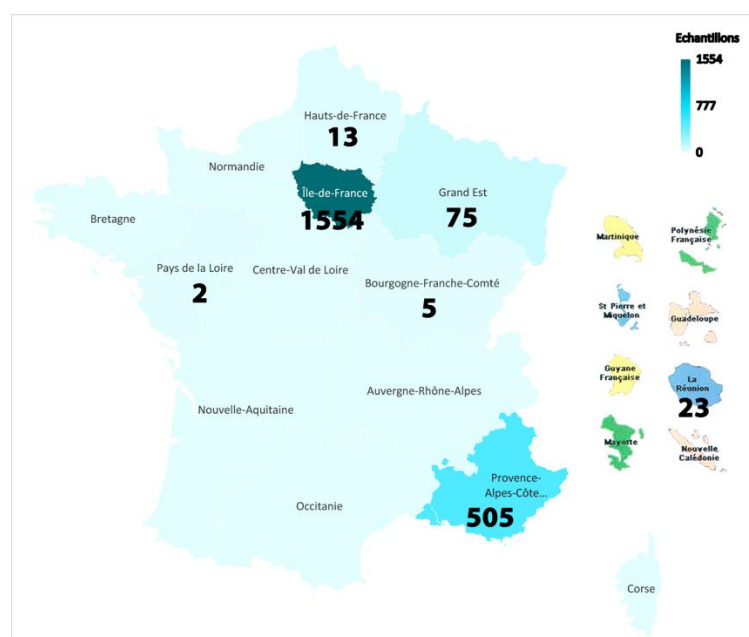


Figure. Répartition géographique des patients GenoSyph sur la période 2006-2022.

### 3.2.3.2 Dans le cadre du réseau Anachla

Pour l'année 2022, nous avons testé la présence d'ADN de *T. pallidum* dans les prélèvements anaux reçus des patients qui avaient une sérologie syphilis positive dans le cadre de l'enquête épidémiologique Anachla sur les anorectites réalisée par le laboratoire de Bordeaux.

Un total de 135 échantillons a été testé et 15 (11,1%) présentaient un résultat positif par qPCR. Malgré la faible proportion de patients positifs, 93% sont des hommes avec 46,7% de HSH. 33,3% sont HIV+ et le diagnostic d'anorectite était retrouvé chez 73,3% des individus (cf. Tableau ci-dessous). L'analyse de la résistance à l'azithromycine montre une très bonne amplification de l'ARNr 23S à 87% (13/15). L'analyse de la présence de la mutation A2058G a été possible sur (10/13) 77% des échantillons avec 90% (9/10) présentant la mutation de la résistance à l'azithromycine (Cf. Tableau ci-dessous).

Tableau. Echantillons Anachla 2022 positifs pour *T. pallidum* et résistant à l'azithromycine.

GENRE	ORIENTATION	AGE	MOTIF	AUTRE MOTIF	DIAG	VIH	PREP	IST VIRALE	IST BACT	Amplification génique			RFLP	
										PCR TP	Ct qPCR polA	Ct qPCR tpp47	PCR 23S	Mutation / Wild type
H	INC	33	SYMPTO ANALE	HEMORROIDES	LGV	neg		non	Syph	pos	35,27	33,53	pos	ND
H	INC	40	INC		ANO	neg		INC	Syph	pos	36,49	33,38	pos	A2058G
H	HSH	31	PRISE RISQUE	DE	ANO	pos		non	Syph	pos	35,76	33,36	pos	wt
H	HSH	36	SYMPTO ANALE		LGV	neg	PREP	non	Syph	pos	36,22	33,88	pos	A2058G
H	HETERO	30	SYMPTO AUTRE		ANO	neg		non	Syph	pos	36,25	33,82	pos	A2058G
H	BI	28	SYMPTO AUTRE	ASTHENIE	ANO	pos		non	Syph + Gono	pos	36,75	36	pos	A2058G
H	HSH	27	DEPISTAGE		ANO	neg		non	Syph	pos	28,56	25,88	pos	A2058G
H	HSH	45	SYMPTO ANALE		LGV	neg	PREP	non	Syph + Gono	pos	35,58	36,5	pos	A2058G
H	INC	30	VIH		ANO	pos		INC	Syph + Gono	pos	28,64	29,41	pos	A2058G
TRANS MF	AVEC H	48	VIH		LGV	pos		non	Syph	pos	28,44	28,77	neg	ND

H	INC	40	PREP		ANO	neg	PREP	non	Syph + Gono	pos	25,12	25,64	pos	A2058G
H	HSH	47	SYMPTO ANALE		ANO	neg		non	Syph	pos	35,4	35,51	neg	ND
H	HSH	20	SYMPTO ANALE	CHANCRE	ANO	neg		non	Syph	pos	29,45	30,08	pos	A2058G
H	INC	36	INC		ANO	neg		INC	Syph	pos	35,9	34,66	pos	A2058G
H	BI	26	VIH		ANO	pos		HPV	Syph	pos	28,96	29,48	pos	A2058G

### 3.2.3.3 Dans le cadre de l'expertise

Pour l'année 2022, le laboratoire associé syphilis a reçu 1409 échantillons correspondant à 1093 patients (55,3% d'hommes) d'âge moyen 44,3 ans. La détection du génome de *T. pallidum* par qPCR des gènes *tp47/polA* correspond à 670 analyses dont 4,9% de résultats positifs. Les expertises sérologiques représentent 1260 analyses dont 58,1% de résultats positifs, portant à un total de 1930 analyses réalisées pour expertise par le CNR IST en 2022.

Les échantillons reçus pour expertise moléculaire se répartissent comme suit : sang total (2%), LCR (43%), écouvillons (17%), biopsies (4%) et autres (2%). Les échantillons «autres» correspondent à : sperme (4), plasma (1), liquide pleural (1), liquide articulaire (3), ulcérations cutanée / buccale (2).

Les prélèvements périnataux représentent dans leur totalité à 17% des échantillons reçus sur l'année. Ils se répartissent en liquide amniotique (1%), placenta (9%), sang cordon et cordon (5%), liquide gastrique, écouvillon et/ou sécrétions nasopharyngées (17%). Dans ce cadre, du LCR est prélevé et représente 3% de l'ensemble des LCR reçus au CNR.

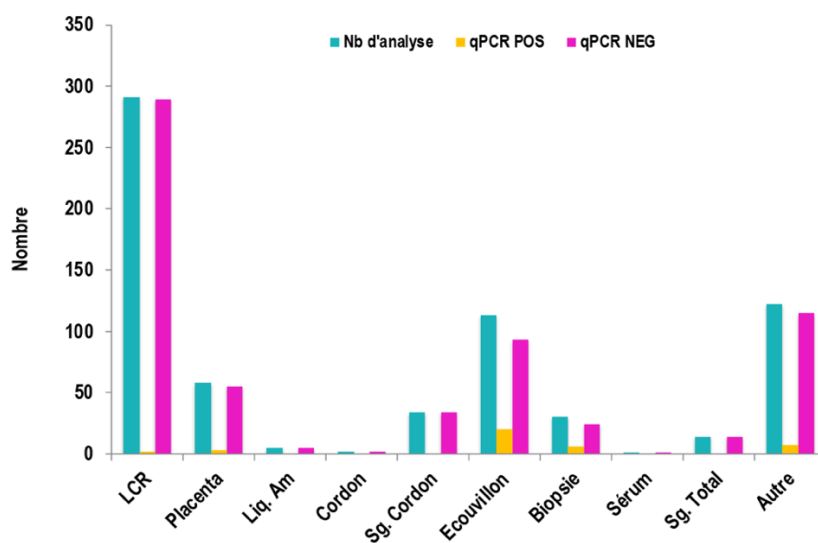


Figure. Nature des échantillons reçus pour expertise en 2022 et analysés par qPCR.

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, du fait de sa nature manuelle et opérateur-dépendant, beaucoup de laboratoires d'analyses médicales ne souhaitent 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 TNT 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 2022, 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 65,3% de l'ensemble des analyses réalisées avec une positivité globale de 58,1%.



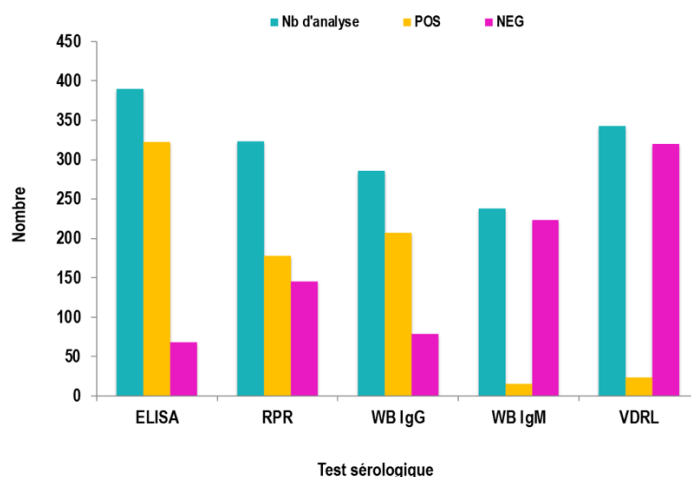


Figure. Nature des analyses sérologiques effectuées en 2022.

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 250% et de 177% sur les 2 précédentes mandatures respectivement. En 2022, le nombre total d'échantillons reçus s'est stabilisé et a augmenté de 4,6% par rapport à l'année précédente (cf. Figure ci-dessous).

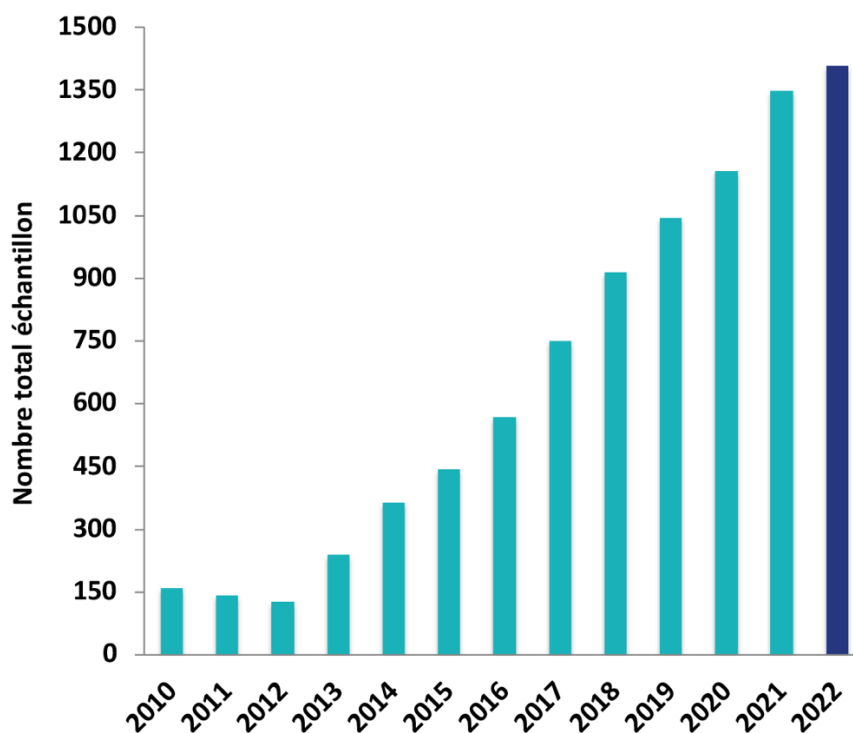


Figure. Echantillons reçus pour expertise sur la période 2006-2022.

C'est une population à dominante masculine (cf. Figure ci-dessous) avec un total de 4139 hommes (59%) et de 2922 femmes (41%). Le ratio sexe ratio H/F est de 1,4:1.

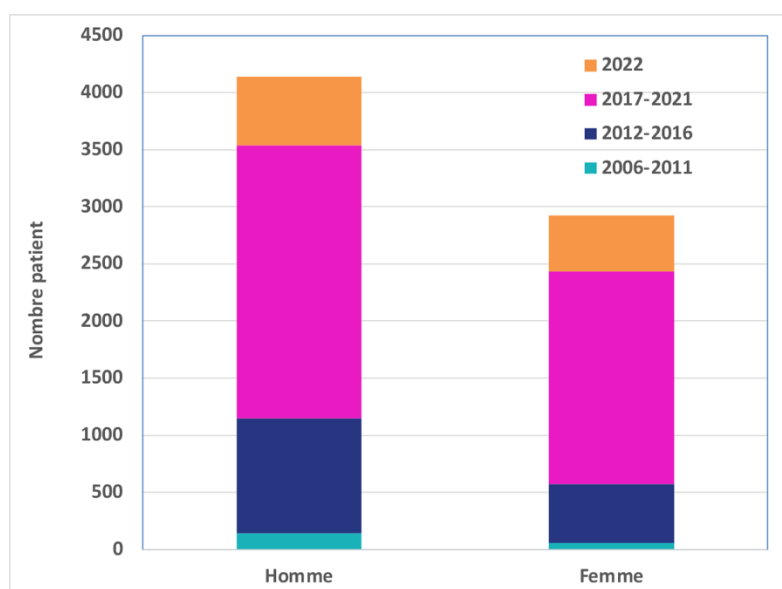


Figure. Sexe des patients sur la période 2006-2022.

La tranche d'âge 21-50 ans est majoritaire et représente 44,5% des individus. Les nouveau-nés d'un âge inférieur à 30 j représentent 21,2% de la population analysée alors que la population âgée de 60 ans et plus représente 15,6% des échantillons envoyés (cf. Figure ci-dessous).

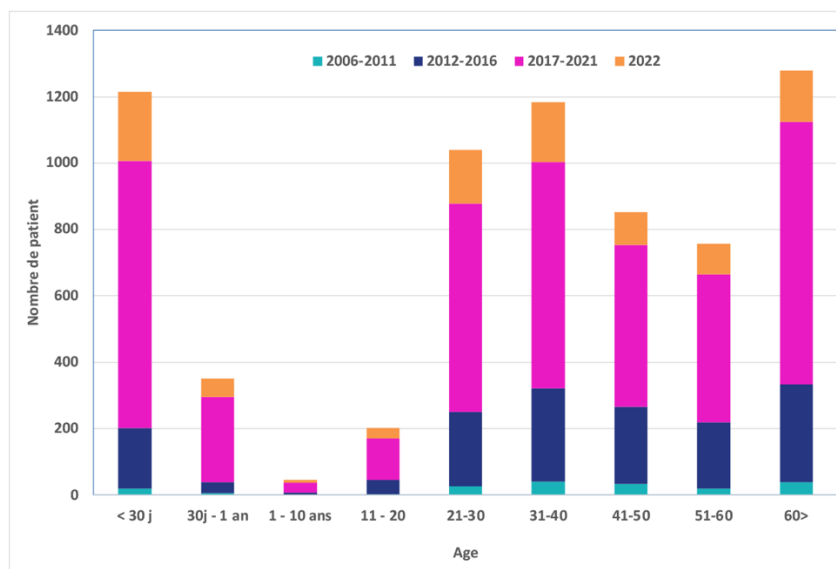


Figure. Age des patients sur la période 2006-2022.

Il est intéressant de noter l'évolution de la nature des échantillons reçus par le laboratoire associé syphilis sur la période 2006-2022 (figure ci-dessous). L'ensemble des échantillons répertoriés et analysés par le CNR est caractérisé par une grande diversité des sites de prélèvements. L'année 2022 traduit également cette diversité avec 19% de LCR, 52% de sérum, 1% de sang total, 8% d'écouvillon, 2% de biopsie, 17% d'échantillons périnataux et 1% d'échantillons « autres ».

Sur la période 2006-2022, les écouvillons et les prélèvements sanguins représentent 12% et 33% des échantillons, respectivement. Les biopsies, hors prélèvements périnataux, représentent 11%. Les prélèvements périnataux (liquide amniotique, placenta, cordon) sont assez stables sur la période et représentent 11% des prélèvements. Les LCR représentent 31% des échantillons sur la période 2006-2022 en décroissance depuis 2016. En revanche, la part des sérums augmente et s'établit à 24% sur la période 2006-2022 et 52% pour l'année 2022.

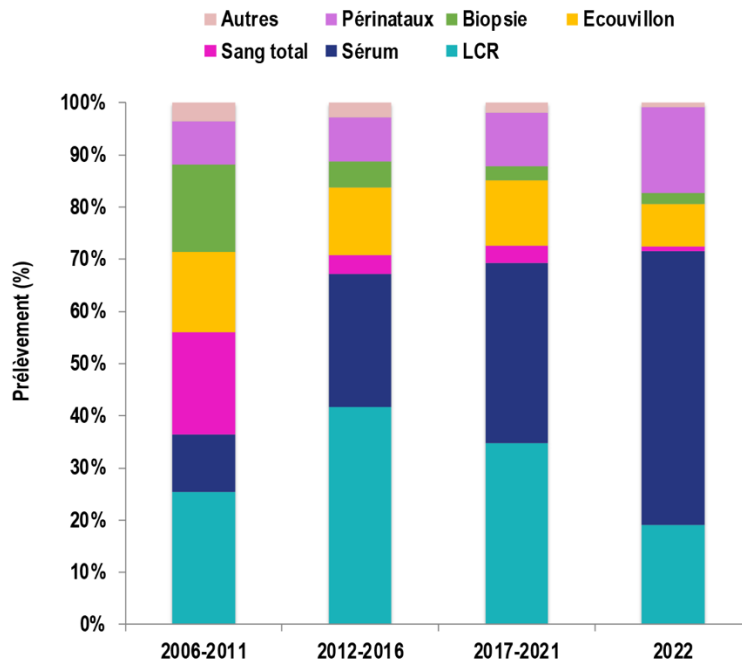


Figure. Nature des échantillons reçus par le CNR sur 2006-2022.

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

Depuis 4 ans, les enquêtes de surveillance de la résistance aux antibiotiques pour les mycoplasmes et le gonocoque sont lancées de façon concomitante.

#### 3.3.1 Surveillance de la résistance de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* aux antibiotiques en France métropolitaine en 2021 (MYCOMET 2021)

##### Objectifs

Détermination de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* isolées en France en 2021.

##### Matériels et méthodes

Dans les centres participants, du 15 septembre au 15 octobre 2021, 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 en culture pure ont été déterminées avec des plaques à façon MICRONAUT-S fabriquées par la société Biocentric (Bruker). Les CMI de la tétracycline, doxycycline, lévofloxacine, moxifloxacine, érythromycine, azithromycine et clindamycine ont ainsi été évaluées. Les plaques sont ensemencées avec des souches à 10<sup>5</sup> UCC/ml pendant 48h pour *M. hominis* et 24h pour *Ureaplasma* spp. sous CO<sub>2</sub>.

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

- Description des échantillons reçus

Un total de 259 échantillons cliniques, issus de 255 patients, positifs à *Ureaplasma* spp. et/ou *M. hominis* a été collecté en France métropolitaine du 15 septembre au 15 octobre 2021 dans 13 centres de métropole (Figure et Tableau ci-dessous). Deux cents échantillons (198 patients) étaient positifs à *Ureaplasma* spp., 25 échantillons (24 patients) étaient positifs à *M. hominis* et 34 échantillons (33 patients) avaient une co-infection *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*.

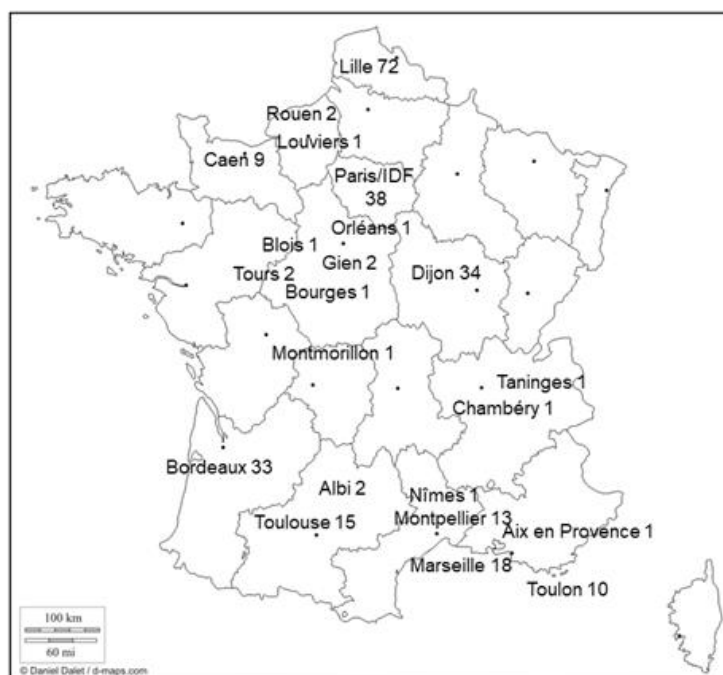


Figure. Répartition géographique des centres participants et nombre d'échantillons reçus par centre.

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

Centre participant	Nombre d'échantillons reçus				Nombre de souches cultivées				
	Mh	U spp	Mh et U spp	Total	Mh	Up	Uu	Up et Uu	Total
APHP BICHAT	0	4	1	5	0	2	2	1	5
CHU BORDEAUX	2	27	4	33	6	19	8	0	33
CERBA	13	39	7	59	15	29	6	2	52
CH ALBI	0	1	1	2	1	0	0	1	2
CH ARGENTEUIL	0	10	1	11	1	6	4	0	11
CH CHAMBERY	0	1	0	1	0	0	0	0	0
CH LOUIS MOURRIER	0	4	0	4	0	0	0	0	0
CHU CAEN	3	5	1	9	4	3	0	0	7
CHU DIJON	0	28	6	34	3	12	7	0	22
CHU HENRY MONDOR	0	1	0	1	0	1	0	0	1
CHU LILLE	5	55	12	72	8	40	6	1	55
CHU MONTPELLIER	2	10	1	13	2	3	4	0	9
CHU TOULOUSE	0	15	0	15	0	10	3	0	13
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>200</b>	<b>34</b>	<b>259</b>	<b>40</b>	<b>125</b>	<b>40</b>	<b>5</b>	<b>210</b>

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

Un total de 210 souches, issues de 197 patients, a pu être isolé par culture au CNR des IST bactériennes soit 71,6% des échantillons reçus (210/293). Le taux de repousse est meilleur que les années précédentes.

- Souches analysées

**Tableau. Répartition des prélèvements à partir desquelles des souches ont été isolées.**

Sexe	Site de prélèvement	<i>M. hominis</i>	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>U. parvum et U. urealyticum</i>	Total
Femme	Débris placentaire	2	5	4	0	11
	Endocol	4	7	2	1	14
	Urines	0	1	0	0	1
	Vagin	20	59	11	3	93
Homme	Aspiration nasopharyngée	0	0	1	0	1
	Sperme	13	53	22	1	89
	Urines	1	0	0	0	1
<b>Total</b>		<b>40</b>	<b>125</b>	<b>40</b>	<b>5</b>	<b>210</b>

L'âge moyen des patients était de 33 ans et l'âge médian de 33 ans [4 jours-67 ans]. L'âge moyen des femmes était de 31,6 ans et celui des hommes de 35,6 ans ( $p < 0.05$ ).

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

Parmi les 59 échantillons cliniques positifs à *M. hominis*, issus de 57 patients, 40 souches ont pu être cultivées et leurs CMI déterminées.

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

Famille	Antibiotique	Nombre d'isolats en fonction de la CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )											Nombre (%) de souches résistantes selon le CLSI	IC [95%]	
		>0.03	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16			>16
Tétracycline	Tétracycline	-	-	-	21	13	-	-	-	-	-	2	4	15% (6/40)	[7,06-29,07]
	Doxycycline	-	27	7	-	-	-	2	1	2	-	1	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofloxacine	-	-	-	2	30	5	2	1	-	-	-	-	2,5% (1/40)	[0,4-12,88]
	Moxifloxacine	-	-	11	23	5	1	-	-	-	-	-	-	2,5% (1/40)	[0,4-12,88]
Macrolides	Clindamycine	1	14	21	4	-	-	-	-	-	-	-	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% (6/40) en 2021 vs 8,0% (6/55) en 2020 ( $p > 0,05$ ). La prévalence de la résistance à la lévofloxacine était de 2,5% (1/40) en 2021 vs 4,0% (2/50) en 2020 ( $p > 0,05$ ). La souche résistante à la lévofloxacine était également résistante à la moxifloxacine. Il n'y avait pas de résistance à la clindamycine en 2021.

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

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

Parmi les 234 échantillons cliniques positifs à *Ureaplasma* spp., issus de 231 patients, 170 souches (125 *U. parvum*, 40 *U. urealyticum* et 5 *U. urealyticum/U. parvum*) ont pu être isolées par culture en milieu liquide. Les CMI ont été déterminées sur les 165 souches pures (les cinq mélanges de *U. parvum* et de *U. urealyticum* ont été exclus).

Tableau. Répartition des CMI chez *Ureaplasma* spp.

Famille	Antibiotique	Nombre d'isolats 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			>16
Tétracycline	Tétracycline	-	-	-	21	69	40	27	3	2	1	1	1	4,8% (8/165)	[2,48-9,27]
	Doxycycline	-	13	51	60	26	10	2	1	1	1	-	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	-	-	-	-	9	102	46	3	2	2	1	-	3,0% (5/165)	[1,3-6,9]
	Moxifloxacine	-	-	-	-	88	66	7	1	1	2	-	-	1,8% (3/165)	[0,62-5,2]
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	-	-	-	3	32	101	29	-	-	0%	ND
	Azithromycine	-	-	-	-	-	-	35	105	25	-	-	-	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	Nombre d'isolat sen 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			>16
Tétracycline	Tétracycline	-	-	-	20	65	33	4	-	-	1	1	1	2,4% (3/125)	[0,8-6,8]
	Doxycycline	-	13	46	52	11	-	-	1	1	1	-	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	-	-	-	-	8	89	22	2	2	1	1	-	3,2% (4/125)	[1,25-7,94]
	Moxifloxacine	-	-	-	-	68	49	5	1	-	2	-	-	1,6% (2/125)	[0,4-5,65]
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	-	-	-	2	28	81	14	-	-	0%	ND
	Azithromycine	-	-	-	-	-	-	29	88	8	-	-	-	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	Nombre d'isolats 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			>16
Tétracycline	Tétracycline	-	-	-	1	4	7	23	3	2	-	-	-	12,5% (5/40)	[546-26.11]
	Doxycycline	-	-	5	8	15	10	2	-	-	-	-	-	NA	NA
Fluoroquinolones	Lévofoxacine	-	-	-	-	1	13	24	1	-	1	-	-	2,5% (1/40)	[0,44-1288]
	Moxifloxacine	-	-	-	-	20	17	2	-	1	-	-	-	2,5% (1/40)	[0,44-1288]
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	-	-	-	1	4	20	15	-	-	0%	ND
	Azithromycine	-	-	-	-	-	-	6	17	17	-	-	-	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 à la tétracycline en 2021 était de 4,8% (8/165) avec 2,4% (3/125) chez *U. parvum* et 12,5% (5/40) chez *U. urealyticum*. Elle était de 2,0% (3/151) en 2020 ( $p>0,05$ ). La résistance à la lévofoxacine en 2021 était de 2,4% (4/165) avec 2,4% (3/125) chez *U. parvum* et 2,5% (1/40) chez *U. urealyticum*. Elle était de 4,0% (6/151) en 2020 ( $p>0,05$ ). Sur les quatre souches résistantes à la lévofoxacine, trois résistaient

également à la moxifloxacine. Aucune résistance à l'érythromycine n'a été retrouvée.

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

**Tableau. Taux de résistance phénotypique en fonction du genre.**

Famille	Espèce	Femmes	Hommes	p value	Population totale
Tétracyclines	<i>M. hominis</i>	11,5% (3/26)	21,4% (3/14)	NS	15% (6/40)
	<i>U. parvum</i>	2,8% (2/72)	1,9% (1/53)	NS	2,4% (3/125)
	<i>U. urealyticum</i>	11,8% (2/17)	13,0% (3/23)	NS	12,5% (5/40)
	<i>Ureaplasma spp.</i>	4,5% (4/89)	5,3% (4/76)	NS	4,8% (8/165)
Lévofloxacine	<i>M. hominis</i>	3,8% (1/26)	- (0/14)	-	2,5% (1/40)
	<i>U. parvum</i>	2,8% (2/72)	1,9% (1/53)	NS	2,4% (3/125)
	<i>U. urealyticum</i>	- (0/17)	4,3% (1/23)	-	2,5% (1/40)
	<i>Ureaplasma spp.</i>	3,4% (3/89)	2,6% (2/76)	NS	3,0% (5/165)

Aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée entre les hommes et les femmes.

- Récapitulatif des CMI<sub>50</sub>, et des CMI<sub>90</sub> et des taux de résistance pour *M. hominis*, *U. parvum* et *U. urealyticum* en 2021

**Tableau. CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> pour les souches de *M. hominis* et *Ureaplasma spp.***

Famille	Antibiotique	<i>M. hominis</i>			<i>Ureaplasma spp.</i>			<i>U. parvum</i>			<i>U. urealyticum</i>		
		CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	% de résistance	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	% de résistance	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	% de résistance	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	% de résistance
		[IC 95%]			[IC 95%]			[IC 95%]			[IC 95%]		
Tétracycline	Tétracycline	0.125	16	15,0% [7,06-29,07]	0,25	1	4,8% [2,48-9,27]	0,25	0,5	2,4% [0,8-6,8]	1	1	12,5% [5,46-26,11]
	Doxycycline	0.031	1	NA	0.125	0.25	NA	0.125	0.25	NA	0.25	0.5	NA
Fluoroquinolones	Lévofloxacine	0.25	0.5	2,5% [0,4-12,88]	0.5	1	3,0% [1,3-6,9]	0.5	1	3,2% [1,25-7,94]	1	1	2,5% [0,44-12,88]
	Moxifloxacine	0.125	0.25	2,5% [0,4-12,88]	0.25	0.5	1,8% [0,62-5,2]	0.25	0.5	1,6% [0,4-5,65]	0.25	0.5	2,5% [0,44-12,88]
Macrolides	Erythromycine	-	-	-	4	8	0%	4	8	0%	4	8	0%
	Azithromycine	-	-	-	2	4	NA	2	2	NA	2	4	NA
	Clindamycine	0.125	0.25	0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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

- Mécanismes de résistance

Concernant **la résistance aux tétracyclines**, la recherche par PCR du gène *tet(M)* sur l'ensemble des souches a montré que 6 souches de *M. hominis*, 3 souches de *U. parvum* et 2 souches de *U. urealyticum* le possédaient (voir Tableau ci-dessous).

Sur les 14 souches ayant une résistance phénotypique pour la tétracycline toutes **possédaient le gène *tet(M)***, à l'exception de 5 souches de *U. urealyticum* (MM21-042, MM21-048, MM21-189, MM21-211 ; CMI tétracycline comprise entre 2 et 4 µg/ml, 12,5% (5/40)). Ces 5 souches devront bénéficier d'investigations complémentaires, notamment la recherche d'éventuelles mutations associées à la résistance dans le ou les gènes de l'ARNr 16S.

A l'inverse, nous avons observé que **deux souches de *U. urealyticum* (5%, 2/40) possédant le gène *tet(M)* ne présentait pas de résistance phénotypique à la tétracycline**. Nous avons rapporté ce phénomène chez *M. hominis*, où le gène *tet(M)* n'était pas transcrit (Dégrange *et al.* Antimicrob Agents Chemother 2008, 52, 2, 742-4). Ce phénomène a aussi été récemment rapporté chez *Ureaplasma spp.* par Dumke *et al.* (Antimicrob Agents Chemother 2021, 65,5, e02342-20) et devra être investigué.

**Tableau. Bilan de l'ensemble des souches phénotypiquement résistantes à la tétracycline et/ou possédant le gène *tet(M)*.**

N° Souche	Espèce	Sexe	Type de prélèvement	CMI TET	PCR gène <i>tet(M)</i>
MM21-003	<i>M. hominis</i>	H	SPERME	>16	+
MM21-119	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	>16	+
MM21-139	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	>16	+
MM21-155	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	>16	+
MM21-204	<i>M. hominis</i>	H	SPERME	16	+
MM21-262	<i>M. hominis</i>	H	SPERME	16	+
MM21-049	<i>U. parvum</i>	H	SPERME	>16	+
MM21-087	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	8	+
MM21-207	<i>U. parvum</i>	F	ENDOCOL	16	+
MM21-071	<i>U. urealyticum</i>	H	SPERME	1	+
MM21-164	<i>U. urealyticum</i>	H	SPERME	1	+
MM21-042	<i>U. urealyticum</i>	H	SPERME	4	-
MM21-048	<i>U. urealyticum</i>	H	SPERME	2	-
MM21-189	<i>U. urealyticum</i>	F	ENDOCOL	4	-
MM21-211	<i>U. urealyticum</i>	H	SPERME	2	-
MM21-275	<i>U. urealyticum</i>	F	VAGIN	2	-

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 QRDR des gènes *parC/gyrA/gyrB/parE* pour l'ensemble des souches possédant une CMI de la lévofloxacine supérieure ou égale à 0,5 et 2 µg/ml respectivement pour *M. hominis* et *Ureaplasma spp.* Cela a concerné 8 souches de *M. hominis*, 6 souches de *U. parvum* et 2 souches de *U. urealyticum*. Les mutations retrouvées sont répertoriées dans le Tableau ci-dessous.

Parmi les 6 souches ayant une résistance phénotypique pour la lévofloxacine, **5 d'entre elles possédaient une mutation connue pour entraîner une résistance** dans le gène *parC* : S83(80)L pour 3 souches d'*U. parvum* et 1 souche d'*U. urealyticum* et E87(84)K pour 1 souche d'*U. parvum*. Une souche de *M. hominis* résistante à la lévofloxacine (MM21-219) possédait une mutation K144(134)R non associée à la résistance dans deux autres souches de *M. hominis* (MM21-138 et MM21-257). Cette souche devra bénéficier d'investigations complémentaires. Chez *M. hominis*, les mutations K144(134)R, A154(144)V, D80(69)E et S91(80)C dans *ParC* ne semblent pas entraîner de résistance, même associées entre elles.

**Deux souches de *U. parvum* possédaient une mutation connue pour entraîner une résistance à la lévofloxacine mais avaient une expression phénotypique sensible** (*U. parvum* MM21-237 et MM21-247 avec CMI lévofloxacine=2 µg/ml). Il faut noter que les CMI de ces deux souches correspondaient à la concentration critique de la lévofloxacine. Il apparaît donc important de vérifier la présence de mutation dans le gène *parC* lorsque la CMI de la lévofloxacine correspond à la concentration critique.

Compte tenu de cette analyse, les deux souches de *U. parvum* MM21-237 et MM21-247 seront considérées résistantes pour la détermination de la prévalence à la lévofloxacine en France en 2021. **La prévalence de la résistance à la lévofloxacine de *Ureaplasma spp.* s'élève donc à 4,2% (7/165) et celle de *U. parvum* à 4,8% (6/125).**



**Tableau. Étude des mutations des QRDR de GyrA, GyrB, ParC et ParE pour les souches ayant des CMI lévofloxacine  $\geq$  0,5, 2 et 2  $\mu\text{g/ml}$  pour respectivement *M. hominis*, *U. parvum* et *U. urealyticum***

N° Souche	Espèce	Sexe	Prélèvement	CMI LVX	CMI MXF	GyrA	GyrB	ParC	ParE
MM21-055	<i>M. hominis</i>	H	SPERME	0,5	0,125	WT	WT	WT	WT
MM21-138	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,5	0,125	WT	WT	Asp80(69)Glu & Lys144(134)Arg & Ala154(144)Val	WT
MM21-139	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,5	0,25	WT	WT	WT	WT
MM21-141	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,5	0,125	WT	WT	WT	WT
MM21-219	<i>M. hominis</i>	F	ENDOCOL	2	0,5	WT	WT	Lys144(134)Arg	WT
MM21-230	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	1	0,25	WT	WT	WT	NA
MM21-257	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	0,5	0,125	WT	WT	Lys144(134)Arg	WT
MM21-258	<i>M. hominis</i>	F	VAGIN	1	0,125	WT	WT	Ser91(80)Cys	NA
MM21-109	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	>8	8	WT	Asp443(427)Asn	Ser83(80)Leu	WT
MM21-200	<i>U. parvum</i>	H	SPERME	4	1	NA	WT	Glu87(84)Lys	WT
MM21-229	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	8	8	WT	WT	Ser83(80)Leu	WT
MM21-237	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	2	1	WT	WT	Ser83(80)Leu	WT
MM21-247	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	2	0,5	WT	WT	Ser83(80)Leu	WT
MM21-271	<i>U. parvum</i>	F	VAGIN	4	2	WT	WT	Ser83(80)Leu	WT
MM21-042	<i>U. urealyticum</i>	H	SPERME	8	4	WT	WT	Ser83(80)Leu	WT
MM21-048	<i>U. urealyticum</i>	H	SPERME	2	1	WT	WT	WT	NA

Les discordances entre la présence de mutation connue pour être associées à une résistance aux fluoroquinolones et la sensibilité phénotypique aux fluoroquinolones sont grisées et les CMI des souches résistantes apparaissent en gras. NA : Non amplifié.

## Conclusion

**En 2021, la prévalence de la résistance aux tétracyclines et fluoroquinolones reste modérée en France chez *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* avec des taux de résistance de 2 à 15% à la tétracycline et de 2 à 5% aux fluoroquinolones selon l'espèce, sans différence significative avec les taux de résistance observés en 2020. Comme en 2020, aucune résistance acquise à l'érythromycine et à la clindamycine n'a été observée.**

**La présence du gène *tet(M)* n'est pas toujours associée à une résistance phénotypique à la tétracycline, notamment dans l'espèce *U. urealyticum*.** Lorsque ce gène s'exprime, il confère généralement des CMI  $\geq$  8  $\mu\text{g/ml}$ . Une vigilance s'impose pour les souches de *Ureaplasma* ayant des CMI de la tétracycline à 1  $\mu\text{g/ml}$  proche de la concentration critique. De plus, chez *U. urealyticum*, la présence d'une résistance phénotypique en l'absence du gène *tet(M)* est à noter pour toutes les souches résistantes en 2021 (5/40, 12,5%). Ces souches devront faire l'objet d'investigations complémentaires. **En ce qui concerne la lévofloxacine, les souches d'*Ureaplasma* spp. avec une CMI correspondant à la concentration critique (2  $\mu\text{g/ml}$ ) doivent bénéficier d'une recherche de mutation associée à la résistance dans la QRDR du gène *parC*.**

### 3.3.2 Surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine et en Outre-mer

Les études concernant la surveillance des années 2018, 2019 et 2020 présentées dans les rapports précédents ont été publiées en 2022 dans la revue internationale **Sex Transm Infect**.

#### 3.3.2.1 Surveillance de la résistance de de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine (MGMET 2021)

L'objectif était de déterminer la prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine en 2021.

##### Matériel et méthodes

Dans les centres participants, pendant un mois, du 15 septembre au 15 octobre 2021, tous les échantillons positifs à *M. genitalium* (urine, vagin, col, écouvillons rectaux et de gorge) ont été envoyés au CNR au moyen d'enveloppes T préadressées. 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 à l'aide de deux PCR multiplex commercialisées, ResistancePlus® MG SpeeDx et Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit, toutes deux capables de détecter les cinq mutations de l'ARNr 23S suivantes : A2058G, A2059G, A2058T, A2058C et A2059C. Les échantillons porteurs d'une souche résistante ont ensuite été caractérisés par 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*. Les échantillons non amplifiés ou présentant une séquence non interprétable ont été testés avec une PCR multiplex commercialisée RUO (MGMO qPCR NYTOR) capable de détecter quatre mutations (Ser83(80)Ile, Ser83(80)Arg, Asp87(84)Asn et Asp87(84)Tyr) mais ne permettant pas de faire la distinction entre ces quatre mutations.

Un total de 622 échantillons positifs à *M. genitalium* a été reçu de **38 centres en France métropolitaine** (Figure et Tableau suivants). Vingt et un échantillons ont été exclus car ils ne rentraient pas dans la période d'inclusion et deux ont été exclus car les tubes étaient vides.

Chaque centre participant nous a fourni le nombre total de PCR de détections réalisées pendant la période d'inclusion. Un laboratoire n'a pas envoyé la totalité de ses échantillons positifs La prévalence globale de l'infection à *M. genitalium* dans l'ensemble des centres participants était de 2,68% (661/24664) durant la période d'enquête.



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

#### Population étudiée

Au total, **599 échantillons provenant de 580 patients** ont été collectés entre le 15 septembre et le 15 octobre 2021. La répartition par genre était la suivante : 346 femmes (59,6%), 229 hommes (39,5%) et 5 patients dont le genre n'était pas renseigné (0,9%).

Parmi les échantillons féminins, 87,9% (304/346) étaient des écouillons cervico-vaginaux, 10,1% (35/346) des premiers jets d'urine, 1,4% (5/346) des échantillons d'endomètre, 0,3% (1/346) respectivement des prélèvements anorectaux et sur stérilet. Les échantillons masculins comprenaient 63,8% (146/229) d'urines de premier jet, 23,1% (53/229) d'échantillons anorectaux, 8,3% (19/229) d'écouvillonnages urétraux, 3,5% (8/229) de prélèvement de sperme, 0,9% (2/229) d'écouvillonnage de gorge et 0,4% (1/229) de prélèvement oculaire. Concernant les 5 patients pour lesquels le sexe était inconnu, 60,0% (3/5) d'entre eux avaient eu un prélèvement urinaire, 20,0% (1/5) un prélèvement rectal et 20% (1/5) pour lequel cette information n'était pas disponible.

L'âge moyen des patients était de 30,0 ans et l'âge médian était de 27,8 ans (avec une amplitude de 2 mois à 68 ans). Les hommes étaient statistiquement plus âgés que les femmes, respectivement 33,2 ans vs 27,7 ans ( $p < 0,001$  ; test de Student). Nous n'avons pas d'information concernant l'âge pour sept patients, sept patientes et quatre 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 (28,4%) suivi de la classe 26-30 ans (26,4%). 34,5 % des femmes avaient entre 21 et 25 ans et 31,7 % des hommes étaient âgés de 26 à 30 ans (Figure suivante).

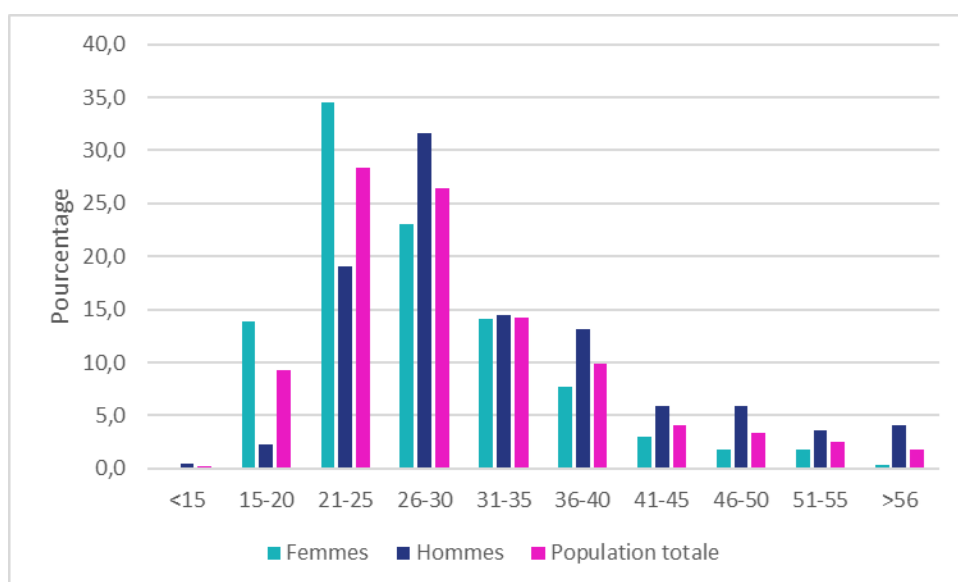


Figure. Répartition par sexe et par classe d'âge.

Les prescriptions émanaient à 33,6% (195/580) de cabinets de médecine générale, 16,4 % (95/580) de CeGIDD, 15,5% (90/580) de cabinets de gynécologie, 6,4% (37/580) de services de maladies infectieuses et tropicales, 3,4% (20/580) d'obstétrique, 2,9% (17/580) d'orthogénie et 2,4% (14/580) de services d'urgences. Enfin, 3,4% des prélèvements étaient issus d'autres types de services (20/580) (biologie de la reproduction, dermatologie, urologie, service pénitentiaire). L'information était inconnue pour 15,9% (92/580).

Parmi la population étudiée, la **présence de symptômes génitaux a été le motif de consultation pour 19,3% des patients** (112/580). Les dépistages systématiques représentaient aussi 14,0% des patients (81/580), les interruptions volontaires de grossesse 3,8% (22/580) les prises de risques sexuels antérieures 2,1% (12/580), les patients présentant des symptômes autres que génitaux 2,1 % (12/580), un suivi de VIH 1,2% (7/580), un contrôle après traitement 0,5 % (3/580), et autres motifs 1,4% (8/580). Pour 55,7% des patients, la raison du dépistage était non renseignée (323/580).

Parmi les patients ayant accepté de renseigner leur pratique sexuelle, **54,7% (70/128) déclaraient avoir des pratiques hétérosexuelles**. Sur les 68 hommes ayant déclaré leurs pratiques, 82,4% (56/68) 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 9,6% étaient positifs (48/500). La prévalence de la co-infection *M. genitalium* / *C. trachomatis* était de 8,3% chez les femmes (33/297) vs 7,5% chez les hommes (15/199) ( $p > 0,05$  ; test du Chi2).

En ce qui concerne *N. gonorrhoeae*, 5,2% des patients testés (26/496) étaient positifs. La prévalence de la co-infection *M. genitalium* / *N. gonorrhoeae* était de 3,7% (11/295) chez les femmes et de 7,6% (15/198) et chez les hommes (NS).

Parmi les patients pour lesquels le statut VIH était connu, une séronégativité était notée pour 88,7% (173/195) des patients, tandis que **11,3% (22/195) d'entre eux étaient séropositifs pour le VIH**. Le statut sérologique pour le VIH était inconnu pour 44,4% (385/302) des patients. Une différence statistiquement significative était à noter entre les hommes et les femmes ; en effet, 18,3% des hommes (21/115) pour lesquels nous avons le statut VIH étaient positifs vs 1,3% des femmes (1/76) ( $p < 0,001$  ; test de Chi2).

#### Prévalence de la résistance aux macrolides

Les échantillons positifs à *M. genitalium* ont été soumis à une PCR en temps réel commercialisée pour rechercher 4 mutations associées à la résistance aux macrolides.

Chez les femmes, la sensibilité de la détection de la résistance aux macrolides était de 100,0% (1/1) pour le prélèvement rectal et celui sur stérilet, 80% (4/5) pour les endomètres, 79,9 % (243/304) dans les prélèvements cervico-vaginaux, 54,3% (19/35) dans les urines. Chez les hommes, la sensibilité de la détection de la résistance aux macrolides était de 100% (1/1) pour le prélèvement oculaire, 81,5% (119/146) dans les urines, 78,9% (15/19) pour les

prélèvements urétraux, 75,0% (6/8) pour le sperme, 66,0% (35/53) pour les anus et 50,0% (1/2) dans les gorges. Aucune amplification du gène de l'ARNr 23S n'a pu être obtenue chez 22,6 % (131/580) des patients (Figure suivante).

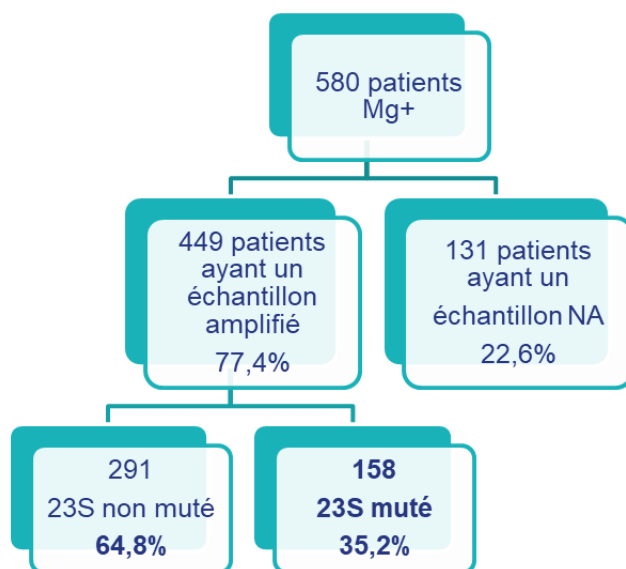


Figure. Diagramme de flux de la résistance aux macrolides des patients positifs à *M. genitalium*. NA : non amplifié.

Parmi les 449 patients pour lesquels une amplification a été obtenue, 64,8% (291/449) étaient sensibles aux macrolides tandis que **35,2% (158/449) d'entre eux étaient résistants aux macrolides** (Figure précédente).

Parmi les 158 patients présentant une mutation associée à la résistance, les mutations A2058G et A2059G (numérotation *Escherichia coli*) étaient les plus fréquentes dans 65,2 % (103/158) des cas (73 A2059G, 28 A2058G et 2 A2058G/A2059G), suivi des substitutions A2058T dans 20,9 % (33/158) des cas, A2062T dans 0,6% (1/158) des cas. Cette dernière mutation a été trouvée par le kit Elitech qui utilise la technologie FRET et a ici détecté une mutation non annoncée dans la notice. Dans 13,3% (21/158) des cas, la position exacte de la mutation n'a pas pu être déterminée. A noter, trois souches portant la mutations A2059G présentaient un A supplémentaire en position 2015 de l'ARNr 23S.

**La prévalence de la résistance aux macrolides était de 54,8% chez les hommes (97/177) versus 22,0% chez les femmes (59/268) (p<0,001 ; test du Chi2).** En ce qui concerne les hommes, la prévalence de la résistance était de 60,0% (21/35) sur les prélèvements anaux versus 53,5% (76/142) 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, d'endocol, d'anus et de stérilet. Concernant l'amplification des prélèvements urinaires, une différence statistiquement significative était retrouvée entre les hommes et les femmes avec, respectivement 18,5% (27/146) d'échantillons d'urines non amplifiés chez les hommes vs 45,7% (16/35) chez les femmes (p<0,001).

Il n'y avait pas de différence significative de la résistance aux macrolides chez les patients d'Ile de France (87/234=37,2%) versus les patients de métropole hors Ile de France (71/215=33,0%), (p=0,35 ; test du Chi2). Nous ne retrouvons pas de différence d'âge entre les patients résistants et les patients sensibles, et ce, quel que soit le sexe : 32,7 ans pour les hommes porteurs d'une résistance vs 32,8 ans pour les sensibles (p>0,005 ; test de Fisher) et 26,1 ans pour les femmes porteuses d'une résistance vs 27,3 ans pour les sensibles (p>0,005 ; test de Fisher).

Les pratiques sexuelles des patients n'étaient connues que pour 128 d'entre eux. **Parmi les hommes, 63,2% (24/38) des HSH avaient une souche résistante aux macrolides vs 20,0% (2/10) chez les hommes hétérosexuels** (p<0,05. Test exact de Fisher). Chez les hommes, la résistance aux macrolides chez les patients négatifs au VIH était de 58,6 % (41/10) versus 57,2 % (8/14) chez les patients positifs au VIH (p>0,05 ; test du Chi2).

**Une différence statistiquement significative apparaissait entre le taux de résistance aux macrolides dans les CeGIDD 46,7% (35/75) et le secteur privé 32,5% (68/209) (p<0,05 ; test du Chi2) ;** le taux de résistance était de 37,7% (40/106) dans les centres hospitaliers, aucune différence significative n'était montrée ni avec les CeGIDD ni avec le privé.

Tableau. Prévalence de la résistance 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	Nb (%) de patients avec résistance aux fluoroquinolones*	Nb (%) de patients avec sensibilité aux fluoroquinolones*	Nb (%) de patients avec gène <i>parC</i> non amplifié	Nb (%) patients avec une double résistance**
BIOGROUP LCD LEVALLOIS	Privé	60	58	19 (35)	36 (65)	3 (5)	5 (9)	49 (91)	4 (7)	4 (7)
BIOGROUP LCD ST DENIS	Privé	148	141	39 (34)	76 (66)	26 (18)	22 (19)	94 (81)	25 (18)	16 (15)
BIOGROUP LCD METZ	Privé	37	36	4 (17)	20 (83)	12 (33)	3 (13)	20 (87)	13 (36)	1 (4)
BIOGROUP LCD STRASBOURG	Privé	34	33	4 (18)	18 (82)	11 (33)	1 (5)	21 (95)	11 (33)	0
BIORYLIS	Privé	13	13	3 (30)	7 (70)	3 (23)	3 (33)	6 (67)	4 (31)	1 (12)
BIOSITES MONTREUIL	Privé	7	7	1 (20)	4 (80)	2 (29)	0	6 (100)	1 (14)	0
CERBA	Privé	13	13	5 (50)	5 (50)	3 (23)	1 (10)	9 (90)	3 (23)	1 (10)
ESPACE BIO METZ	Privé	11	11	1 (10)	9 (90)	1 (9)	1 (10)	9 (90)	1 (9)	1 (10)
EUROFINS BORDEAUX	Privé	10	10	3 (43)	4 (57)	3 (30)	3 (38)	5 (62)	2 (20)	2 (29)
LXBIO RODEZ	Privé	16	15	5 (36)	9 (64)	1 (7)	0	14 (100)	1 (7)	0
LABO DEPARTENTAL 13	DEP	6	6	3 (100)	0	3 (50)	0	4 (100)	2 (33)	0
LABO DEPARTEMENTAL 93	DEP	8	8	2 (33)	4 (67)	2 (25)	3 (50)	3 (50)	2 (25)	1 (17)9
APHM MARSEILLE	CHU	12	12	3 (25)	9 (75)	0	1 (9)	10 (91)	1 (8)	1 (9)
APHP A. BECLERE	CHU	5	5	1 (25)	3 (75)	1 (20)	0	4 (100)	1 (25)	0
APHP A. PARE	CHU	1	1	1 (100)	0	0	1 (100)	0	0	1 (100)
APHP BICHAT	CHU	3	3	2 (67)	1 (33)	0	0	3 (100)	0	0
APHP L. MOURIER	CHU	11	11	2 (20)	8 (80)	1 (9)	1 (10)	9 (90)	1 (9)	1 (10)
APHP SAINT-ANTOINE	CHU	13	13	6 (55)	5 (45)	2 (15)	3 (33)	6 (67)	4 (31)	3 (33)
APHP SAINT-LOUIS	CHU	13	12	8 (89)	1 (11)	3 (25)	2 (25)	6 (75)	4 (33)	2 (25)
CHU BESANCON	CHU	10	10	5 (100)	0	5 (50)	1 (33)	2 (67)	7 (70)	1 (33)
CHU BORDEAUX	CHU	12	12	2 (18)	9 (81)	1 (8)	3 (25)	9 (75)	0	1 (9)
CHU CAEN	CHU	8	8	3 (75)	1 (25)	4 (50)	1 (33)	2 (67)	5 (62)	1 (33)
CHU DIJON	CHU	1	1	0	1 (100)	0	0	1 (100)	0	0

CHU LILLE	CHU	1	1	1 (100)	0	0	0	1 (100)	0	0
CHU LYON	CHU	40	38	10 (38)	16 (62)	12 (32)	8 (32)	17 (68)	13 (34)	4 (19)
CHU MONTPELLIER	CHU	7	6	4 (80)	1 (20)	1 (17)	1 (20)	4 (80)	1 (17)	1 (20)
CHU NANCY	CHU	4	4	1 (100)	0	3 (75)	1 (25)	3 (75)	0	1 (100)
CHU POITIERS	CHU	19	18	3 (20)	12 (80)	3 (17)	4 (26)	11 (73)	3 (17)	3 (20)
CHU RENNES	CHU	13	13	3 (27)	8 (73)	2 (15)	4 (36)	7 (64)	2 (15)	2 (18)
CHU TOULOUSE	CHU	9	7	1 (25)	3 (75)	3 (43)	1 (25)	3 (75)	3 (43)	0
CHU TOURS	CHU	16	16	3 (21)	11 (79)	2 (12)	1 (8)	12 (92)	3 (19)	1 (8)
CH AIX	CH	2	2	0	1 (100)	1 (50)	0	1 (100)	1 (50)	0
CH ALBI	CH	1	1	0	0	1 (100)	0	0	1 (100)	0
CH ANGOULEME	CH	1	1	0	1 (100)	0	1 (100)	0	0	0
CH CHAMBERY	CH	1	1	0	0	1 (100)	0	0	1 (100)	0
CH TOULON	CH	7	7	4 (100)	0	3 (43)	0	4 (100)	3 (43)	0
CH TOURCOING	CH	1	1	0	0	1 (100)	0	0	1 (100)	0
CH VERSAILLES	CH	25	25	6 (43)	8 (57)	11 (44)	3 (20)	12 (80)	10 (40)	1 (7)
<b>Total : 38</b>		<b>599</b>	<b>580</b>	<b>158 (35,2)</b>	<b>291 (64,8)</b>	<b>131 (21,9)</b>	<b>79 (17,7)</b>	<b>367 (82,3)</b>	<b>134 (23,1)</b>	<b>51 (12,0)</b>

\*Le % de résistance et de sensibilité aux macrolides ou aux fluoroquinolones est calculé à partir des patients pour lesquels une amplification de l'ARNr 23S ou du gène *parC* a pu être obtenue. \*\*Le % de double résistance est calculé à partir des patients pour lesquels une amplification de l'ARNr 23S et du gène *parC* a pu être obtenue.

En conclusion, la prévalence de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* a atteint 35,2%, valeur pouvant paraître en baisse par rapport à 2020 où nous rapportions une prévalence à 42,1 %. Cependant si nous comparons les résultats en laboratoires constants, c'est-à-dire les 12 laboratoires qui ont participé les quatre années, nous obtenons un taux de résistance aux macrolides de 34,6% (56/162) en 2018, 35,2% (79/224) en 2019, 35,6% (53/149) en 2020 et 36,2% (47/130) en 2021 (Figure suivante). Cette hausse n'est pas significative ( $p>0,05$ ) quelles que soient les années comparées.

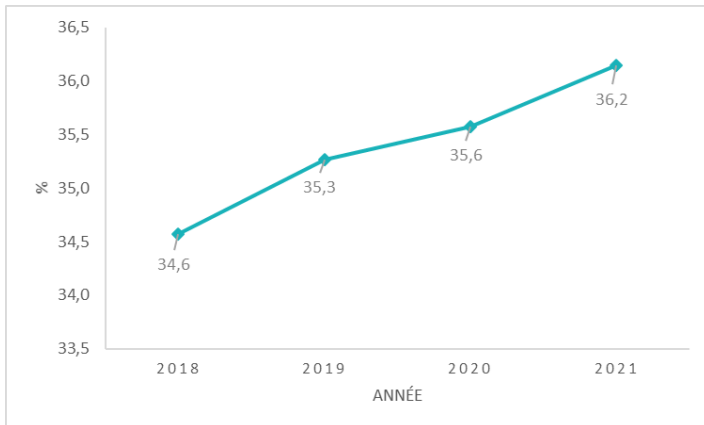


Figure. Evolution du taux de résistance aux macrolides dans les 12 laboratoires constants.

#### Prévalence de la résistance aux fluoroquinolones

Les échantillons positifs à *M. genitalium* ont été soumis à une PCR en point final ciblant le gène *parC* suivi d'un séquençage pour rechercher les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones. Aucune amplification ou séquençage du gène *parC* n'a pu être obtenue pour 23,1% (134/580) des échantillons.

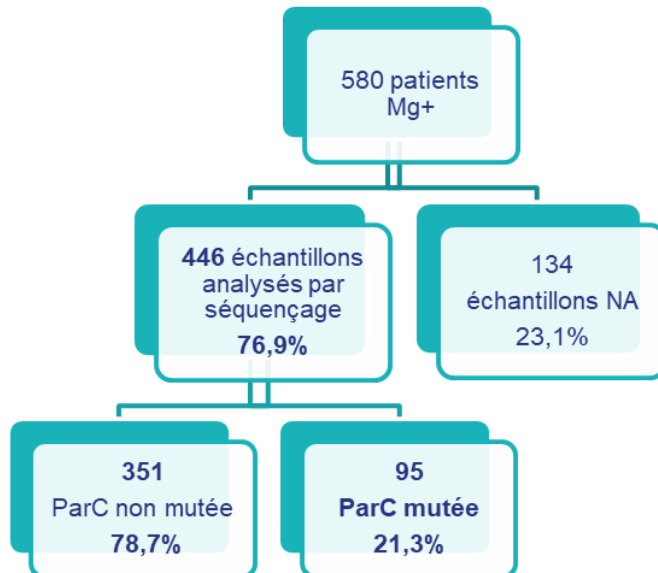


Figure. Diagramme de flux de la résistance aux fluoroquinolones des échantillons positifs à *M. genitalium*.

NA : non amplifié

Parmi les 580 échantillons analysés par séquençage du gène *parC*, 78,7% (351/446) étaient sauvages tandis que 21,3% (95/446) présentaient une mutation dans la QRDR. Néanmoins, selon les données de la littérature, toutes les mutations observées dans la QRDR *parC* ne sont pas associées à la résistance aux fluoroquinolones. Dix mutations différentes ont été retrouvées.



Tableau. Description des mutations de la protéine ParC.

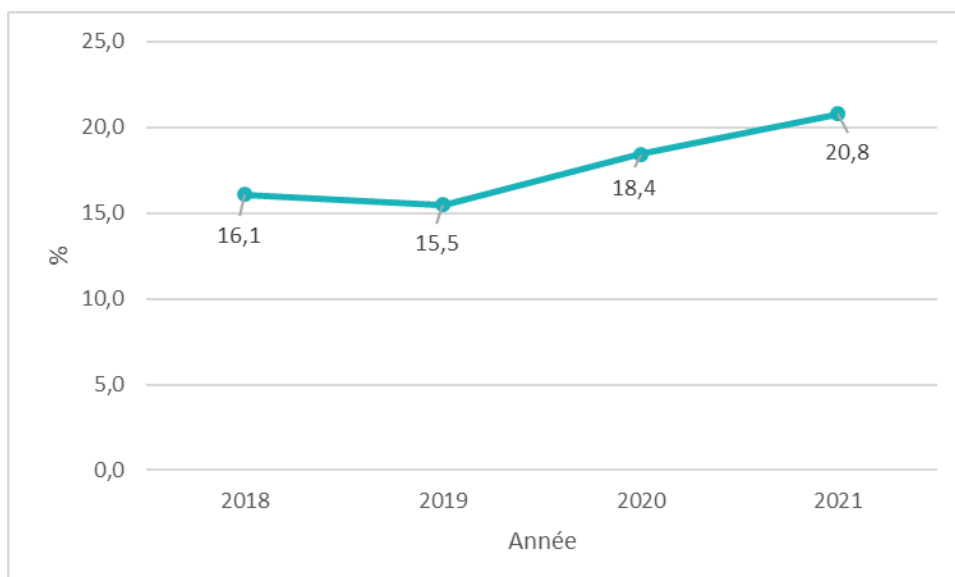
Mutation de la protéine parC	Nombre de patients porteurs de la mutation	Données de la littérature concernant la résistance aux fluoroquinolones
Ser83(80)Ile	45	Associée à la résistance aux fluoroquinolones
Asp87(84)Asn	16	Associée à la résistance aux fluoroquinolones
Asp87(84)Tyr	5	Associée à la résistance aux fluoroquinolones
Ser83(80)Arg	2	Associée à la résistance aux fluoroquinolones
Ser83(80)Ile & Asp87(84)Asn	1	
Indéterminées	10	Mutations retrouvées avec le kit Nytor
Ser83(80)Asn	3	Non associée à la résistance à la moxifloxacine chez <i>M. genitalium</i>
Ser84(81)Pro	2	
Ser104(101)Phe	2	
His106(103)Tyr	5	
His80(77)Arg	4	
<b>Total général</b>	<b>95</b>	

Pour 10 patients la position de la mutation n'a pas pu être caractérisée car détectée par le kit MGMO qPCR de Nytor.

Seules les mutations Ser83(80)Ile, Asp87(84)Tyr, Asp87(84)Asn et Ser83(80)Arg sont associées à une augmentation de la CMI aux fluoroquinolones et confèrent une résistance. **De fait, la prévalence de la résistance aux fluoroquinolones en France métropolitaine était de 17,7% (79/446).**

**La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 24,1% chez les hommes (41/170) versus 12,8 % chez les femmes (35/272) (p<0,05 ; test du Chi2).** Trois patients de sexe inconnu étaient résistants.

Si nous comparons les résultats en laboratoires constants, c'est-à-dire les 12 laboratoires qui ont participé les quatre années, nous obtenons un **taux de résistance aux fluoroquinolones de 16,1% (27/168) en 2018, 15,5% (69/252) en 2019, 18,4% (21/114) en 2020 et 20,8% (26/125) en 2021.** Cette hausse n'est pas significative (p>0.05) quelles que soient les années comparées.



**Figure. Evolution du taux de résistance aux fluoroquinolones dans les 12 laboratoires constants**

On ne constate pas une différence significative de la résistance aux fluoroquinolones chez les patients d'Ile de France (40/233=17,6 %) versus les patients de métropole hors Ile de France (39/213=18,3 %), ( $p>0,05$  ; test du Chi2).

Nous ne retrouvons pas de différence d'âge entre les patients résistants et les patients sensibles, et ce, quel que soit le sexe : 31,7 ans pour les hommes porteurs d'une résistance vs 32,6 ans pour les sensibles ( $p>0,005$ , test de Fisher) et 27,6 ans pour les femmes porteuses d'une résistance vs 26,9 ans pour les sensibles ( $p>0,005$  test de Fisher).

Chez les hommes, la résistance aux fluoroquinolones chez les patients négatifs pour le VIH était de 22,7 % (22/128) vs 26,6% (4/15) chez les patients positifs pour VIH. ( $p=0,7$  ; test de Fisher).

**Une différence statistiquement significative apparaissait entre le taux de résistance aux fluoroquinolones dans les CeGIDD 23,7% (17/72) et le secteur privé 11,4% (26/201) ( $p<0,05$  ; test du Chi2) ;** le taux de résistance était de 18,8% (18/96) dans les centres hospitaliers, aucune différence significative n'était montrée ni avec les CeGIDD ni avec le privé. De plus, 13,5 % (5/37) des patients de CeGIDD résistants aux fluoroquinolones ne le sont pas aux macrolides vs 8,2 (5/61) dans les centres hospitaliers et 3,7 (5/135) dans le secteur privé. Une différence statistiquement significative était montrée entre les CeGIDD et le privé mais pas avec les centres hospitaliers.

#### Prévalence de la double résistance

Sur l'ensemble de la population, 51 patients sur 425 présentent une double résistance, soit 12%, 19,6% chez les hommes (32/163) vs 6,6% chez les femmes (17/258), ( $p<0.001$ ).

Si nous comparons les résultats en laboratoires constants, c'est-à-dire les 12 laboratoires qui ont participé les quatre années, nous obtenons un **taux de double résistance macrolides / fluoroquinolones de 9,7% (14/145) en 2018, 10,6% (20/189) en 2019, 13,1 (16/122) en 2020 et 14,3% (17/119) en 2021.** Cette hausse n'est pas significative ( $p>0.05$ ) quelles que soient les années comparées.

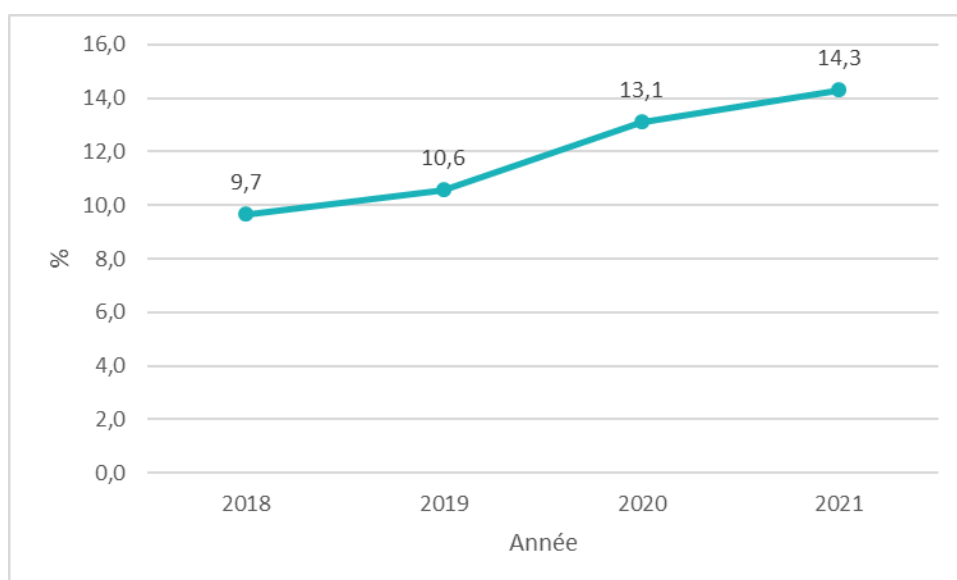


Figure. Evolution du taux de double résistance macrolides et fluoroquinolones dans les 12 laboratoires constants

#### Prévalence des résistances en fonction des traitements antérieurs par les macrolides

La prévalence de la résistance a été étudiée en fonction d'éventuels traitements antérieurs par macrolides. L'information a pu être recueillie chez seulement 14,8 % (86/580) des patients (Tableau suivant).

Tableau. Prévalence de la résistance en fonction de traitements antérieurs par les macrolides.

Traitements antérieurs par macrolides	%	Résistance aux macrolides			Résistance aux fluoroquinolones		
		Résistant*	Sensible*	NA	Résistant*	Sensible*	NA
Inconnu	85,2% (494/580)	33,3% (130/390)	66,7% (260/390)	21,1% (104/494)	15,6% (60/385)	84,4% (325/385)	22,1% (109/494)
Non	11,2% (65/580)	40,0% (18/45)	60,% (27/45)	30,8% (20/65)	24,5% (12/49)	75,% (37/49)	24,6% (16/65)
Oui	3,6% (21/580)	71,4% (10/14)	28,6% (4/14)	33,3% (7/21)	50,0% (6/12)	50,0% (6/12)	42,9% (9/21)

\*Les % de patients infectés par une souche résistante ou sensible ont été calculés à partir des patients pour lesquels une amplification a pu être obtenue. NA, absence d'amplification.

Parmi les patients préalablement traités par des macrolides, 71,4% (10/14) étaient infectés par une souche leur étant résistante tandis que parmi les patients n'ayant pas reçu de traitement préalable par des macrolides, 40,0% (18/45) des patients étaient infectés par une souche résistante ( $p < 0,05$  ; test de khi2). La différence de prévalence de résistance aux fluoroquinolones entre les patients préalablement traités ou non traités par les macrolides (50,0% versus 24,5%) n'était, quant à elle, pas significative ( $p > 0,05$ , test exact de Fisher).

#### Conclusion

Nous constatons une **augmentation de la participation à notre enquête annuelle**. En 2018, 20 laboratoires ont collaboré en nous envoyant 335 prélèvements ; en 2021, ce sont 38 laboratoires qui ont coopéré en nous adressant 622 échantillons.

Nous observons une **stabilité de la prévalence des résistances aux macrolides et aux fluoroquinolones sur les quatre années de surveillance dans les 12 laboratoires constants**, à 36,2% pour les macrolides et 20,8% pour les fluoroquinolones.

Comme les années précédentes, **la prévalence de la résistance aux macrolides était plus fréquente chez les hommes (54,8%) que chez les femmes (22,0%)**. Aucune différence significative entre les sexes n'a été retrouvée pour les fluoroquinolones. Nous n'avons pas observé de différence d'âge entre les patients résistants et les non-résistants quel que soit sexe.

Les mutations les plus fréquentes étaient **A2059G puis A2058G** (numérotation *E. coli*) pour les macrolides et **Ser83(80)Ile** pour les fluoroquinolones.

**Les patients issus de consultation en CeGIDD présentaient plus souvent des résistances tant aux macrolides qu'aux fluoroquinolones que ceux provenant du secteur privé**. Il n'y avait pas de différence avec les patients consultant dans un service hospitalier. Nous avons aussi observé une différence concernant les patients sensibles au traitement de première intention (macrolides) mais résistants au traitement de deuxième intention (fluoroquinolones). Ces patients étaient plus nombreux dans les CeGIDD que dans le privé, mais sans différence avec les centres hospitaliers. Cet écart pourrait être expliqué par des caractéristiques différentes des patientèles.

Cette étude a été présentée en poster avec flash communication au **congrès de l'ECCMID 2023** à Copenhague et sera présentée au **congrès de l'International Organisation for Mycoplasma en juillet 2023** à Osaka.

### **3.3.2.2 Surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine (MGMET 2022)**

L'organisation de l'enquête 2022 a été modifiée par rapport aux années précédentes afin d'améliorer le recueil des renseignements cliniques et comportementaux. Les résultats sont dorénavant transmis aux cliniciens qui peuvent à la réception des résultats remplir une fiche de recueil des données cliniques et comportementales.

Le recueil des données est en cours. L'analyse finale figurera dans le rapport 2023.

Au total, **479 échantillons provenant de 470 patients ont été collectés entre le 15 septembre et le 15 octobre 2022**. La répartition par genre était la suivante : 279 femmes (59,4%), 188 hommes (40,0%), 1 personne transgenre femme vers homme (0,2%) et 2 patients dont le genre n'était pas renseigné (0,4%).

**La prévalence de la résistance aux macrolides était de 38,5% (161/418)** avec une différence statistiquement significative entre les hommes (51,2%, 86/168) et les femmes (29,3%, 74/248),  $p < 0,001$ .

**La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 17,0% (67/393)** avec une différence statistiquement significative entre les hommes (25,6%, 40/156) et les femmes (11,5%, 27/235),  $p < 0,001$ .

### **3.3.2.3 Surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en Outre-mer (étude MGDROM 2021)**

L'objectif était de déterminer de la prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* en Outre-mer.

#### Matériels et méthodes

Dans les centres participants, pendant quatre mois, du 1er septembre au 31 décembre 2021, tous les échantillons positifs à *M. genitalium* (urine, vagin, col, écouillons rectaux et de gorge) ont été envoyés au CNR.

Les données concernant les échantillons ont été colligées de façon anonyme sur un fichier Excel comportant le sexe, la date de naissance, le site de prélèvement, le service demandeur, la notion de dépistage et de symptômes, le statut VIH, les pratiques sexuelles et la détection d'IST associées (*C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*).

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 à l'aide d'une PCR multiplex commercialisée : ResistancePlus® MG Speedx capable de détecter les 5 mutations de l'ARNr 23S suivantes : A2058G, A2059G, A2058T, A2058C et A2059C. Les échantillons hébergeant une souche résistante ou avec un résultat douteux ont été caractérisés par séquençage de l'ARNr 23S. Les mutations associées à la

résistance aux fluoroquinolones ont été recherchées par amplification et séquençage de la QRDR *parC*. Les échantillons non amplifiés ou présentant une séquence non interprétable ont été testés avec une PCR multiplex commercialisée RUO (MGMO qPCR NYTOR) capable de détecter 4 mutations (Ser83(80)Ile, Ser83(80)Arg, Asp87(84)Asn et Asp87(84)Tyr) mais ne permettant pas de faire la distinction entre ces quatre mutations.

Un total de 281 échantillons provenant de 268 patients a été reçu de 5 départements ou territoires d'Outre-mer avec une majorité des échantillons provenant de la Réunion (Figure et tableau suivants).

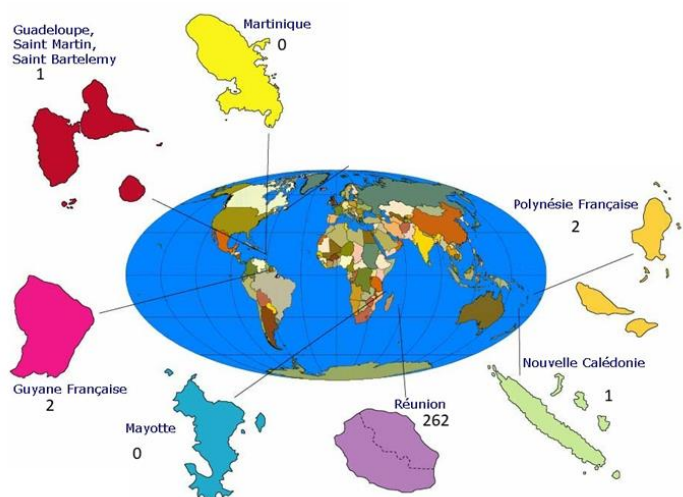


Figure. Répartition géographique et nombre de patients par centre.

Tableau. Répartition des patients selon le genre et le territoire.

Genre	Femmes	Hommes	Inconnu	Total	%
Territoires	n (%)	n (%)	n (%)		
La Réunion	161 (61,4)	94 (35,9)	7 (2,7)	262	97,8
Polynésie	1 (50,0)	1 (50,0)	-	2	0,7
Guyane française	2 (100,0)	-	-	2	0,7
Guadeloupe	-	1 (100,0)	-	1	0,4
Nouvelle-Calédonie	1 (100,0)	-	-	1	0,4
Total	165 (61,6)	96 (35,8)	7 (2,6)	268	100

Les **281 échantillons provenaient de 268 patients** (61,6% femmes, 35,8% d'hommes et 2,6% de patients dont le genre n'était pas renseigné). L'âge moyen des patients était de 29,1 ans et l'âge médian était de 26 ans (avec une amplitude de 14 à 60 ans). Nous ne connaissons pas l'âge des sept patients pour lesquels le genre était inconnu. Les hommes étaient statistiquement plus âgés que les femmes, respectivement 32,2 ans vs 27,3 ans ( $p < 0,001$ ; test de Student). La classe d'âge la plus représentée sur l'ensemble de la population et chez les femmes était la classe 20-24 (24,9% pour la population totale et 27,3% chez les femmes ; chez les hommes, la classe d'âge la plus représentée était les 25-29 ans (26,0%) (Figure suivante).

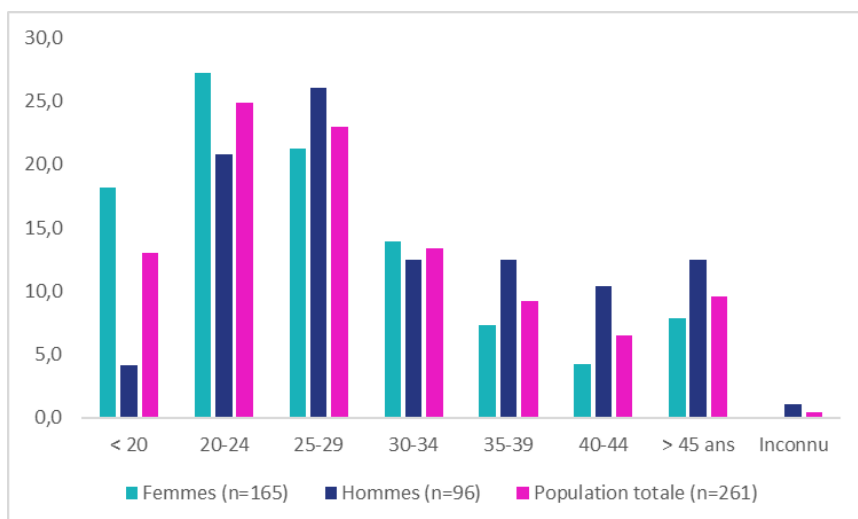


Figure. Répartition des patients selon le genre et la classe d'âge.

#### Services prescripteurs et motifs de consultation

Les prescriptions émanaient à 30,6% (82/268) de cabinets de médecine générale, 17,9 % (48/268) de services de gynécologie, 16,4% (44/268) de CeGIDD, 7,8% (21/268) d'établissements pénitentiaires, 6,3% (17/268) de services de maladies infectieuses et tropicales (SMIT), 1,5% (4/268) respectivement de centre de planification et d'obstétrique, 1,1% (3/268) des urgences et 0,7% (2/268) de services de biologie de la reproduction. L'information était inconnue pour 16,0% (43/268) (Figure suivante).

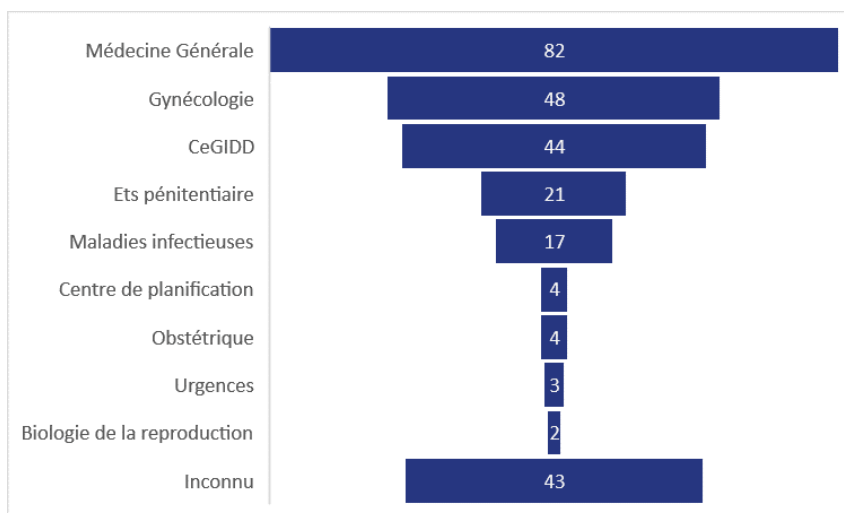


Figure. Répartition des services prescripteurs.

Parmi la population étudiée, **les dépistages systématiques ont été le motif de consultation pour 31,0% des patients (83/268)**. Un suivi VIH a motivé 4,5% (12/268) des consultations. Les plaintes de symptômes génitaux représentaient 4,1% des patients (11/268), consultations de médecine légale par suite d'un viol ou une agression 0,7% (2/268) les patients présentant des symptômes autres que génitaux ainsi que la présence d'une IST chez le partenaire respectivement 0,4 % (1/268). Pour 59,40% des patients, la raison du dépistage était non renseignée (158/268).

#### Co-infections

Le statut VIH était connu pour 170 patients, 91,8% (156/170) étaient négatifs. Toutes les femmes étaient négatives pour le VIH, les hommes, quant à eux, comptaient 17,9% (14/78) de positifs.

Parmi les patients positifs à *M. genitalium*, 259 ont été testés pour *C. trachomatis* et 18,5% (58/259) étaient positifs, nous ne constatons pas de différence entre les femmes et les hommes, respectivement 18,7% (30/160) vs 18,1% (17/94). Deux cent soixante patients ont été testés pour *N. gonorrhoeae* et 3,5 % (9/260) étaient positifs. Le taux de

co-infection à *N. gonorrhoeae* était de 2,5% (4/161) pour les femmes *versus* 5,3% (5/94) pour les hommes ( $p=0,3$  test exact de Fisher).

### Nature des prélèvements

Parmi les échantillons féminins, 78,2% (129/165) étaient des écouvillons cervico-vaginaux, 12,7% (21/165) des premiers jets d'urine, 6,1% des échantillons d'endomètre (10/165), 1,8% (3/165) des prélèvements anaux et 1,2% de gorge (2/165).

Les échantillons masculins comprenaient 70,8% (68/96) d'urines de premier jet, 19,8% (19/96) de prélèvements anaux, 7,3% (7/96) de prélèvements de gorge et 2% (2/96) respectivement de sperme et autre urogénital.

### Pratiques sexuelles

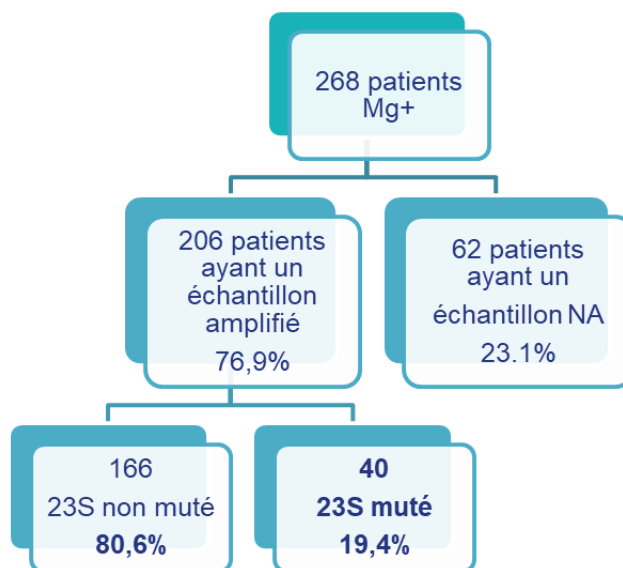
Parmi les patients ayant accepté de renseigner leur orientation sexuelle, 39,5% (15/38) déclaraient avoir des pratiques hétérosexuelles. Sur les 25 hommes ayant déclaré leurs pratiques, 88,0% (22/25) étaient des HSH. À noter que les pratiques sexuelles étaient inconnues pour 85,8 % (230/268) des patients.

### Prévalence de la résistance aux macrolides

Les échantillons ont été analysés par une PCR en temps réel commercialisée pour rechercher les 4 principales mutations associées à la résistance aux macrolides. Aucune amplification du gène de l'ARNr 23S n'a pu être obtenue chez 23,1 % (62/268) des échantillons, (Figure ci-dessous).

Chez les femmes, la sensibilité globale de la détection de la résistance aux macrolides était de 79,4% (131/165). Cette sensibilité était de 100% pour les endomètres (10/10) et les gorges (2/2), 82,2% (106/129) dans les prélèvements cervico-vaginaux, 66,6% (2/3) pour les prélèvements rectaux, 53,4% (11/21) dans les urines.

Chez les hommes, la sensibilité globale de la détection de la résistance aux macrolides était 75% (72/96). Par type de prélèvement, cette sensibilité était de 100% dans le sperme (1/1) et pour le prélèvement « autre uro-génital » (1/1), 79,4% (54/68) dans les urines, 68,4% (13/19) pour les anus et 42,8% (3/7) dans les gorges.



**Figure. Analyse de la résistance aux macrolides des patients ayant des échantillons positifs à *M. genitalium*.**

NA : non amplifié.

Parmi les 206 patients pour lesquels une amplification a été obtenue, 80,6% (166/206) étaient sensibles aux macrolides tandis que **19,4 % (40/206) d'entre eux étaient résistants aux macrolides.**

Parmi les 40 échantillons présentant une mutation associée à la résistance, **17 (42,5%) échantillons présentaient une mutation A2059G** (numérotation *E. coli*), 9 (22,5%) une mutation A2059C (dont 8 femmes), 4 (10%) A2058T, 2 (5%) A2058G. Dans 20,0% (8/40) des cas, la position exacte de la mutation n'a pas pu être déterminée. Une très nette amélioration du séquençage est à observer par rapport à l'enquête MGDROM 2019 pour laquelle nous avons plus de 80% des prélèvements pour lesquels le séquençage avait été infructueux (possiblement explicable car nous faisons la PCR FRET en premier).

Trente-huit des 40 échantillons résistants étaient issus de la Réunion (19 femmes, 18 hommes et un patient de sexe inconnu), une femme venait de Nouvelle-Calédonie et un homme de la Guadeloupe.

Chez les femmes le pourcentage de résistance était de 15,3% (20/131) vs 26,4% chez les hommes (19/72) ( $p=0,54$ ).

#### Prévalence de la résistance aux fluoroquinolones

Les échantillons positifs à *M. genitalium* ont été soumis à une PCR en point final ciblant le gène *parC* suivi d'un séquençage pour rechercher les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones. Aucune amplification ou séquençage du gène *parC* n'a pu être obtenue chez 23,1 % (62/268) des échantillons (Figure suivante).

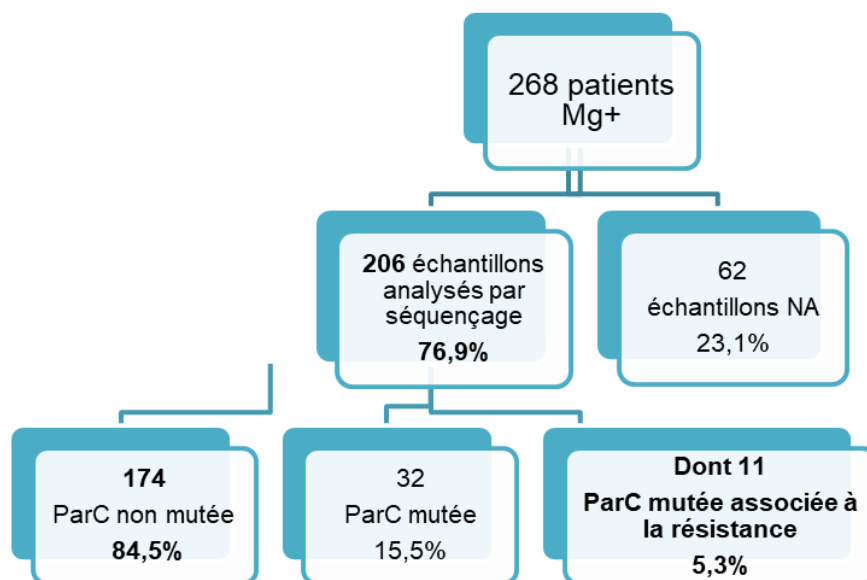


Figure. Diagramme de flux de la résistance aux fluoroquinolones des patients positifs à *M. genitalium*.

NA : non amplifié.

Parmi les 268 échantillons analysés par séquençage du gène *parC*, 84,5% (174/206) étaient sauvages tandis que 15,5% (32/206) présentaient une mutation dans la QRDR. Néanmoins, selon les données de la littérature, toutes les mutations observées dans la QRDR du gène *parC* ne sont pas associées à la résistance aux fluoroquinolones. Sept mutations différentes ont été retrouvées.

Tableau. Description des mutations de la protéine ParC.

Mutation de la protéine ParC	Nombre de patients porteurs de la mutation	Données de la littérature concernant la résistance aux fluoroquinolones
Ser83(80)Ile	8	Associée à la résistance aux fluoroquinolones
Indéterminées	3	Mutations retrouvées avec le kit Nytor, parmi Ser83Ile, Asp87Tyr, Asp87Asn ou Ser83Arg
MS (C234T)	14	
Ser83(80)Asn	2	Non associée à la résistance à la moxifloxacin chez <i>M. genitalium</i>
Ser104(101)Phe	2	
Ala118(116)Val	1	
Tyr86(86)83Cys	1	



His106(103)Tyr	1
<b>Total général</b>	<b>32</b>

Pour 3 patients la position de la mutation n'a pas pu être caractérisée car détectée par le kit MGMO qPCR de Nytor.

Seules les mutations Ser83(80)Ile, Asp87(84)Tyr, Asp87(84)Asn, Ser83(80)Arg (et Gly81Cys non retrouvée ici) sont associées à une augmentation de la CMI des fluoroquinolones et confèrent une résistance. **De fait, la prévalence de la résistance aux fluoroquinolones en Outre-mer était de 5,3% (11/206).**

**La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 11,3% chez les hommes (8/71) versus 2,3 % chez les femmes (3/130) ( $p < 0,05$  ; test exact de Fisher).**

#### Double résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones

Parmi les 185 patients pour lesquels nous avons pu amplifier le gène de l'ARNr 23S et le gène *parC*, seuls 6 présentaient une double résistance soit 3,2%.

La prévalence d'une double résistance était de 4,5% chez les hommes (3/67) versus 2,6 % chez les femmes (3/115) ( $p > 0,05$  ; test exact de Fisher).

#### Conclusion

Cette étude met en évidence une **augmentation de la prévalence de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* entre 2018 et 2021 en Outre-mer** avec un taux de 6,1% (14/228) en 2018 vs 19,4% (40/206) en 2021 ( $p < 0,001$ ). Nous ne retrouvons pas de différence statistiquement significative entre 2019 et 2021 avec 14,7% (38/258) en 2019 vs 19,4% (40/206) en 2021 ( $p > 0,05$ ).

Cette valeur contraste avec la prévalence de 35,2% (158/449) observée en France métropolitaine à la même période ( $p < 0,001$ ).

**Il en va de même pour la résistance aux fluoroquinolones entre 2018 et 2021** avec un taux de 1,3% (3/233) en 2018 vs 5,3% (11/206) en 2021 ( $p < 0,05$ ). **Nous ne retrouvons de différence statistiquement significative entre 2019 et 2021, 2,6% (7/268) en 2019 vs 5,3% (11/206) en 2019 ( $p > 0,05$ ).**

Cette valeur contraste avec la prévalence de 17,7% (79/446) observée en France métropolitaine à la même période ( $p < 0,001$ ).

En 2018, nous ne retrouvons aucun cas de double résistance en Outre-mer, puis 0,9% en 2019 (2/212) et 3,1% en 2021 (6/191), différence non significative.

Cette étude a été présentée en poster avec flash communication au **congrès de l'ECCMID 2023** à Copenhague et sera présentée au **congrès de l'International Organisation for Mycoplasmaology en juillet 2023** à Osaka.

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

#### 3.3.3.1 Surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* en France métropolitaine (enquête ENGON 2021) : analyse des antibiogrammes

Les données de résistance en 2021 reposent sur un total de 908 informations cliniques et 895 souches collectées provenant de 63 centres dont 803 cultivables qui ont pu être analysées (phénotype et génotype) dans notre laboratoire. La période de recueil de l'enquête ENGON 2021 s'étendait du 1 septembre au 31 décembre 2021.

Parmi les 803 souches analysées, la production de bêta-lactamase a été observée chez 15,9% des souches (127/803) (15,8%). La détermination des CMI de 9 antibiotiques (céfixime, ceftriaxone, tétracycline, ciprofloxacine, azithromycine, céfoxitine, spectinomycine, gentamicine et rifampicine) a été effectuée par la technique de Etest (Biomérieux, France). Les résultats sont résumés dans le Tableau ci-dessous.

Tableau. Sensibilité aux antibiotiques des 803 souches de gonocoques isolées en 2021.

Antibiotiques	Sensible	Sensibilité diminuée	Résistant	Résistant haut niveau
Céfixime	783/803 (97,5%)	19/803 (2,4%) <sup>a</sup>	1/803 (0,1%)	-
Ceftriaxone	800/803 (100%)	3/803 (0,4%) <sup>b</sup>	-	-
Tétracycline	69/803 (8,6%)	-	566/803 (70,5%)	168/803 (20,9%) <sup>c</sup>
Ciprofloxacine	287/803 (35,7%)	-	516/803 (64,3%)	-
Gentamicine	803/803 (100%) <sup>d</sup>	-	-	-
Spectinomycine	803/803 (100%)	-	-	-
Azithromycine <sup>e</sup>	726/803 (90,4%) <sup>e</sup>	-	56/803 (7,0%)	21/803 (2,6%) <sup>f</sup>

<sup>a</sup> La sensibilité diminuée au céfixime est définie par une CMI : 0,064 µg/mL ≤ CMI ≤ 0,125 µg/mL.

<sup>b</sup> La sensibilité diminuée à la ceftriaxone est définie par une CMI : 0,064 µg/mL ≤ CMI ≤ 0,125 µg/mL.

<sup>c</sup> La résistance de haut niveau à la tétracycline est définie par une CMI ≥ 16 µg/mL.

<sup>d</sup> La sensibilité à la gentamicine est définie par une CMI ≤ 16 µg/mL (correspondant à l'Ecoff).

<sup>e</sup> La sensibilité à l'azithromycine est définie par une CMI ≤ 1 µg/mL (correspondant à l'Ecoff).

<sup>f</sup> La résistance de haut niveau à l'azithromycine est définie par une CMI > 4 µg/mL.

Parmi les 803 souches, 19 étaient de sensibilité diminuée au céfixime, 3 étaient de sensibilité diminuée à la ceftriaxone (dont 2 également au céfixime), et une souche était résistante au céfixime (0,1%). La répartition des CMI du céfixime et de la ceftriaxone est présentée dans la Figure ci-dessous. Ces données indiquent un contrôle de propagation de souches résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération en France **avec une proportion toujours très faible de souches résistantes au céfixime (0,2% en 2020 vs 0,1% en 2022). Aucune souche résistante à la ceftriaxone n'a été retrouvée.**

Nous avons également inclus dans cette figure les CMI de la céfoxitine qui est recommandée pour le traitement des infections génitales hautes (CNGOF et SPILF 2018). Les CMI de la céfoxitine sont beaucoup plus élevées que celles du céfixime et de la ceftriaxone.

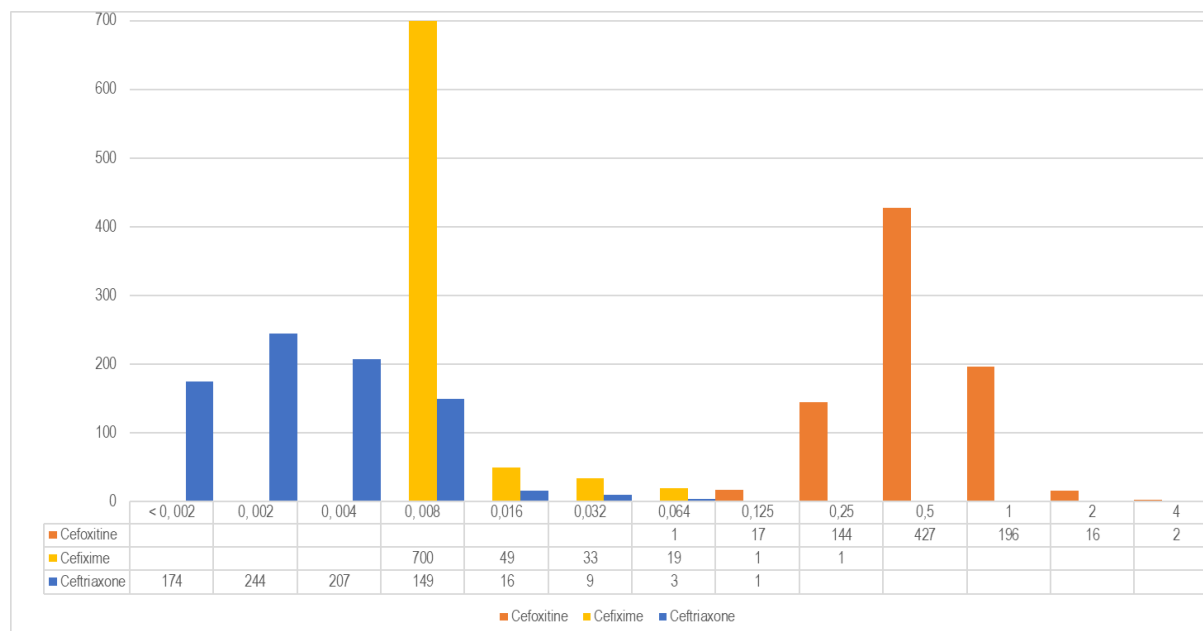


Figure. Répartitions des CMI du céfixime, de la Ceftriaxone et de la céfoxitine pour les 803 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2021.

Pour les 6 autres molécules testées, les répartitions des CMI sont présentées dans les Figures ci-dessous.

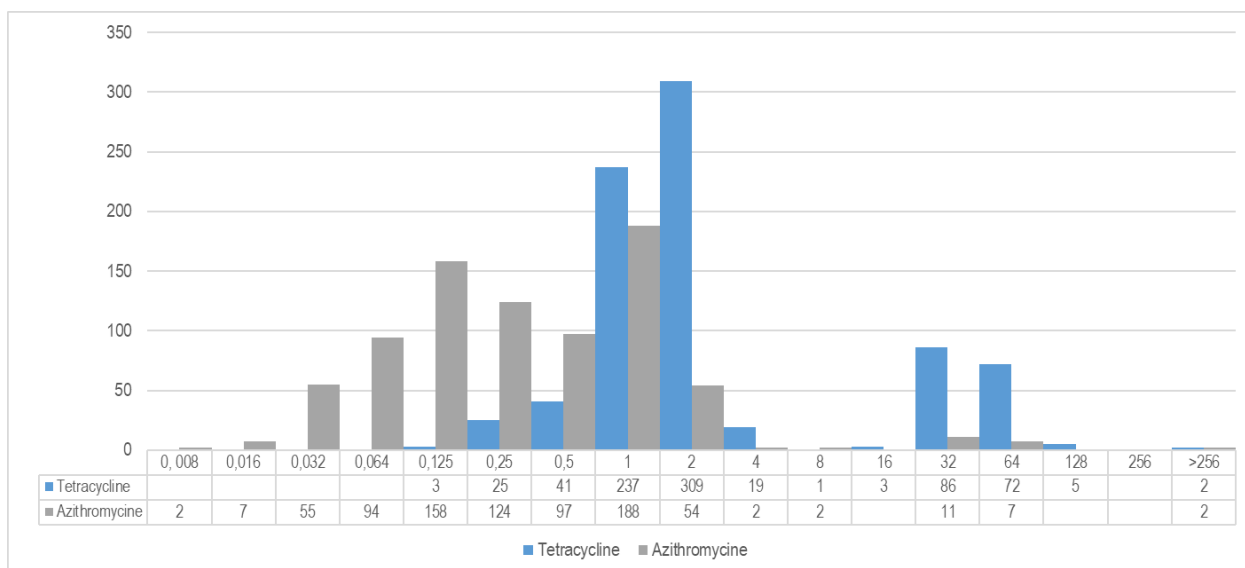


Figure. Répartition des CMI de l'azithromycine et de la tétracycline pour les 803 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2021.

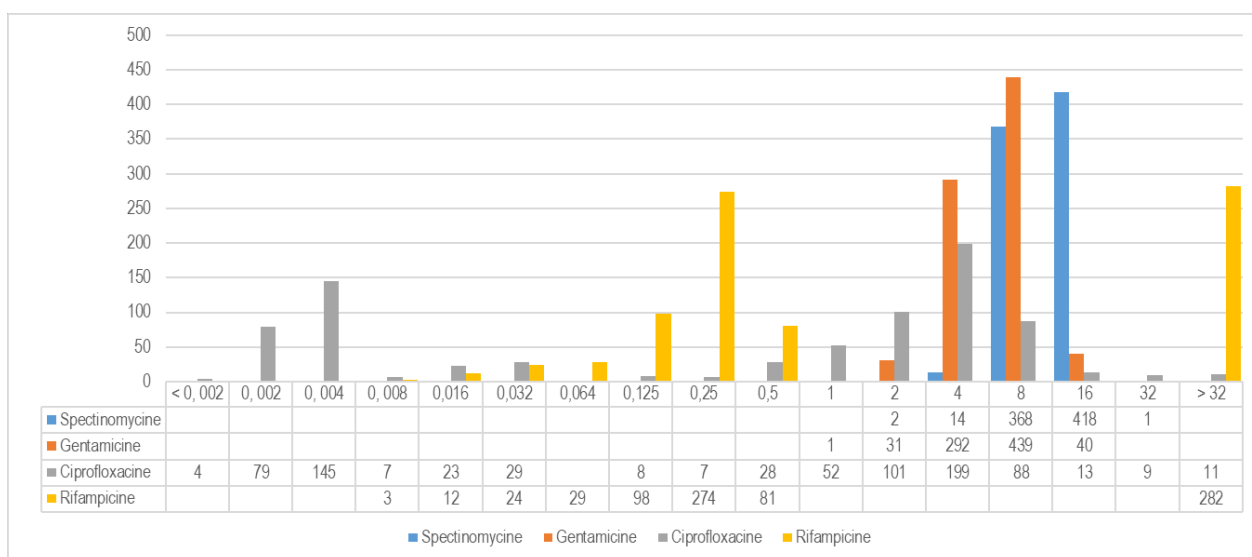


Figure. Répartition des CMI de la spectinomycine, gentamicine, ciprofloxacine et rifampicine pour les 803 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2021.

On observe une légère augmentation non significative des résistances aux fluoroquinolones (64,9% vs 59,8% en 2020 ;  $p=0,126$ ) et à la tétracycline (91,4% vs 90,3% en 2020 ;  $p=0,52$ ), avec une diminution des souches à haut niveau de résistance à la tétracycline (22,9% (168/734) vs 32,1% en 2020 ;  $p=0,003$ ).

Pour la tétracycline, les concentrations critiques du CASFM-EUCAST ont été homogénéisées en 2022 avec une disparition de la catégorisation intermédiaire en 2022. Ainsi le taux de résistance à la tétracycline est augmenté à 91,4% en 2021 car ce taux associe maintenant l'ancienne valeur intermédiaire et la valeur résistante. En comparaison avec 2021, la valeur était de 90,3% en 2020, calculée en cumulant les données I et R. On observe une diminution des souches à haut niveau de résistance soit 22,9% (168/734) en 2021 vs 32,1% en 2020,  $p=0,003$ .

Aucune résistance à la gentamicine ou à la spectinomycine n'a été observée.

La répartition des CMI de l'azithromycine est comprise entre 0,008 et >256 µg/mL; 9,7% (78/803) des souches étaient résistantes, dont 2,6% (21/803) présentaient un haut niveau de résistance. Le taux de résistance à l'azithromycine est similaire à celui observé en 2020 (9,5%) ;  $p=0,94$ .

En se basant sur les interprétations des CMI aux antibiotiques testés, 14 phénotypes de résistance différents ont été identifiés. Ils sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Le phénotype le plus fréquent est TETR<sup>R</sup> / CIP<sup>R</sup> (43%) suivi de TETR<sup>R</sup> seul (16,7%) et TETR<sup>R-HN</sup> / CIP<sup>R</sup> (13%). Parmi les 66 souches de phénotype sauvage, 1 souche produisait une  $\beta$ -lactamase.

**Tableau. Phénotype de résistance observé parmi les 803 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2021.**

Phénotypes de résistance	Nombre de souches (%)
Sauvage	66 (8,2)
CIP <sup>R</sup>	3 (0,4)
TETR <sup>R</sup>	134 (16,7)
TETR <sup>R-HN</sup>	52 (6,5)
TETR <sup>R</sup> / CIP <sup>R</sup>	345 (43,0)
TETR <sup>R</sup> - CIP <sup>R</sup> - FIX <sup>SD</sup>	7 (0,9)
TETR <sup>R</sup> - CIP <sup>R</sup> - FIX <sup>SD</sup> - CRO <sup>SD</sup>	2 (0,2)
TETR <sup>R-HN</sup> - CIP <sup>R</sup>	104 (13,0)
TETR <sup>R-HN</sup> - CIP <sup>R</sup> - FIX <sup>SD</sup>	11 (1,4)
TETR <sup>R</sup> - AZI <sup>R</sup>	35 (4,4)
TETR <sup>R</sup> - CIP <sup>R</sup> - AZI <sup>R</sup>	35 (4,4)
TETR <sup>R</sup> - CIP <sup>R</sup> - AZI <sup>R-HN</sup>	7 (0,9)
TETR <sup>R-HN</sup> - CIP <sup>R</sup> - AZI <sup>R-HN</sup> - CRO <sup>SD</sup>	1 (0,1)
TETR <sup>R</sup> - CIP <sup>R</sup> - FIX <sup>R</sup>	1 (0,1)

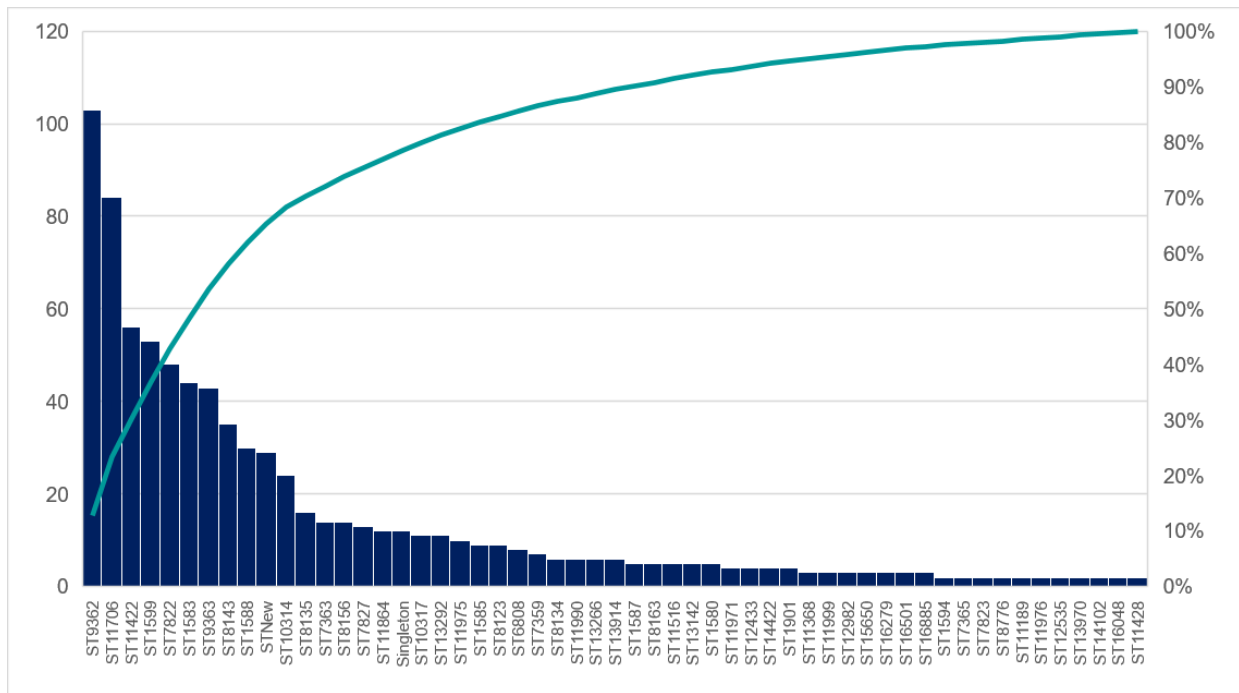
R : Résistant; R<sup>HN</sup> : Résistant haut niveau; SD : Sensibilité diminuée;

CIP : Ciprofloxacine; TET : Tétracycline; FIX : Céfixime; CRO : Ceftriaxone; AZI : Azithromycine

### 3.3.3.2 Surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* en France métropolitaine (enquête ENGON 2021) : analyse NGS comparative

Au total, 803 souches de *N. gonorrhoeae* ont été séquencées et les données de typage MLST, NG-MAST, NG-STAR, Complexe Clonal NG-STAR ont été déterminés *in silico*. Parmi ces 803 souches, 65 ST (MLST) différents ont été identifiés (identifiables dans la base de données <https://pubmlst.org>) et regroupaient 96,4% (774/803) des souches – les autres possédaient une combinaison d'allèles ne correspondant à aucun ST dans la base de données (ST « new »).

Sept MLST regroupaient plus de la moitié des souches (53,7% - 433/803) : MLST9362 (12,8% ; n = 103), MLST11706 (10,5% ; n = 84), MLST11422 (7% ; n = 56), MLST1599 (6,6% ; n = 53), MLST7822 (6% ; n = 48), MLST1583 (5,5% ; n = 44), MLST9363 (5,4% ; n = 43) (voir Figure ci-dessous). Les quatre ST principaux entre 2018 et 2020 (ST1583, ST9363, ST7822 et ST1599) sont toujours présents en 2021 dans des proportions légèrement moins importantes (12,7-7,5% 2018-2020 vs 6,6-5,4% en 2021). L'émergence des ST9362 et ST11706 se confirme et s'intensifie en 2021 (respectivement 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> clone). Les ST pouvant être associés à la résistance aux C3G (ST1901, ST7363 et ST7827) ne représentent que 31 souches (3,8%) (Korne-Elenbaas *et al.* J Antimicrob Chemother 2021).



**Figure. Histogramme de distribution des ST (MLST) identifiés parmi les souches de l'enquête ENGON 2021.**

Les ST inconnus sont regroupés dans STNew. Les ST identifiés dans une seule souche sont regroupés dans le groupe Singleton. La courbe représente le dénombrement cumulatif des souches par ST classé de manière décroissante. Les 7 ST les plus fréquents représentent plus de 50% des souches (53,7%).

Le séquençage et l'alignement des core-génome des 803 isolats cliniques de *N. gonorrhoeae* ont permis de comparer les génomes séquencés. L'arbre ci-dessous a été construit en utilisant le pipeline NG-AR2T (*Neisseria gonorrhoeae* genome Assembly, Resistome, Typing and Tree) pour l'obtention des déterminants de clonalité et de résistance. Une matrice de SNP est générée et les séquences sont comparées afin de construire l'arbre phylogénétique ci-dessous. Les regroupements par clades ont été déterminés par le logiciel Baps (Cheng Lu *and al*, Molecular Biology and Evolution, Volume 30, Issue 5, May 2013, Pages 1224–1228). La visualisation est objectivée en utilisant logiciel iTOL.

La population de *N. gonorrhoeae* d'ENGON 2021 montrait une grande diversité avec 19 clades identifiés, néanmoins 10 clades représentaient 75,8% (609/803) des souches séquencées.

Le clade le plus important (A) comprenait 14,9% (120/803) des isolats correspondant majoritairement aux ST9363 (n=41) et ST11422 (n=56). Les souches étaient majoritairement résistantes à la tétracycline. Plus de 50% des souches résistantes à l'azithromycine se trouvent dans ce clade (53%) dont 77% (17/22) des souches résistantes de haut niveau. La résistance à haut niveau à l'azithromycine était liée à des mutations dans l'opéron *rrl*, codant l'ARNr 23S (C2611T (n=15) ou A2059G (n=2)).

Le second clade (B) comprenait 13,6% (109/803) des isolats correspondant majoritairement au ST11706 (n=86). Les souches étaient majoritairement résistantes à la tétracycline et à la ciprofloxacine. La résistance à la ciprofloxacine était liée à la présence de double mutation dans GyrA (S91F et D95A). L'ensemble des souches de ce clade présentaient également une CMI élevée à la rifampicine (> 32 µg/mL) et produisaient une β-lactamase excepté une souche.

Le troisième clade (E) comprenait 12,5% (100/803) des isolats correspondant majoritairement au ST11706 (n=103). Les souches étaient majoritairement résistantes à la tétracycline et à la ciprofloxacine. La résistance à la ciprofloxacine était liée à la présence de double mutation dans GyrA (S91F et D95A). A noter que presque toutes les souches de ce clade présentaient également une CMI basse à la rifampicine (≤ 0,5 µg/mL) et ne produisaient pas une β-lactamase excepté une souche.

Par ailleurs, la présence du gène *tet(M)* était associée à trois ST en particulier : ST1583 (n=44, clade K), ST1599 (n=44, clade N) et ST1588 (n=15, clade P).

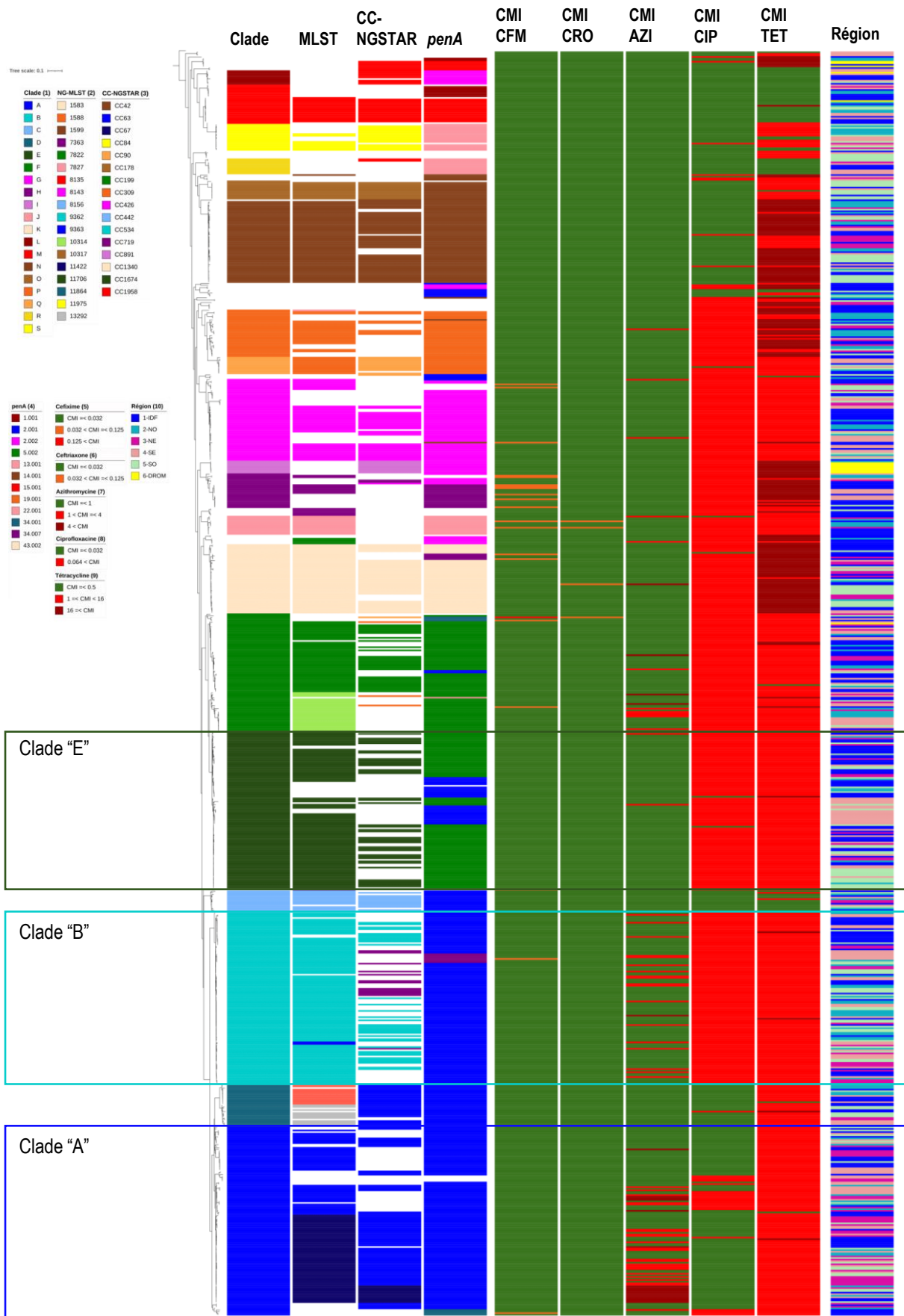


Figure. Arbre phylogénétique basé sur le core-géome des 803 souches de gonocoques provenant d'ENGON 2021.

### 3.3.3.3 Surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* en France métropolitaine (enquête ENGON 2022) : analyse des antibiogrammes (résultats préliminaires)

Dans le cadre de l'enquête ENGON 2022, 635 souches ont été collectées avec leurs données cliniques provenant de 55 centres participants. La période de recueil s'étendait du 1 septembre au 31 décembre 2022. La détermination des CMI de 8 antibiotiques (céfixime, ceftriaxone, tétracycline, ciprofloxacine, azithromycine, doxycycline, spectinomycine, gentamicine) a été effectuée par la technique du E-test (bioMérieux, France). Les résultats préliminaires obtenus sur les 196 souches investiguées, rapportent la production de bêta-lactamase pour 35/196 souches (17,9%). Le reste des résultats a été compilé dans le Tableau ci-dessous.

**Tableau 1. Sensibilité aux antibiotiques des 196 souches de gonocoques isolées en 2022**

Antibiotiques	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Ceftriaxone	195/196 (99,5%)	-	1/196 (0,5%)
Ceftriaxone	196/196 (100%)	-	0/0%
Tétracycline	16/196 (8,2%)	-	180/196 (91,8%) <sup>a</sup>
Ciprofloxacine	60/196 (30,6%)	1/196 (0,5%)	135/196 (68,9%) <sup>b</sup>
Gentamicine	196/196 (100%)	-	0/0%
Spectinomycine	196/196 (100%)	-	0/0%
Azithromycine <sup>c</sup>	-	-	19/196 (9,7%) <sup>d</sup>

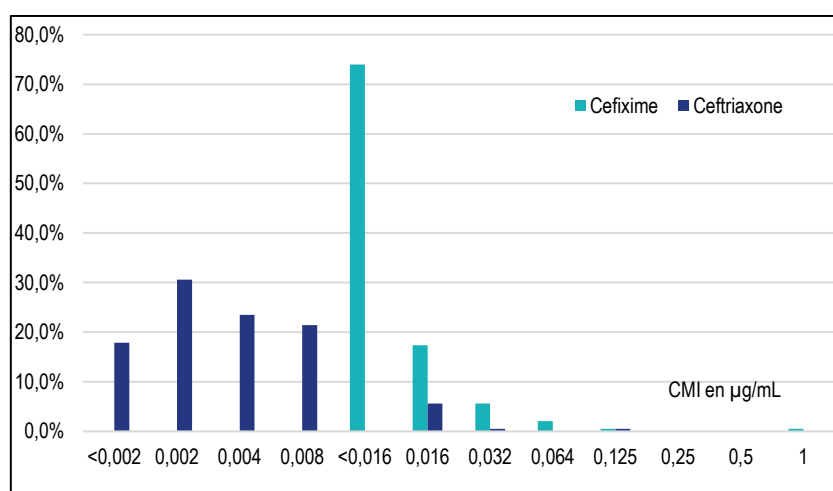
<sup>a</sup> La résistance de haut niveau aux cyclines ( $\geq 16\mu\text{g/mL}$ ) est de 20,6% (37/196 souches résistantes).

<sup>b</sup> La résistance de haut niveau aux fluoroquinolones ( $\geq 1\mu\text{g/mL}$ ) est de 93,3% (126/135 souches résistantes)

<sup>c</sup> Disparition des breakpoints pour l'azithromycine selon les recommandations de l'EUCAST avec conservation d'un ECoff à 1mg/L. Selon le CA-SFM, les souches ayant une CMI strictement supérieure à 1 mg/L seront considérées résistantes, les valeurs inférieures restent sans interprétation.

<sup>d</sup> La résistance de haut niveau à l'azithromycine ( $\geq 8\mu\text{g/mL}$ ) est de 3,1% (6/196 souches résistantes) dont une CMI > 256  $\mu\text{g/mL}$ .

Parmi les souches isolées lors de l'enquête ENGON 2022, 1 souche (0,5%) a présenté une résistance au céfixime. De plus, 6 souches (3%) ont présenté une CMI du céfixime supérieure à l'Ecoff (0,032 mg/L). Pour la ceftriaxone, une souche (0,5%) a présenté une CMI au niveau du breakpoint (0,125  $\mu\text{g/mL}$ ). La répartition des CMI du céfixime et de la ceftriaxone est objectivée dans la Figure ci-dessous.

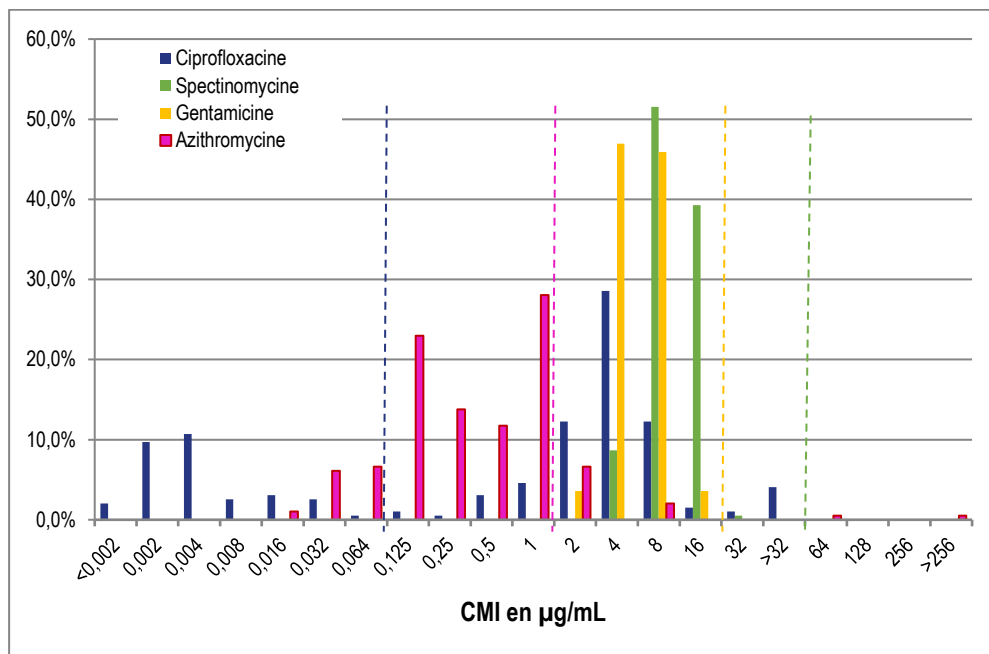


**Figure. CMI du céfixime et de la ceftriaxone pour les 196 souches de gonocoques de l'enquête ENGON 2022.**

Pour les autres molécules, la répartition des CMI est visualisée dans les Figures ci-dessous. On observe une tendance à l'augmentation de la résistance aux fluoroquinolones (64,3% en 2021 vs 68,9% en 2022 ;  $p=0,176$ ).

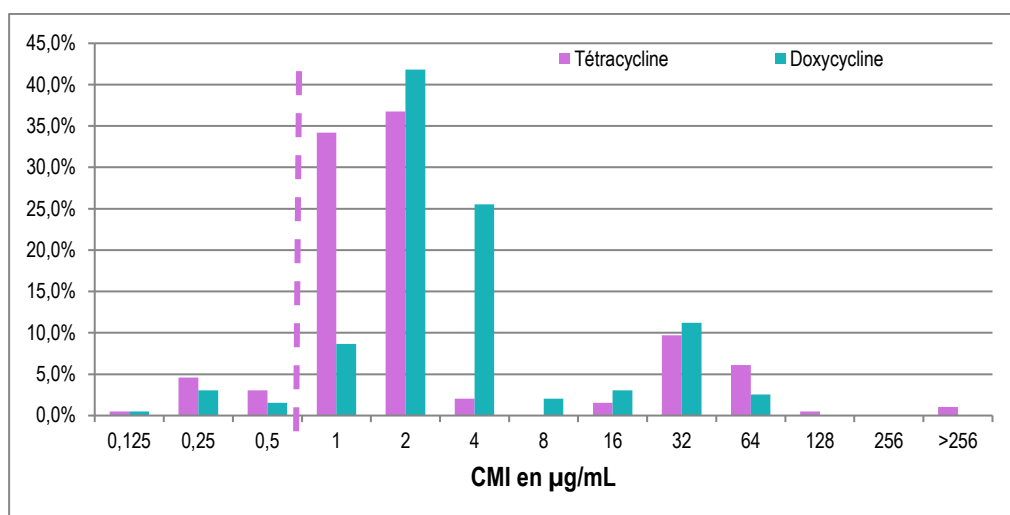
Pour la tétracycline, avec les breakpoints du CASFM–EUCAST homogénéisés en 2022, on observe un taux de résistance à la tétracycline similaire à 91,8 % en 2022 vs 91,4% en 2021 ( $p=0,847$ ). Les souches à haut niveau de résistance restent stables (20,9% en 2021 vs 20,6% en 2022 ;  $p=0,501$ ).

Aucune résistance à la gentamicine ou à la spectinomycine n'a été observée. La répartition des CMI de l'azithromycine rapporte que 9,7% des souches pourraient être considérées comme résistantes à l'azithromycine car leur CMI est strictement supérieure à l'Ecoff de 1 mg/L proposé par EUCAST, ce qui est équivalent aux résultats de 2021 (9,7% ;  $p=0,964$ ). Pour la résistance à haut niveau ( $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ ), celui-ci atteint les 3,1% (6/196) cette année, ce qui confirme l'augmentation de la résistance à haut niveau l'azithromycine observée ces dernières années (2,7% en 2021) et une souche avait un haut niveau de résistance (CMI > 256  $\mu\text{g/mL}$ ).



**Figure. Répartition des CMI à l'azithromycine, la gentamicine, la spectinomycine, la ciprofloxacine des 196 gonocoques isolés dans l'enquête ENGON 2022.** Les barres pointillées représentent les concentrations critiques de chaque molécule.

Cette année, le CNR a ajouté la surveillance des CMI de la doxycycline au panel habituel. On observe que les CMI de la doxycycline ont tendance à être plus élevées que celles de la tétracycline.



**Figure. CMI de la doxycycline et de la tétracycline des 196 gonocoques isolés dans l'enquête ENGON 2022.** Les barres pointillées représentent la concentration critique de la tétracycline.

Le séquençage NGS et les CMI restantes des 635 souches de l'enquête ENGON 2022 est en cours.



### 3.3.3.4 Etude de transmissions de gonococcies en Polynésie Française (2021-22)

En 2021-22, les microbiologistes du CH de Polynésie Française, Stéphane Lastère et. Marc Levy, rapportent l'isolement récent d'un profil de gonocoque sensible au C3G et à l'azithromycine mais résistant aux fluoroquinolones et aux cyclines alors que nos anciennes enquêtes du CNR de 20178-18 ne rapportaient aucune résistance aux fluoroquinolones en Polynésie Française.

Huit souches ont été isolées entre mai 2021 et mai 2022, la cohorte était composée de 4 hommes et 2 femmes, tous symptomatiques, avec une moyenne d'âge de 32 ans [21-40] et de 2 nourrissons. Les souches ont été isolées au niveau génital chez les adultes et au niveau de l'œil pour les nouveau-nés.

L'analyse des génomes par NGS met en évidence la circulation d'un même clone en Polynésie Française de ST MLST 9362 et 11200 avec moins de 200 de SNP d'écart entre 7/8 souches, confirmant leur clonalité (cf. Figure ci-dessous).

Ce clade a été retrouvé chez 5,7% des souches isolées en France métropolitaine pendant les enquêtes ENGON 2017-2020 et chez 12,8% des souches d'ENGON 2021.

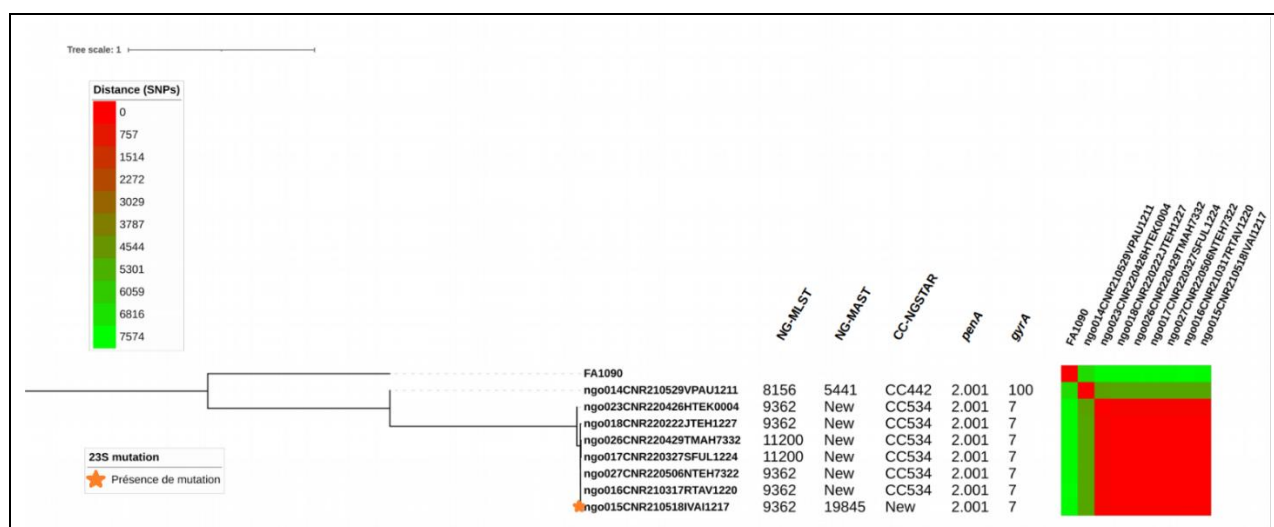


Figure. Arbre phylogénétique basé sur le core-génome des 8 souches de gonococcies isolées en Polynésie Française en 2021-22.

Cette analyse rapporte l'importance de la surveillance des souches de gonococcies dans les territoires d'Outre-Mer, qui restent peu documentées du fait de la difficulté d'obtenir des souches sur un recueil de 4 mois. En 2023, nous continuerons nos efforts de collecte avec les partenaires biologistes des DROM pour l'enquête NG-DROM et proposerons de travailler à nouveau à partir des échantillons cliniques obtenus en TAAN qui seront plus simples à obtenir.

### 3.3.4 Surveillance de la résistance de *T. pallidum* aux macrolides en 2022

Les souches de *T. pallidum* testées pour leur résistance à l'azithromycine sont toutes celles qui ont été envoyées au CNR et qui sont détectées positives par le test de diagnostic de qPCR *tpp47-pola*. *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 de la mutation ponctuelle A2058G (nomenclature *E. coli*) dans le gène de l'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.

Sur l'ensemble des échantillons positifs pour *T. pallidum* issu de l'expertise et du réseau GenoSyph, nous avons analysé 53 échantillons en 2022. Nous avons obtenu une très bonne sensibilité de détection du gène de l'ARNr 23S à 89% et nous montrons que 34 échantillons (74%) possèdent la mutation A2058G (cf. Tableau ci-dessous).

Tableau. Prévalence de la résistance à l'azithromycine de *T. pallidum* par centre participant pour 2022.

N° CNR	Centre	Age	Sexe	Type de prélèvement	Date du prélèvement	Amplification génique		RFLP
						nPCR tpp47	PCR 23S	Mutation / Wild type
012222	La Roche sur Yon	58	M	Ulcération génitale	07/01/22	pos	pos	A2058G
012253	Nantes	56	M	Biopsie langue	21/01/22	pos	pos	A2058G
02229	Foch	31	M	Ulcération cutanée	03/02/22	pos	fpos	A2058G
022218	Bichat	43	M	Ulcération génitale	10/02/22	pos	pos	A2058G
022247	Brest	27	F	Placenta	18/02/22	pos	fpos	A2058G
022250	Robert Debré	1 j	M	Placenta	24/02/22	pos	pos	A2058G
032227	Bondy	37	M	Ulcération génitale	04/03/22	pos	pos	A2058G
032256	Robert Debré	31	F	Biopsie foie foetal (mort <i>in utero</i> )	23/02/22	pos	pos	A2058G
032258	Nancy	23	M	Sperme	15/03/22	pos	fpos	wt
042214	Bondy	23	M	Ulcération anale	28/03/22	pos	neg	ND
042224	La roche sur Yon	35	M	Ulcération génitale	01/04/22	pos	pos	A2058G
042276	Bondy	29	M	Ulcération anale	21/04/22	pos	pos	A2058G
042277	La roche sur Yon	21	M	Ulcération buccale	22/04/22	pos	pos	A2058G
052221	Fréjus	31	M	Ulcération anale	05/05/22	pos	pos	wt
052233	Le Chesnay	2 j	M	Aspiration nasopharyngée	09/05/22	pos	pos	A2058G
052286	Bichat	49	M	Ulcération génitale	20/05/22	pos	pos	A2058G
072250	Fréjus	25	M	Ulcération génitale	20/07/22	pos	pos	wt
082233	Bichat	78	M	Ulcération génitale	08/08/22	pos	pos	A2058G
0822171	Bondy	45	M	Ulcération anale	25/07/22	pos	pos	wt
0822190	Rouen	1 an 1/2	F	Biopsie cuisse gauche	25/02/21	pos	pos	ND
09226	Caen	47	M	Biopsie valve cardiaque	29/08/22	pos	neg	wt
092214	Bondy	26	M	Ulcération anale	29/08/22	pos	pos	A2058G
092228	Bondy	17	M	Ulcération buccale	06/09/22	pos	pos	A2058G
092261	Neuilly-sur-Seine	22	F	Placenta	22/09/22	pos	pos	wt
102212	Bondy	25	M	Ulcération génitale	22/09/22	pos	pos	A2058G
102259	Saint Laurent du Maroni	2 j	F	Sérum	26/03/22	pos	pos	wt
11225	Fréjus	41	M	Ulcération génitale	28/10/22	pos	pos	A2058G
1122114	Avignon	43	M	LCR	10/11/22	pos	pos	ND
1222121	Montpellier	33	F	Biopsie os	21/12/22	pos	pos	wt

1222168	Saint Louis	27	M	LCR	28/12/22	pos	pos	ND
GI4	Marseille	69	M	Ulcération buccale	22/03/2022	pos	pos	A2058G
GM4	Marseille	39	M	Ulcération génitale	11/02/2022	pos	neg	ND
IE4	La Réunion	30	F	Ulcération cutanée	21/03/2022	pos	neg	ND
IF4	La Réunion	24	M	Ulcération génitale	30/05/2022	pos	pos	A2058G
IH4	La Réunion	23	M	Ulcération anale	28/12/2021	pos	pos	A2058G
IM4a	La Réunion	19	F	Ulcération génitale	15/07/2022	pos	pos	A2058G
JL4	Marseille	44	M	Ulcération buccale	27/01/2022	pos	pos	A2058G
JS4	Marseille	21	M	Ulcération génitale	19/04/2022	pos	pos	wt
KN4	CeGIDD Cochin	36	M	Ulcération génitale	04/01/2022	pos	neg	wt
KQ4	CeGIDD Cochin	30	M	Ulcération buccale	07/01/2022	pos	pos	ND
KR4	CeGIDD Cochin	25	M	Ulcération génitale	17/01/2022	pos	pos	A2058G
KT4	CeGIDD Cochin	37	M	Ulcération génitale	21/01/2022	pos	pos	A2058G
KV4	CeGIDD Cochin	28	M	Ulcération buccale	07/02/2022	pos	pos	A2058G
LJ4	Marseille	24	M	Ulcération génitale	09/06/2022	pos	pos	A2058G
LK4	Marseille	38	M	Ulcération anale	20/06/2022	pos	pos	A2058G
LL4	Marseille	43	M	Ulcération génitale	01/06/2022	pos	pos	A2058G
MO4	CeGIDD Cochin	21	M	Ulcération génitale	18/05/2022	pos	pos	A2058G
MR4	CeGIDD Cochin	37	M	Ulcération génitale	30/05/2022	pos	pos	wt
NN4	CeGIDD Cochin	23	M	Ulcération génitale	02/09/2022	pos	pos	A2058G
NS4	CeGIDD Cochin	57	M	Ulcération génitale	09/11/2022	pos	pos	A2058G
NT4a	CeGIDD Cochin	44	M	Ulcération génitale	18/11/2022	pos	pos	A2058G
NY4	CeGIDD Cochin	46	M	Ulcération génitale	23/12/2022	pos	pos	A2058G

### Pour la période 2010-2022

Depuis la mise en place de la détermination de la mutation A2058G sur le gène 23S de l'ARNr de *T. pallidum*, nous avons analysé un total de 413 échantillons testés positifs en routine pour *T. pallidum*. Sur l'ensemble, nous obtenons une détection à 70% du gène de l'ARNr 23S. Sur la période, **76% des souches de *T. pallidum* analysées** possèdent la mutations A2058G leur conférant une résistance à l'azithromycine (cf. Figure ci-dessous).

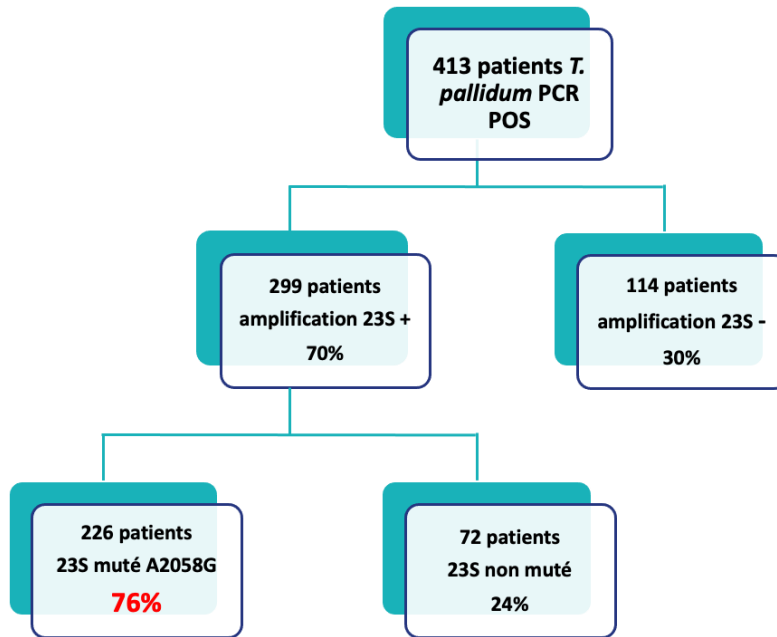


Figure. Analyse de la résistance aux macrolides des patients positifs à *T. pallidum* sur la période 2010-2022.

Les échantillons testés provenaient de 33 centres hospitaliers répartis sur l'ensemble du territoire français, incluant des échantillons provenant d'Outre-mer (cf. Figure ci-dessous).

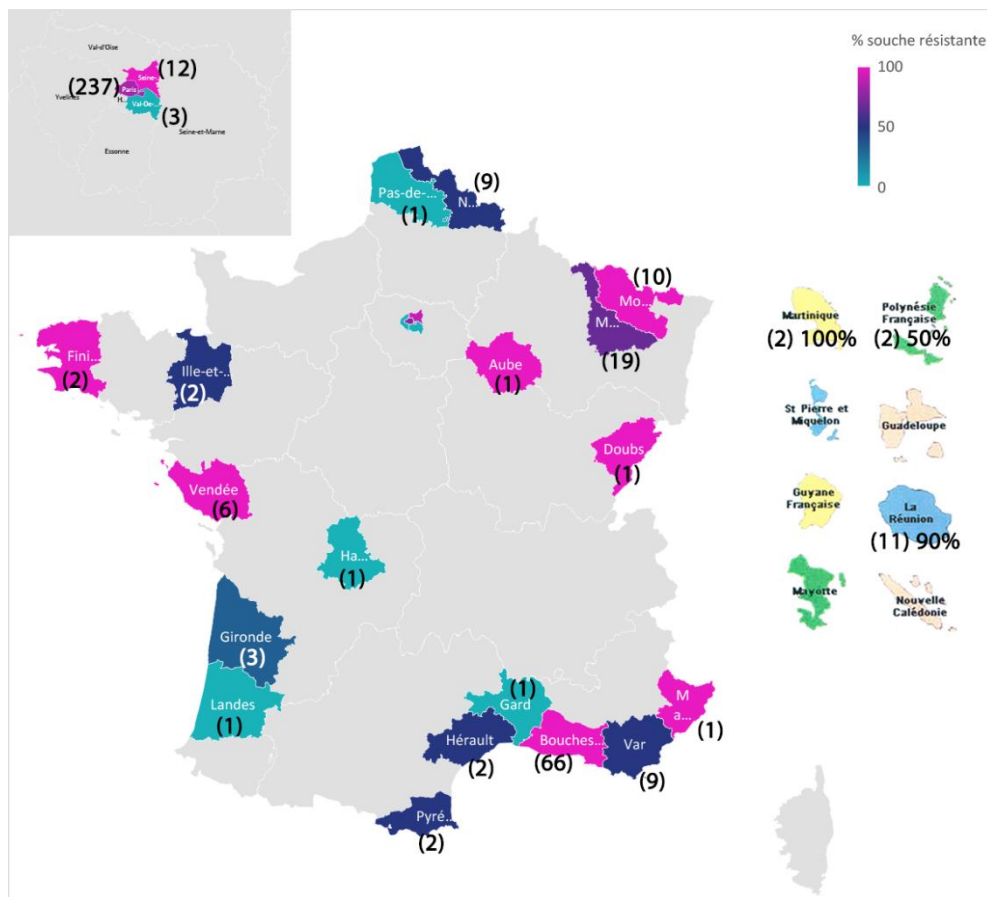


Figure. Prévalence de la résistance à l'azithromycine de *T. pallidum* par centres participants sur la période 2010-2022. Le nombre d'échantillons positifs pour *T. pallidum* est indiqué entre parenthèses et le pourcentage de résistance suit le code couleur à l'exception des DOM-TOM où il est directement indiqué.

## 3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

### 3.4.1 CNR IST

#### a) Santé publique France

##### Identification des diagnostics d'IST dans les bases médico-administratives du SNDS

C. Bébéar, C. Cazanave, B. Berçot et N. Dupin ont participé au recueil de données et aux travaux de SpF (D. Viriot, N. Ndeikoundam) 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. Une 2<sup>ème</sup> étude a été menée 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 a été soumis. Les algorithmes pour identifier les cas de syphilis et les infections à gonocoque restent à construire avec le même groupe de travail.

Un article sur l'usage des DCIR pour surveiller le diagnostic des IST bactériennes en France entre 2006 et 2020 a été publié dans Eurosurveill en 2022 (Viriot et al **Use of health care reimbursement data to monitor bacterial STI testing in France, 2006-2020**).

#### b) Réseau Sentinelles des Médecins généralistes

**Santé publique France et le réseau Sentinelles de médecins généralistes** (Thierry Blanchon et collègues, IPLESP, UMR-S 1136 Inserm, Sorbonne Université) ont souhaité faire évoluer le volet IST de leur surveillance, qui ne réalisait jusqu'alors qu'une surveillance clinique des urétrites masculines. Un protocole et le questionnaire afférent pour recueillir les données des cas d'IST collectés et des médecins généralistes participants ont été ainsi mis en place dès 2020. 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 annuelle des cas diagnostiqués d'infections à chlamydia, de gonococcies et de syphilis vus en consultation de médecine générale en France métropolitaine. Un total de 378 cas a été déclaré en 2021 comme le montre le Tableau ci-dessous, issu du bilan d'activité 2021 du réseau Sentinelles. Le bilan 2022 est en cours de préparation et la collaboration continue pour l'analyse des résultats.

**Tableau. Nombre total de cas d'IST déclarés dans le cadre du réseau Sentinelles en 2021.**

<b>1. Nombre total de cas déclarés et décrits par les médecins Sentinelles : 378 cas</b>
<b>2. Infections à <i>Chlamydia trachomatis</i></b>
o Nombre d'infections à <i>C. trachomatis</i> (y compris les co-infections) : <b>276 cas</b>
o Taux d'incidence annuel des cas vus en consultation de médecine générale : <b>87 cas / 100 000 hts</b> (IC95% : 76 – 98)
o Incidence annuelle des cas vus en consultation de médecine générale : <b>57 477 cas</b> (IC95% : 50 328–64 626)
<b>3. Infections à gonocoque</b>
o Nombre d'infections à gonocoque (y compris les co-infections) : <b>97 cas</b>
o Taux d'incidence annuel des cas vus en consultation de médecine générale : <b>33 cas / 100 000 hts</b> (IC95% : 26 – 40)
o Incidence annuelle des cas vus en consultation de médecine générale : <b>21 750 cas</b> (IC95% : 17 327–26 173)
<b>4. Syphilis</b>
o Nombre de syphilis (y compris les co-infections) : <b>39 cas</b>
o Taux d'incidence annuel des cas vus en consultation de médecine générale : <b>14 cas / 100 000 hts</b> (IC95% : 10 – 18)
o Incidence annuelle des cas vus en consultation de médecine générale : <b>9 291 cas</b> (IC95% : 6 529–12 053)

### c) Groupes de travail HAS et sociétés savantes françaises et internationales

Voir les activités déjà citées paragraphe 3.2.2 “Conseil et expertise aux autorités sanitaires”

#### Réactivation d'un groupe de travail IST auprès de l'ANRS-MIE

En 2022, Yasdan Yasdanpanah, directeur de l'ANRS-MIE, a demandé à Cécile Bébéar et Jade Ghosn, de réactiver le GT sur les IST et HPV au sein de l'ANRS-MIE afin de repenser les priorités qui devraient être celles de l'Agence sur la thématique « IST ». Le GT s'est réuni une première fois en 2022 et poursuivra ses travaux en 2023 pour rendre ses conclusions à l'ANRS-MIE.

### d) ECDC-TESSy

**Sur le plan européen**, le CNR IST bactériennes et Santé publique France collaborent avec Gianfranco Spiteri jusqu'en 2021 puis avec Benjamin Bluemel depuis 2022 dans le cadre de la surveillance des IST bactériennes par l'ECDC, Stockholm, Sweden.

Le **programme européen de surveillance antimicrobienne gonococcique (Euro-GASP)** est un système de surveillance sentinelle qui, depuis 2009, est coordonné par l'ECDC et soutenu par un réseau européen de microbiologistes et d'épidémiologistes. B. Berçot est représentante pour la France du réseau de surveillance européen Euro-GASP et participe à ce titre aux enquêtes annuelles de ce réseau. Le CNR de Saint-Louis envoie ses données anonymisées sur la sensibilité du gonocoque à SpF à F. Lot et E. Chazelle qui les transmettent à l'ECDC (voir point 3.4.3).

Le CNR envoie ses données anonymisées sur le **diagnostic de la LGV** (enquête Anachla 2021) à SpF qui le transmet à l'ECDC.

### 3.4.2 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.
- Helena Seth-Smith, University of Basel, Switzerland
- Jacque Ravel, University of Baltimore, USA

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

- Catriona Bradshaw, Monash University, Melbourne, Australia
- 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
- Ken B. Waites, University of Alabama, Birmingham, USA.

Les liens étroits avec l'**International Organization for Mycoplasma et l'European Study Group on Mycoplasma and Chlamydia Infections (ESGMAC)** de l'ESCMID nous permettent d'initier ou de participer à des études épidémiologiques internationales et européennes sur les mycoplasmes urogénitaux. S. Pereyre est ainsi secretary de l'ESGMAC depuis 2021.

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

### 3.4.3 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 & Mathilda Day, Public Health England, London
- Gianfranco Spiteri, European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden
- Tania Cruccitti, Institut Pasteur de Madagascar.

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 220 souches ont été transmises en 2021 à l'**ECDC via TESSy** 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. Des projets sont plus avancés avec Madagascar (T Cruccitti).

### 3.4.4 Laboratoire APHP Cochin

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

- N. Dupin est président de la **Société Française de Dermatologie** en 2022 et promeut la thématique IST au sein de sa société savante. Il est membre fondateur du groupe GRIDIST qui provient de la fusion de la section MST-SIDA de la SFD avec des dermatologues-infectiologues.

- N. Dupin est vice-président du **GRIDIST** après avoir assuré la trésorerie pendant de nombreuses années. Le groupe effectue une veille bibliographique portant sur les articles concernant les maladies infectieuses dermatologiques et les principales IST.

La mise en place de webminars à destination des membres de la SFD sont organisés pour aborder des thématiques en rapport avec le GRIDIST : dermatoses infectieuses et IST.

Le CNR envoie ses données à Santé publique France sous la responsabilité d'Emilie Chazelle. 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 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 mai 2022, le CNR a fourni comme chaque année les résultats phénotypiques associés aux données cliniques de 200 souches pour la surveillance européenne. La répartition des souches était équilibrée entre les régions.

En septembre 2022, une rétro information concernant nos données cliniques, envoyées en 2020 et rapportées par pays, met en évidence des données françaises très complètes (69% de report de données) et supérieures dans de nombreuses catégories par rapport aux autres pays. Pour les prochaines enquêtes, un axe d'amélioration concerne la remontée de la notion de gonorrhée antérieure et du traitement.

**Tableau. Exhaustivité de la déclaration des variables épidémiologiques, 2020 pour les pays participant à Euro-Gasp**

Country	Number of isolates	Sex	Age	Mode of transmission	Site of infection	Diagnostic test	Treatment	Previous gonorrhoea	Concurrent STI	Place of residence	Clinical service type	Country of birth	Probable country of infection	HIV status	Overall Percentage response rate
Austria	245	99.6	99.6	0.0	95.5	100.0	0.0	6.9	4.9	58.4	93.9	0.0	0.0	4.1	<b>43.3</b>
Belgium	159	100.0	99.4	38.4	99.4	100.0	13.2	37.1	38.4	100.0	22.6	57.2	20.8	35.8	<b>58.6</b>
Cyprus	2	100.0	50.0	0.0	100.0	100.0	50.0	0.0	0.0	100.0	50.0	50.0	0.0	0.0	<b>46.2</b>
Czech Republic	116	100.0	100.0	87.9	89.7	100.0	87.9	87.1	79.3	100.0	100.0	87.9	100.0	85.3	<b>92.7</b>
Denmark	110	98.2	100.0	83.6	94.5	100.0	0.0	0.0	0.0	89.1	100.0	88.2	82.7	63.6	<b>69.2</b>
Estonia	2	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	50.0	0.0	<b>73.1</b>
Finland	203	100.0	100.0	89.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	96.6	83.7	0.0	<b>36.1</b>
France	200	100.0	100.0	48.5	99.0	100.0	0.0	0.0	84.5	90.5	98.5	52.0	56.5	67.0	<b>69.0</b>
Germany	200	97.5	99.0	0.0	97.5	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0	77.0	0.0	0.0	0.0	<b>43.9</b>
Greece	100	100.0	90.0	84.0	99.0	100.0	90.0	67.0	7.0	73.0	100.0	87.0	86.0	2.0	<b>75.8</b>
Hungary	80	100.0	100.0	0.0	98.8	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	<b>38.4</b>
Iceland	42	100.0	100.0	57.1	100.0	100.0	0.0	92.9	100.0	92.9	100.0	92.9	0.0	2.4	<b>72.2</b>
Ireland	104	100.0	100.0	11.5	99.0	6.7	0.0	25.0	94.2	94.2	100.0	16.3	0.0	56.7	<b>54.1</b>
Italy	100	99.0	99.0	33.0	100.0	100.0	26.0	32.0	27.0	42.0	100.0	41.0	27.0	26.0	<b>57.8</b>
Malta	5	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	80.0	100.0	100.0	100.0	100.0	80.0	<b>96.9</b>
Netherlands	332	100.0	100.0	98.5	100.0	100.0	100.0	0.0	100.0	99.4	100.0	99.7	0.0	96.4	<b>84.2</b>
Norway	450	100.0	100.0	0.0	97.6	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	<b>30.6</b>
Poland	23	100.0	100.0	34.8	100.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	<b>48.8</b>
Portugal	110	100.0	100.0	11.8	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0	34.5	5.5	0.0	0.0	<b>42.4</b>
Slovakia	108	100.0	98.1	68.5	100.0	0.0	59.3	100.0	85.2	100.0	100.0	97.2	71.3	81.5	<b>81.6</b>
Slovenia	168	100.0	100.0	35.1	100.0	100.0	0.0	81.0	81.0	99.4	96.4	82.1	0.0	82.1	<b>73.6</b>
Spain	232	100.0	99.6	87.5	100.0	100.0	0.0	0.0	0.4	100.0	100.0	0.0	100.0	1.3	<b>60.7</b>
Sweden	200	99.0	100.0	99.5	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	99.5	0.0	<b>38.3</b>
<b>Grand Total</b>	<b>3291</b>	<b>99.7</b>	<b>99.4</b>	<b>47.9</b>	<b>92.3</b>	<b>81.5</b>	<b>20.2</b>	<b>18.0</b>	<b>32.7</b>	<b>64.0</b>	<b>66.0</b>	<b>41.3</b>	<b>34.9</b>	<b>30.7</b>	<b>56.0</b>

En 2022, à la demande de Benjamin Bluemel, un Data Transfert Agreement a été signé entre le Centre National de Référence français des IST bactériennes (expertise gonocoque) et l'ECDC afin de permettre le transfert de données dans le cadre d'un projet sur la surveillance génomique de *N. gonorrhoeae* résistant aux antimicrobiens. Dans ce travail, les données fournies par la France sont celles provenant de données de 50 souches en 2013 (NGS décentralisés en Suède, Hôpital Universitaire d'Örebro), 61 souches (FastQ envoyés avec les souches) et 200 séquences en 2020 (transfert des FastQ).

Les données sont stockées comme suit :

a. Les données WGS sont stockées dans la base de données externe sécurisée de ÖUH.



- b. Une fois l'analyse terminée, les données WGS liées aux données de sensibilité aux antimicrobiens et aux informations épidémiologiques minimales approuvées (pays et année d'isolement) de chaque isolat/patient seront stockées et mises à la disposition du public sur Pathogenwatch. Elles peuvent également être publiées sur Microreact.
- c. Les données WGS (enregistrements avec des résultats sélectionnés) peuvent également être stockées dans TESSy.
- d. À l'issue du projet, tous les fichiers FASTQ seront stockés et mis à la disposition du public sur le site European Nucleotide Archive.

Dans ce travail, 1932 isolats gonococciques de 21 pays européens ont été comparés aux données de 2013 et 2018. La majorité de la résistance à l'azithromycine (9-4%, 181/1932) s'explique par l'expansion continue du clone NG-STAR CC63 avec une mosaïque *mtr2* et du nouveau clone NG-STAR CC1031 avec une variante *mtrD* semi-mosaïque 13, associés aux HSH et aux infections anorectales/oropharyngées. La diminution de la résistance au céfixime (0-5%, 9/1932) et la quasi-absence de résistance à la ceftriaxone (0-05%, 1/1932) ont été largement expliquées par la disparition progressive de NG-STAR CC90 avec le variant mosaïque *penA*, qui était prédominant en 2013 et 2018. La diminution de la diversité génomique et l'augmentation de la clonalité dans la population des gonocoques ont probablement été influencées par les fermetures et les restrictions nationales associées au COVID-19, y compris lors des voyages. La résistance à l'azithromycine, principalement causée par des mosaïques/semi-mosaïques *mtrD*, semble se stabiliser à un niveau relativement élevé en Europe. Cette résistance à l'azithromycine, de faible niveau, peut menacer la bithérapie recommandée, ceftriaxone plus d'azithromycine, et rappeler l'importance de la réinstauration d'un breakpoint à l'azithromycine. L'augmentation de la sensibilité à la ceftriaxone et au céfixime et l'absence de mutations de résistance pour les nouveaux antimicrobiens (zolfidodacine, gépotidacine, léfamuline) sont encourageantes.

Ces données ont été soumises pour publication dans the Lancet Microbe.

### 3.5.2 Surveillance de l'antibiorésistance du gonocoque en Afrique

En 2021, lors d'une collaboration avec S Godreuil et les microbiologistes du Burkina Faso, le CNR avait séquencé 52 souches de gonocoque isolées au Burkina Faso en NGS. Ce travail avait objectivé la circulation de souches majoritairement résistantes aux quinolones et aux tétracyclines à haut niveau (> 95%) et a été publié **dans J Eur Acad Dermatol Venereol. 2022 ;36(7):e565-e568**.

A la demande de Magnus Unemo, les données NGS de ces 52 souches ont été transférées pour une comparaison génomique dans le cadre d'un projet collaboratif sur l'AMR en Afrique. Nos données ont été comparées avec des souches isolées en Ouganda (n=433), au Malawi (n=154) et en Afrique du Sud (n=99) et du Kenya (n=159). Dans la collection, la résistance à la ciprofloxacine était très élevée dans tous les pays (57,1-100%). Tous les isolats étaient sensibles à la ceftriaxone, au céfixime et à la spectinomycine et 99,9 % à l'azithromycine. L'article est en cours de soumission.

Les génomes africains restent peu explorés et le CNR collabore sur ce point avec les collègues **du Togo, des instituts Pasteur d'Afrique plus particulièrement IP de Madagascar** (Projet ANRS soumis).

### 3.5.3 Contrôles de qualité européens

- *EU STI Microbiology Network: N. gonorrhoeae antimicrobial resistance quality assurance programme* :

En 2022, le laboratoire du CNR expert gonocoque n'a pas été sollicité pour participer au programme. Cela est expliqué par la fin du contrat entre l'ECDC et l'UKHSA en juillet 2022. Les activités de contrôles de qualité européens ont donc été partiellement suspendues.

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

Le CNR n'a pas été sollicité en 2022 pour le transfert des génomes séquencés en 2022.

### 3.5.4 Contrôles de qualité national externe pour les laboratoires participants aux enquêtes ENGON

Lors de l'enquête ENGON 2021, le CNR a proposé un retour des résultats des CMI réalisées par les centres sur la base du panel d'antibiotiques utilisé au CNR (céfixime, ceftriaxone, azithromycine, ciprofloxacine, céfoxitine, tétracycline, spectinomycine et gentamicine) à l'ensemble de nos participants. Vingt-six centres ont participé, 18 ont fourni les informations des géloses et bandelettes antibiotiques utilisées. Ainsi, 46,2% (12/26) utilisent des géloses PVX Biomérieux, 15,4% (4/26) des PVX Becton Dickinson et 7,7% (2/26) des PVX Thermofisher. Les bandelettes bioMérieux étaient majoritairement utilisées 61,5% (16/26), puis i2A [3,8%(1/26)] et Liofichem [3,8%(1/26)] (cf. Figures).

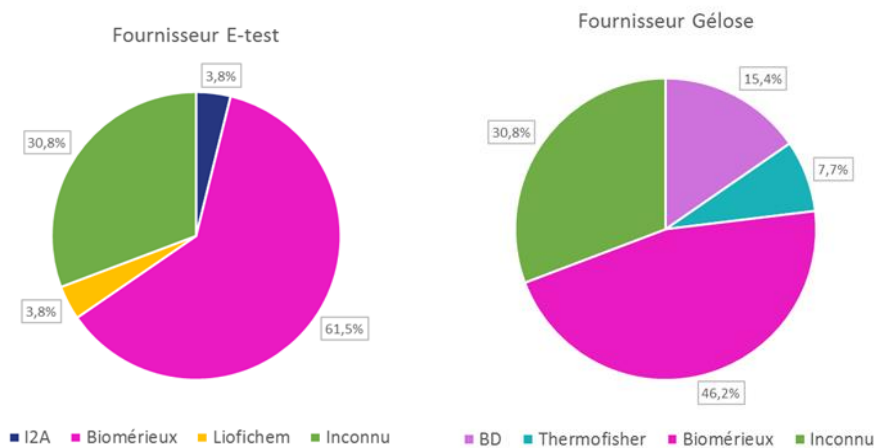


Figure. Pourcentage de géloses et Etest utilisés par les participants au CQ lors de l'enquête ENGON 2021

Les laboratoires participants ont envoyé au CNR les valeurs de CMI obtenues pour les souches de l'enquête ainsi que leurs interprétations S-I-R. Les interprétations du CNR suivaient les règles CA-SFM/EUCAST2021 (v11.0). Les valeurs de CMI reçues ont été comparées avec celles obtenues au CNR, elles ont ensuite été catégorisées en fonction du tableau suivant et compilées dans la Figure suivante.

Tableau. Tableau de catégorisation des lectures de CMI du CQ

Type d'erreur	Signification
Pas d'erreur	Résultat CMI = CMI modèle
Erreur mineure	Résultat CMI = +/- une double dilution CMI modèle
Erreur intermédiaire	Résultat CMI = +/- deux double dilution CMI modèle
Erreur majeure	Résultat CMI = > deux double dilution CMI modèle

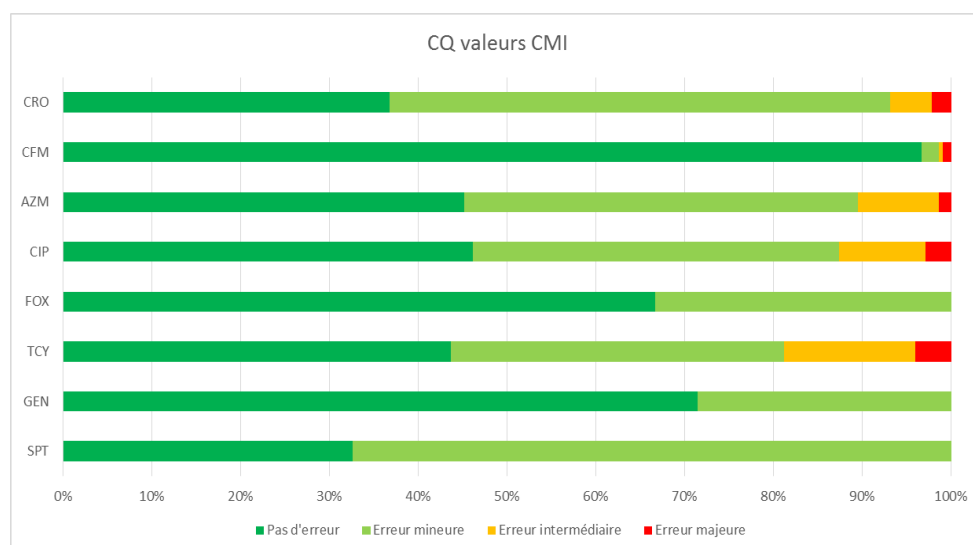
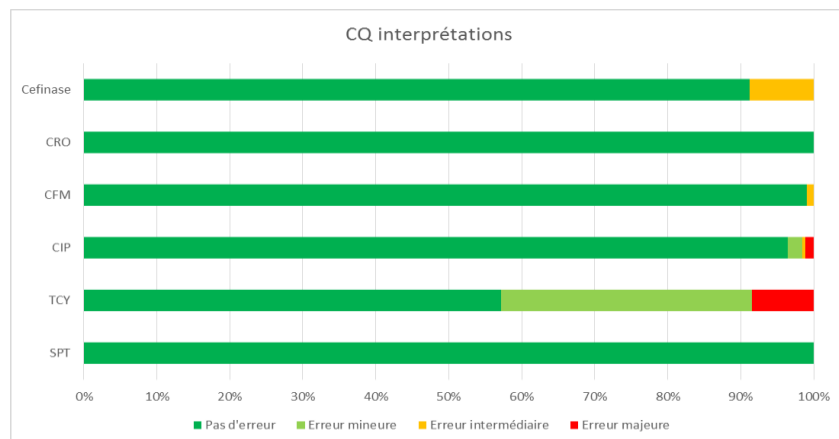


Figure. Résultats du CQ sur la lecture des CMI lors de l'enquête ENGON 2021 en % de souches par antibiotique testé

Les interprétations des CMI ainsi que le test céfinase ont ensuite été évalués au CNR en suivant le tableau de catégorisation suivant et compilés dans la figure suivante.

**Tableau. Tableau de catégorisation des interprétations de CMI du CQ**

Type d'erreur	Signification
Pas d'erreur	Interprétation de résistance = Interprétation modèle
Erreur mineure	S/R mal interprété en I ou vice versa
Erreur intermédiaire	S mal interprété en R
Erreur majeure	R mal interprété en S



**Figure. Résultats du CQ sur l'interprétation des CMI lors de l'enquête ENGON 2021 en % de souches par antibiotique interprété**

La ceftriaxone a été la molécule la plus testée du panel dans 25 centres pour 275 souches. Il y a eu 13 erreurs intermédiaires de lecture (4,7%) et 6 erreurs majeures pour 3 centres (2,2%). Ces erreurs étaient sans impact sur la catégorisation RSI. Pour le céfixime, 20 centres ont participé au CQ de lecture de CMI pour un total de 209 souches. Une seule erreur de lecture intermédiaire a été relevée (0,5%) ainsi que 2 erreurs majeures (0,9%) dans 2 centres différents. Ces erreurs étaient sans impact sur la catégorisation RSI.

L'azithromycine a été testée chez 18 centres participants pour 219 souches. Pour 20 souches, 4 erreurs de lecture sont retrouvées (une erreur intermédiaire et 3 erreurs majeures dans 2 centres différents). La donnée n'a pas été interprétée en l'absence de breakpoint.

La ciprofloxacine a été testée dans 24 centres participants pour 245 souches. La lecture des CMI a révélé 24 erreurs intermédiaires (9,8%) et 7 erreurs majeures (2,9%) réparties dans 6 centres. Pour l'interprétation, 3 erreurs majeures (1,2%) pour 3 laboratoires participants sont notées ainsi qu'une seule erreur de catégorisation intermédiaire.

Les valeurs de CMI de la tétracycline ont été envoyées pour 149 souches réparties dans 13 centres. Sur l'ensemble des résultats, **c'est sur la tétracycline qu'il y eu le plus d'erreurs intermédiaires et majeurs de lecture**. Une erreur intermédiaire de lecture a été retrouvée pour 22 souches (14,8%) et 6 erreurs majeures de lecture (4%) ont été réalisées par 6 centres différents. Pour la tétracycline, 154 souches réparties dans 13 centres ont été évaluées pour l'interprétation rapportant 13 erreurs majeures (8,4%) dans 7 centres différents. Ces discordances parmi les centres peuvent être expliquées par la modification récente du breakpoint et la disparition de la zone intermédiaire.

Pour la spectinomycine, la gentamicine et la céfoxitine, peu de centres ont participé au CQ avec respectivement 6 centres (pour 46 souches), 2 (pour 7 souches) et 1 (pour 6 souches). Aucune erreur intermédiaire ou majeure n'a été retrouvée.

Le test céfinase a été réalisé par 20 centres pour 159 souches, dont 14 ont donné une erreur intermédiaire d'interprétation (8,8%) soit probablement 15 faux positifs car le gène *bla<sub>TEM</sub>* n'a pas été retrouvé par séquençage.

**Au total, les résultats des antibiogrammes réalisés chez nos partenaires sont très satisfaisants, les molécules testées sont celles recommandées par le CA-SFM.** Cette proposition ayant été très appréciée, elle sera reconduite lors du recueil des souches cette année pour l'enquête ENGON 2023.

### 3.5.5 Syphilis et grossesse

En association avec les Services de Pédiatrie, d'Obstétrique, de Biologie des hôpitaux de Cochin (Caroline Charlier, Olivia Anselem, Vivien Alessandrini, Jarreau), Necker Enfants Malades (Marine Driessen, Hervé Lécuyer, Christine

Pichon, Julie Toubiana), Saint Joseph (Elie Azria, Fanny Autret, Benoît Pilmis, Alban Le Monnier), le CNR IST bactériennes met en place un protocole pour la prise en charge (examens, interprétation et traitement) de l'infection par *T. pallidum* chez la mère et l'enfant. Les échantillons pour sérologie et amplification sont envoyés au CNR IST bactériennes pour leur expertise en syphilis.

Cette étude qui devait débiter pendant le 2<sup>e</sup> semestre 2019 a été stoppée par l'épidémie de Covid-19. Une version actualisée de ce guide a été élaborée en mars 2022 et diffusée à tous les hôpitaux concernés. Ce guide est également mis en ligne sur le site web du CNR.

## 4 Alertes

---

Des échanges ont eu lieu entre le CNR et SpF pour objectiver une procédure de déclaration de cas inhabituels d'IST. Une fiche décrivant succinctement la démarche autour d'un signalement d'IST est disponible.

### 4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Aucune alerte n'a été rapportée en 2022 concernant *C. trachomatis* ou les mycoplasmes urogénitaux.

### 4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Une procédure d'alerte de souche de gonocoque résistante à la ceftriaxone a été validée en juin 2022 par le groupe européen **EURO-GASP**.

Le CNR a réalisé cette année **2 alertes pour les infections à gonocoques**.

1. Description d'une souche importée d'Asie (Vietnam) hautement résistante à la ceftriaxone chez une patiente habitant dans la région de Lyon (cf. chapitre 3.2.2.3) en juin 2022. Cette souche séquencée a été signalée avec son génotype dans le cadre du réseau de surveillance européen à l'ECDC et à SPF et publié dans la revue **Eurosurveill** en décembre 2022.

2. Description d'une souche au niveau de l'ECOFF (0,125 µg/ml) à la ceftriaxone et ayant un haut niveau de résistance à l'azithromycine (>256 µg/ml) chez une patiente habitant dans la région de Orléans (cf. chapitre 3.2.2.2) isolée à partir du stérilet. Une alerte a été effectuée à SpF en novembre 2022.

### 4.3 Laboratoire APHP Cochin

#### *La procédure*

Tout signalement de cas anormaux est transmis directement par Nicolas Dupin à E. Chazelle de SpF, soit par messagerie électronique soit par téléphone.

Toutes les demandes d'analyse sur des échantillons extérieurs (écouvillons, prélèvements sanguins, LCR, biopsies), positives par qPCR sont transmises à SpF 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 qPCR et/ou sérologie (liquide amniotique, placenta, cordon), SpF est immédiatement informé par courrier électronique et/ou téléphone par le CNR. C'est SpF qui se charge de contacter le centre demandeur pour classer le cas.

**- Alertes de suspicion de syphilis congénitale**

Six alertes de suspicion de syphilis congénitale ont été déclenchées par le CNR à SpF (cf. Tableau ci-dessous).

**Tableau. Alerte de suspicion de syphilis congénitale**

Numéro CNR	Centre	Age	Sexe	PRELEVEMENTS	Date du prélèvement	Rendu résultat	
						Amplification génique	
						nPCR	Date
022247	CHU Brest	27	F	placenta	18/02/22	pos	03/03/22
022250	CHU Robert Debré	1 j	M	sang, asp.nasopharyngée, placenta	24/02/22	pos/pos/pos	25/02/22
032256	CHU Robert Debré	31	F	foie foetal	23/02/22	pos	23/03/22
052233	CH Le Chesnay	2 j	M	aspiration nasopharyngée	09/05/22	pos	12/05/22
092261	CH Neuilly-sur-Seine	22	F	placenta	22/09/22	pos	29/09/22
102259	CH Saint Laurent du Maroni	2 j	F	sérum	26/03/22	pos	27/10/22

**- Alertes de suspicion de neurosyphilis**

Vingt et une alertes de suspicion de neurosyphilis ont été déclenchées par le CNR (Tableau ci-dessous).

**Tableau. Alerte de suspicion de neurosyphilis**

Numéro CNR	Centre	Age	Sexe	PRELEVEMENTS	Date du prélèvement	Rendu résultat			
						Amplification génique		Examen sérologique	
						nPCR	Date	VDRL	Date
012215	CHU Grenoble	68	M	LCR	05/01/22	neg	13/01/22	pos	13/01/22
012247	CH Montauban	27	M	LCR	18/01/22	neg	26/01/22	pos	31/01/22
022245	CHU Amiens	28	F	LCR	18/02/22	neg	03/03/22	pos	03/03/22
042229	CH Perpignan	62	M	LCR	05/04/22	neg	14/04/22	pos	15/04/22
042238	CH La roche sur Yon	62	M	LCR	06/04/22	neg	14/04/22	pos	15/04/22
052255	CHU Amiens	55	M	LCR	12/05/22	neg	19/05/22	pos	19/05/22
052271	CH Vandoeuvre les Nancy	52	M	LCR	17/05/22	Qt insuf.	/	pos	19/05/22
062220	La Réunion	56	M	LCR	27/05/22	neg	09/06/22	pos	09/06/22
062232	CH Vandoeuvre les nancy	52	M	LCR	17/05/22	Qt insuf.	/	pos	09/06/22
062256	CH Dax	59	M	LCR	13/06/22	neg	23/06/22	pos	23/06/22

082245	CH Dax	56	M	LCR	08/08/22	neg	18/08/22	pos	26/08/22
0822184	CHU Amiens	70	M	LCR	24/08/22	neg	01/09/22	pos	06/09/22
0822185	Colombes	30	F	LCR	25/08/22	neg	01/09/22	pos	06/09/22
112222	CH Avignon	68	M	LCR	02/11/22	neg	10/11/21	pos	10/11/22
112290	CH Compiègne	62	M	LCR	09/11/22	neg	17/11/22	pos	17/11/22
1122114	CH Avignon	43	M	LCR	10/11/22	pos	24/11/22	pos	24/11/22
1122189	CH Gueret	61	M	LCR	24/11/22	neg	01/12/22	pos	05/12/22
1222139	CHU Bordeaux	52	M	LCR	16/12/22	neg	29/12/22	pos	29/12/22
1222148	CHU Pitié Salpêtrière	40	M	LCR	16/12/22	neg	29/12/22	pos	29/12/22
1222166	CH Troyes	59	M	LCR	29/12/22	neg	05/01/23	pos	06/01/23
1222168	CHU Saint-Louis	27	M	LCR	28/12/22	pos	05/01/23	pos	06/01/23

## 5 Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

### 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

#### 5.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

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

- S. Pereyre. 2022. Actualité sur les IST chez les femmes. Labexa, Bordeaux, 30 septembre.
- S. Pereyre. 2022. Update on mechanisms, detection and epidemiology of antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium*. Webinar of ESGMAC (ESCMID study group on Mycoplasma and Chlamydia infections).

- Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion) :

- O. Peuchant, C. Bébéar, B. de Barbeyrac. *Chlamydia*. In: Encycl. Méd Chir, Biologie médicale. 2022;0(0):1-16 [Article 8-037-A-10].
- S. Pereyre, C. Bébéar. 2022. *Mycoplasma* spp., pp. 667-674. In : Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7<sup>ème</sup> édition, Société Française de Microbiologie (ed). Sous presse.
- C. Bébéar, F. Grattard, M. Garcia, L. Noussair. 2022. Infections uro-génitales et sexuellement transmissibles., pp. 291-310. In : Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7<sup>ème</sup> édition, Société Française de Microbiologie (ed).
- S. Marque-Juillet, O. Peuchant. 2022. *Chlamydia* spp., pp. 603-608. Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7<sup>ème</sup> édition, Société Française de Microbiologie (ed).
- C. Bébéar. 2023. Chapter 3.14 Diagnostic of human mycoplasmas and ureaplasmas from clinical specimens by culture and PCR (4 chapters). Clinical Microbiology Procedures Handbook fifth edition Amy L. Leber (Editor), Carey-Ann D. Burnham (Editor), ASM Books, Wiley.

- K.B. Waites, C. Bébéar. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In Manual of Clinical Microbiology, 13rd edition, ASM Press, Washington DC. In press.
- C. Bébéar, J. S. Dumler. Algorithms for identification of *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and obligate intracellular bacteria. In Manual of Clinical Microbiology, 13rd edition, ASM Press, Washington DC. In press.

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

- Rétro-information aux partenaires ;

Un poster résumant les résultats de l'enquête **Anachla 2022** sera envoyé début 2023 aux partenaires participants. Il est également disponible sur le site web du CNR. Il est joint en annexe.

Un poster résumant la **prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine et en Outre-mer en 2021** 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) ;

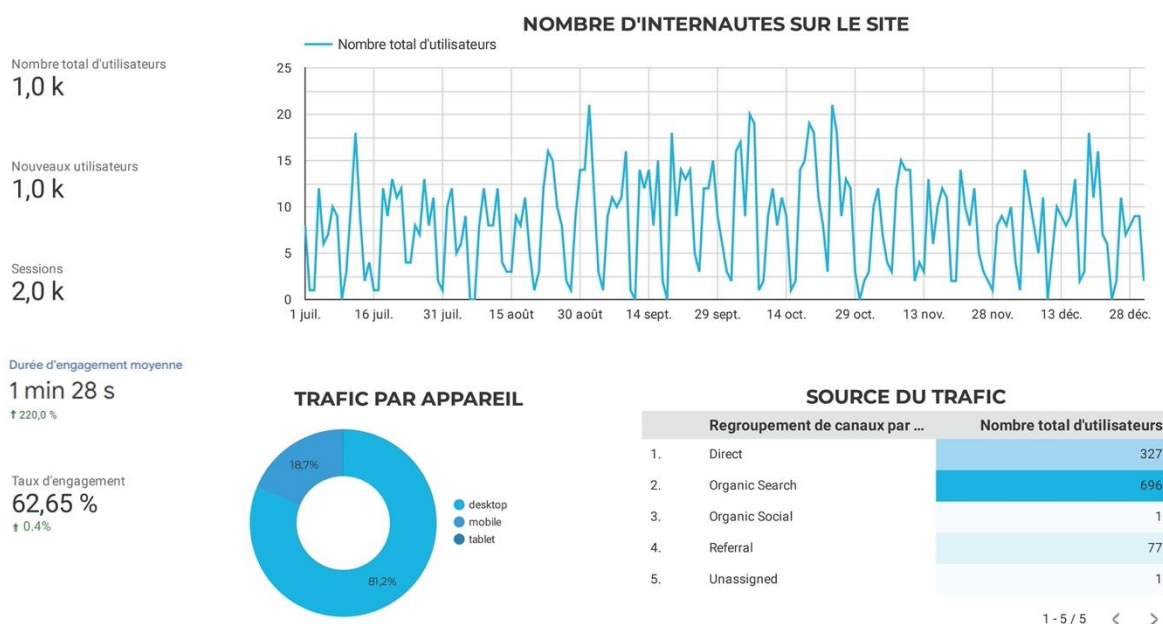
**Sur le site de web du CNR des IST bactériennes ([www.cnr-ist.fr](http://www.cnr-ist.fr))**, nos correspondants trouvent tous les documents à envoyer pour expertise d'un échantillon ou d'une souche. Ils ont également accès aux rapports du CNR depuis 2017, aux recommandations de traitement des IST, à des documents et publications de référence et aux actualités concernant le CNR. Le site du CNR relaie aussi les informations de connexion de webinaires organisés par des sociétés savantes auxquelles appartiennent ses biologistes.

Les graphiques ci-dessous résument l'activité du site depuis l'installation de google analytics en juillet 2022 (données pour l'ensemble du CNR et les 3 laboratoires). Les données présentées sont sous-évaluées par rapport à l'activité réelle du site car si le visiteur n'accepte pas l'utilisation de cookies, son activité ne sera pas comptabilisée.

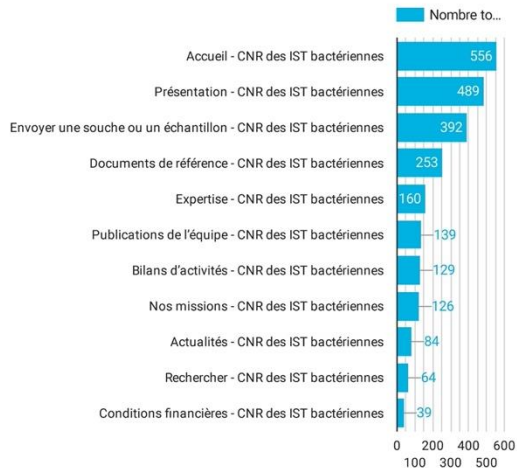


## CNR des IST Bactériennes RAPPORT DE TRAFIC WEB

Période  
1er juillet 2022 - 31 décembre 2022



**PAGES LES PLUS CONSULTÉES**



Utilisateurs ▼ par Identifiant du pays ▼



1 juil. 2022 - 31 déc. 2022 ▼

- *Activités de conseil aux professionnels de santé :*

- Une adresse email générique [cnr.ist@chu-bordeaux.fr](mailto: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 ou les ingénieurs et transmis aux biologistes responsables.

- Nous répondons, par courriel ou téléphone, à environ 4 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 deux courriels ou deux appels téléphoniques 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*

- Bercot B. 2022. Prévention des IST par antibiothérapie. Journées Thématiques IST, PrEP, Santé sexuelle, 7-8 juin 2022, Paris.

- *Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion) :*

- Goubard A, Bercot B. *Neisseria gonorrhoeae*. Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7<sup>ème</sup> édition, Société Française de Microbiologie (ed).

- H Jacquier, H Lécuyer, C Charpentier, V Ferré, B Bercot. Référentiels UE 11, Agents Infectieux, DFGSM3, Université de Paris Cité, Infections sexuellement transmissibles et ED commenté.



- B Bercot : Référentiels UE 11, Agents Infectieux, DFGSM3, Université de Paris Cité- fiches synoptiques Gonocoque, *Chlamydiae trachomatis*, *Treponema pallidum*.

- *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.

Lors de l'enquête ENGON2021, nous avons réalisé un CQ des CMI sur la base du panel des 8 antibiotiques utilisé par le CNR à l'ensemble de nos participants et avons réalisé une rétro-information personnalisée aux 26 centres qui ont accepté de réaliser ce CQ (cf chapitre 3.5.3).

- *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 le chapitre CHU de Bordeaux ci-dessus.

- *Activités de conseil aux professionnels de santé :*

Une adresse email générique [cnr.ist.sls@aphp.fr](mailto: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 2021-22, 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](http://www.cnr-ist.fr))

- Stage d'observation du Docteur Marc Lévy, microbiologiste au Centre Hospitalier de Polynésie Française au CNR de St Louis du jeudi 15 décembre 2022 au mercredi 21 décembre 2022.

### 5.1.3 Laboratoire APHP Cochin

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

#### **Nadjet Benhaddou :**

- Staffs de service infectieux et obstétriques des hôpitaux de l'APHP sur la syphilis et la syphilis congénitale
- Diagnostic de la syphilis. Le Remic's. Webinars de microbiologie Clinique de la Société Française de Microbiologie, 19 mai, on-line.
- *Treponema pallidum*. In : Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7<sup>ème</sup> édition, Société Française de Microbiologie (ed). 2022.

#### **Nicolas Dupin, participation à de nombreux FMC et congrès :**

- EADV Course, STDs part I and II, Maison de la dermatologie, janvier 2021
- RICAI, Décembre 2021, Prise en charge de la syphilis, quid des dernières recommandations ?
- Symposium Syphilis, neurosyphilis at the IUSTI meeting 2022 in Tbilissi, Georgia
- EPU Service des Maladies Infectieuses et Tropicales de l'Hôpital Necker en 2022, Neurosyphilis

- Cours Euroderm Excellence, STI in 2022, novembre 2022, MilanEPU, Journée de l'AERPID et de l'ADEVSO, Avec moi elle simule, Bordeaux, septembre 2022
- Flash Actu, Les IST à l'heure de l'PrEP, Journées Nationales Provinciales de Dermatologie, Rennes, 30 juin-2 juillet 2022
- Atelier 8, cas cliniques de dermatologie infectieuse, Journées Nationales Provinciales de Dermatologie, Rennes, 30 juin-2 juillet 2022
- *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 le chapitre CHU de Bordeaux 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 2022, cette activité a consisté en moyenne à 4-6 appels par semaine.

Sur l'année, le CNR a répondu à plus de 150 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 2022. Une adresse email générique [cnr.ist.cch@aphp.fr](mailto: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

Est résumée, ci-dessous, l'activité de conseil du CNR IST 2017-2022.

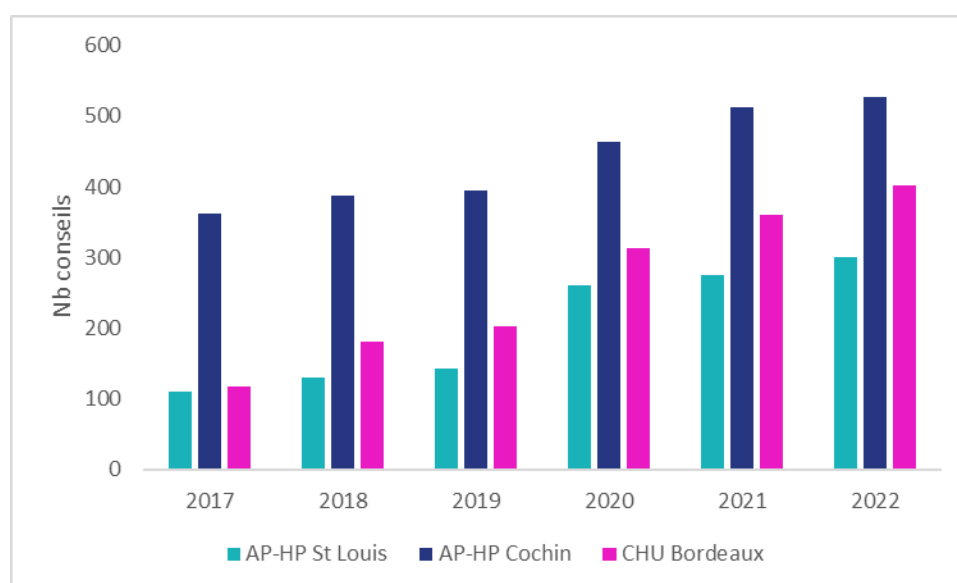


Figure. Evolution de l'activité conseil des 3 laboratoires.

## 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. Un travail a été mené par B. de Barbeyrac et C. Bébéar en collaboration avec Denis-Jean David (HAS) et Magali Ozaneaux (CPAM) 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). Les 3 demandes de révision d'actes rédigées par le CNR IST ont été déposées par la CPAM sur le site de la HAS pour évaluation en août 2021. La HAS a alors réalisé l'analyse critique des données de la littérature disponibles, rédigé sur cette base une synthèse de ces données et proposé des conclusions qu'elle a soumis pour avis au CNR IST en juin 2022. **La HAS a alors publié l'avis n° 2022.0046/AC/SEAP du 21 juillet 2022 concernant la recherche et la caractérisation des mycoplasmes dans les infections génitales basses (urétrite, cervicite).** Conformément à la demande du CNR IST, la HAS a rendu avis favorable à l'inscription sur la liste des actes et prestations, de l'acte de recherche de *M. genitalium* par test d'amplification d'acides nucléiques (TAAN), dans les 4 indications suivantes :

- en présence de symptômes d'urétrite ou de cervicite aiguë ;
- en présence de symptômes d'urétrite ou de cervicite récurrents ou persistants, en particulier lorsque *M. genitalium* n'a pas été recherché auparavant ;
- chez les partenaires sexuels actuels des patients infectés par *M. genitalium* ;
- pour le contrôle microbiologique post-traitement de l'infection à *M. genitalium*, à réaliser à environ trois semaines de distance de la fin de traitement.

La HAS a également rendu un avis favorable à :

- l'inscription sur la liste des actes et prestations de l'acte de recherche des mutations de résistance aux macrolides de *M. genitalium* par TAAN dès lors que ce mycoplasme est détecté dans un prélèvement urogénital (acte précédent) afin de pouvoir proposer au patient un traitement alternatif aux macrolides s'il est infecté par une souche résistante à cette classe d'antibiotiques.
- la radiation de la liste des actes et prestations de l'acte intitulé « Mycoplasmes : cultures sur milieux spéciaux, numération, caractérisation » (code : 5253 de la nomenclature des actes de biologie médicale).

O. Peuchant et C. Bébéar ont collaboré avec le Dr Isabelle Vincent et ses collègues de la **CNAM**, à propos du projet de dépistage CT/NG « **Mon test IST** » permettant d'accroître le recours au dépistage chez les jeunes de 18 à 25 ans « éloignés des soins » en France entière. Dans ce cadre, O. Peuchant a conduit en 2022, au CNR IST, une étude de validation de méthode pour le diagnostic CT/NG à partir d'écouvillons validés pour une utilisation à domicile avec l'automate GenXpert de Cepheid (voir paragraphe 2.2.6).

En 2022, sur saisine d'Olivier Véran et de la Direction Générale de la Santé, l'ANRS et le CNS ont été chargés de produire une mise à jour des **recommandations françaises pour la prise en charge du VIH, des Hépatites et des Infections sexuellement transmissibles**. **C. Bébéar, B. Berçot et N. Dupin** font partie des experts retenus par la HAS pour participer aux groupes de travail de la partie « épidémiologie, diagnostic clinique, diagnostic biologique, dépistage et prévention (mécanique, comportementale) », coordonné par S. Fouéré, dermatologue à Saint-Louis et responsable du groupe GRIDIST de la Société Française de Dermatologie. **C. Cazanave** pilotera le GT sur les IST bactériennes. **C. Bébéar** a été chargée par S. Fouéré de piloter le chapitre "diagnostic biologique des IST" sous l'égide de la DGS pour lequel participent les collègues du CNR suivants : S. Pereyre, O. Peuchant, B. Berçot et N. Dupin.

### 5.2.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

#### EURO-GASP

B. Berçot est la représentante française du réseau de surveillance européen **EURO-GASP** pour le gonocoque en contact avec l'ECDC. Elle a participé en 2022 à l'Eurogasp co-ordination meeting, virtual meeting, 7 avril 2022. La réunion de coordination Euro-GASP visait à :

1. Présenter les principales réalisations depuis la dernière réunion de coordination, en mettant l'accent sur les activités de surveillance, la formation, l'assurance qualité et le typage moléculaire.
2. Discuter des questions opérationnelles générales et liées à COVID-19.
3. Discuter des modifications potentielles de l'Euro-GASP, y compris la surveillance et les contrôles de qualité externes.
4. Planifier les activités Euro-GASP pour 2022.
5. Mise à jour sur les activités de typage moléculaire.

Il a également été discuté de collecter de nouveaux paramètres dans le réseau comme l'identité sexuelle, l'utilisation de la PrEP, le nombre de partenaires. Ces points seront évoqués lors de la prochaine réunion du réseau IST. La surveillance du génogroupe sera supprimée ainsi que celui des hépatites B et C. Par ailleurs, les données rapportées du réseau seront exclues en cas d'absence de résultats de résistance et d'interprétations incorrectes de la CMI de la ciprofloxacine. Par ailleurs, les responsables des bases de données du NG-STAR seront contactés au sujet de l'inclusion potentielle de la quantité d'allèles *mtrD* en mosaïque présents dans le système.

Lors de ce meeting, il a été également proposé une évaluation de la capacité des pays à effectuer la collecte de données WGS, résistance et données épidémiologiques dans le cadre du réseau.

### CA-SFM

B. Berçot a été sollicitée par la Société Française de Microbiologie (SFM), en tant qu'expert, pour participer aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la SFM (CA-SFM v1.0, Mai 2022) pour la détermination de la sensibilité des souches de gonocoques. La liste de molécules à tester a été réduite et contient la ceftriaxone, l'azithromycine et la ciprofloxacine. Les molécules complémentaires sont le céfixime, la tétracycline, la gentamicine et l'ofloxacine. La sensibilité de l'azithromycine est évaluée avec son Ecoff à 1 mg/L (la souche est considérée résistante si la CMI est > à 1 mg/L). La sensibilité de la gentamicine est évaluée avec un Ecoff à 16 mg/L. Concernant les cyclines, aucune concentration critique n'a été établie pour la doxycycline ; cependant, si la CMI de la tétracycline est ≤ 0,5 mg/L, les souches peuvent être catégorisées sensibles à la doxycycline. La zone intermédiaire qui était à la valeur de 1 mg/L a disparu.

B. Berçot fait partie du 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 l'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.

B. Berçot a participé à la mise à jour des recommandations françaises pour la prise en charge du VIH, des Hépatites et des Infections sexuellement transmissibles, expertise *N. gonorrhoeae* et *Heamophilus ducreyi*.

B. Berçot a participé à la relecture du Protocole de coopération intitulé « Consultation de santé sexuelle par la Sage-Femme en Centres gratuits d'information, de dépistage et de diagnostic (CeGIDD), centre de santé sexuelle (ex-CPEF) et centres de santé sexuelle communautaire (CSSC), en lieu et place du médecin ».

### 5.2.3 Laboratoire APHP Cochin

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

N. Dupin est expert auprès du Conseil National Professionnel de Dermatologie pour toutes les questions portant sur les IST.

N. Dupin participe en tant qu'expert au groupe « diagnostic biologique des IST » pour la mise à jour des recommandations françaises pour la prise en charge du VIH, des hépatites et des Infections sexuellement transmissibles.

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

### 5.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

#### C. Bébéar

- Interview France Info 26 janvier 2022, sujet : augmentation des IST en 2020 et 2021.
- Interview Biologistes Info, diagnostic des IST 2022.
- Interview AFP 15 octobre 2022 : Infections sexuellement transmissibles : une menace silencieuse. Repris dans de nombreux journaux régionaux et nationaux.

#### B. de Barbeyrac et O. Peuchant

- Dépêche APM News, "La doxycycline plus efficace que l'azithromycine contre les infections rectales à Chlamydia chez les femmes, <https://www.apmnews.com/depeche/118848/382388/la-doxycycline-plus-efficace-que-l-azithromycine-contre-les-infections-rectales-a-chlamydia-chez-les-femmes>, DÉPÊCHE - Jeudi 12 mai 2022 - 13:15
- Journal Le Quotidien du Médecin, article sur l'augmentation des infections à Chlamydia, 2019.

#### C. Cazanave

- Twitter : diffusion de messages pédagogiques sur les IST (compte personnel et CHU de Bordeaux)

### 5.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

#### B. Berçot

- Interview AFP 15 octobre 2022 : Infections sexuellement transmissibles : une menace silencieuse. Repris dans de nombreux journaux régionaux et nationaux.
- Communiqué de presse ANRS Doxyvac : efficacité d'un vaccin contre le méningocoque B et d'un antibiotique préventif pour réduire le risque d'infections sexuellement transmissibles. Paris, le 24 octobre 2022.

## 6 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CN

---

### 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 Projets de recherche communs

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

Le projet **Remind / Memodépistages** a visé à promouvoir le dépistage répété du VIH chez les HSH en France. Cette étude s'adressait aux HSH des régions Ile de France, Lyon, Montpellier et Marseille 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 IST bactériennes à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et de la syphilis a été proposé à la baseline (kit1) et à M12 (kit2).

Le screening des échantillons pour la recherche de *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* a été effectué sur les 3 sites (anal, oral et urines) au LA-CNR des IST bactériennes à l'hôpital St Louis. Sur les 1930 participants, **13,2% des sujets avaient au moins un site positif à *C. trachomatis* (CT) ou à gonocoque (NG)**. La prévalence de CT et NG sur l'ensemble des sites était de 17,1% (2,2% dans les échantillons d'urines, 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 CT et NG extragénitale étaient un âge inférieur à 30 ans et le fait d'avoir eu 10 partenaires ou plus au cours des six derniers mois ( $p < 0,001$ ).

Dans le cadre de Remind, le CNR a collaboré à l'expertise des échantillons CT- NG et *M. genitalium*-positifs et à la recherche de résistance aux antibiotiques. Sur les 241 échantillons **CT-positifs** (202 au kit 1 ; 39 au kit2), seulement **3 correspondaient à une souche de type L**. Sur les 284 prélèvements **NG-positifs**, la résistance aux fluoroquinolones a été recherchée par la trousse Resistance Plus GC (SpeedX) et **55,6% hébergeaient une souche résistante aux quinolones**. De plus, 2/76 (2,6%) hébergeaient une souche de sensibilité diminuée aux C3G car 2 allèles mosaïques *penA-34.001* et *penA-34.005* ont été retrouvés.

**Pour *M. genitalium*** uniquement exploré pour le kit2, 31 échantillons étaient positifs (16 anus, 9 urines et 6 gorges) collectés de 28 patients. Pour les 15 échantillons qui ont pu être amplifiés, 13/15 (86,7%) hébergeaient une souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides. Pour les 30 échantillons amplifiés par la PCR de la QRDR du gène *parC*, 1/30 (3,4%) hébergeait une souche résistante aux fluoroquinolones.

En conclusion, 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**. Ce mode d'investigation permet de récupérer des patients habitants dans des villes de moyenne importance qui échappent au large dépistage. Cette étude a fait l'objet de publication dans **Int J STD AIDS en 2022** (Rahib D, Berçot B, Delagreverie H, et al. Int J STD AIDS 2022;33(4):355-62).

### 6.1.1.2 Etude ANRS DOXYVAC

L'étude DOXYVAC ANRS174, étude ancillaire de l'étude Prévenir, est un essai clinique porté par l'ANRS en collaboration avec le CNR des IST bactériennes (co-investigatrice Beatrice Bercot), l'Inserm et l'Institut Pasteur sous la coordination de Jean-Michel Molina. Il s'agit d'une **étude multicentrique, randomisée, qui vise à une Prévention combinée des Infections Sexuellement Transmissibles (IST) chez les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes et utilisant le TDF/FTC par voie orale pour la prophylaxie préexposition au VIH (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.

Les patients sont suivis pendant 2 ans, avec une consultation de dépistage oro-pharyngé, rectal et urinaire tous les trimestres soit 9 points (inclusion, M3, M6, M9, M12, M15, M18, M21 et M24) pour la recherche des IST à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et de portage de bactéries multirésistantes. La syphilis est évaluée par la sérologie et l'exploration des ulcérations génitales. Des consultations supplémentaires ont été prévues en cas de suspicion d'infection ou de prise de risque. 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.

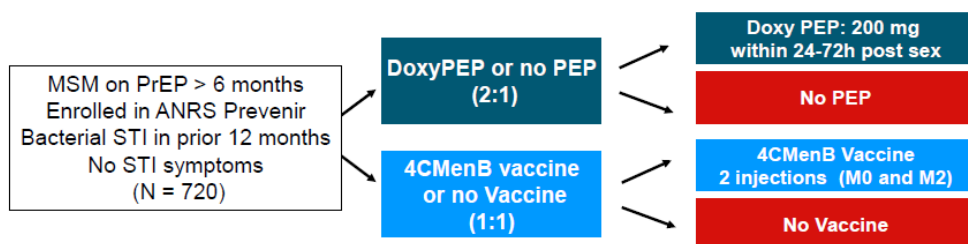


Figure. Design de l'étude ANRSDoxyvac

L'étude a démarré en janvier 2021 et la cohorte devait être composée de 720 patients. Début 2022, d'autres équipes internationales similaires ont rapporté des résultats significatifs pour l'objectif principal. Cette observation nous a fait regarder plus précocement les résultats déjà obtenu à 1an ½ du démarrage en septembre 2022 alors que la cohorte était composée de 552 patients. En octobre 2022, dans un communiqué ANRS, les responsables scientifiques et le promoteur décident d'interrompre l'étude car les objectifs primaires ont été atteints et recommandent la mise à disposition de la doxycycline et du vaccin contre le méningocoque à tous les participants de l'essai.

Les résultats préliminaires de l'étude qui rapportent les données cumulées et analysés par l'équipe de Dominique Costagliola (INSERM UMPC Paris) en août 2022 ont été présentés lors **d'une communication orale à un congrès international sur les rétrovirus et les infections opportunistes du 19 au 22 février 2023** (CROI – Seattle).

Le suivi des participants va se poursuivre jusqu'à la fin de l'année 2023 avec tous les participants qui seront vaccinés et auront une prophylaxie par doxycycline afin d'observer l'efficacité sur le moyen terme de ces stratégies de prévention et l'impact sur le microbiote.

Les résultats consolidés seront présentés lors du prochain rapport.

Concernant les souches de gonocoques explorées, nous pouvons observer des résultats préliminaires sur les 65 souches de gonocoques disponibles en cultures pour l'étude phénotypique et génotypique. Les CMI de la tétracycline classaient 100% de ces souches résistantes (CMI > 0,5 mg/L). Les CMI de la doxycycline et de la tétracycline étaient similaires à une dilution près. Aucune souche n'était résistante à la ceftriaxone

Pour *C. trachomatis*, un très faible % de souches L était décrit et aucune mutation n'était observée au niveau de la cible de fixation des cyclines (ARNr 16S). L'analyse de l'antibiorésistance de *M. genitalium* est en cours.

Par ailleurs, pour cette étude, d'autres CNR ont été contactés pour l'analyse des cohortes de souches hors IST, les

souches *N. meningitidis* seront expertisées au **CNR des méningocoques** à l'institut Pasteur (M. Taha, Paris). Un contact a été pris avec le CNR à l'Institut des Agents Infectieux du (Centre Hospitalier de la Croix Rousse, Lyon). La sous-étude du microbiote et des bactéries multirésistantes dans les prélèvements rectaux fera l'objet d'une étude ultérieurement.

### 6.1.1.3 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- DepIST-H (France-Togo)

Ce projet ANRS est coordonné par Charlotte Charpentier, Didier Ekvoueri et 8 équipes dont le CNR des IST bactériennes (Bordeaux, Saint-Louis). Le financement ANRS prévoit pour le CNR IST le cout des réactifs. **Les objectifs du projet** concernant le CNR IST 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 **génovars 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 cents HSH sont recrutés et auront des visites avec réalisation de prélèvements à l'inclusion (M0) puis à M12 et à M24. Le recrutement, très impacté par la crise sanitaire COVID-19 est terminé.

Les échantillons M0 ont été envoyés au CNR IST pour analyse. 39% et 44% des échantillons sont infectés respectivement par *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*. Le typage des 95 échantillons *C. trachomatis*-positif n'a retrouvé qu'une souche L chez ces sujets majoritairement asymptomatiques. La recherche de *M. genitalium* chez les 8 patients présentant des symptômes d'urétrite n'a retrouvé qu'un patient infecté.

Pour les 85 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae*, une partie des échantillons n'était pas exploitable pour l'analyse car la quantité d'ADN était faible. Pour la résistance aux quinolones, 100% (75/75) des échantillons présentaient une mutation Sérine 91 de la protéine GyrA, indicateur d'un haut niveau de résistance à la ciprofloxacine. Le gène *tet(M)* plasmidique lié à un haut niveau de résistance aux cyclines a été retrouvé chez 63,6% (52/75) des échantillons.

Un gène *penA* a pu être amplifié et séquencé et 62 échantillons ont été obtenus en utilisant la technologie Nanopore. Les résultats sont décrits dans le Tableau ci-dessous et plusieurs mosaïques sont retrouvées.

**Tableau. Variants mosaïques et non mosaïques retrouvés dans l'étude ANRS DepIST-H**

Allèles	Nombre	%	Type	Mutation
<i>penA2.001-2</i>	25	40,3%	Non Mosaïque	A517G
<i>penA5.002</i>	3	4,8%	Non Mosaïque	A517G, G543S
<i>penA12.006</i>	19	30,6%	Non Mosaïque	A517G
<i>penA14.001</i>	4	6,5%	Non Mosaïque	A517G
<i>penA19.001</i>	1	1,6%	Non Mosaïque	A517G
<i>penA59.001</i>	1	1,6%	Mosaïque	A311V, N513Y
<i>penA131.001</i>	1	1,6%	Mosaïque	
<i>penA208.001</i>	1	1,6%	Non Mosaïque	A517G
<i>penA254.001</i>	7	11,3%	Mosaïque	N513Y



## 6.1.2 Laboratoire CHU de Bordeaux

### 6.1.2.1 PHRCN Chlazidoxy et ses études ancillaires

**Etude randomisée en double aveugle, multicentrique comparant l'efficacité de l'azithromycine et de la doxycycline pour le traitement de l'infection anorectale à *C. trachomatis* concomitante à une infection vaginale (PHRC national Chlazidoxy).**

#### Contexte

Les infections anorectales à *C. trachomatis* sont communes chez la femme, mais alors que l'efficacité de la doxycycline et de l'azithromycine sont comparables dans le traitement de l'infection urogénitale, leur efficacité dans l'infection anorectale reste mal connue.

#### Méthodes

Dans cet essai de supériorité multicentrique, ouvert, randomisé et contrôlé avec deux groupes parallèles de traitement, les participantes ont été recrutées dans quatre centres de dépistage des IST (CeGIDD de Bordeaux, Nantes, Marseille et Paris) et trois centres d'interruption volontaire de grossesse (Bordeaux, Tours, Lille) en France. Nous avons inclus des femmes ayant un résultat positif à *C. trachomatis* sur un prélèvement vaginal et qui ont accepté de fournir un auto-prélèvement anorectal pour la détection de *C. trachomatis*. Les participantes ont été randomisées 1/1 pour un traitement par voie orale soit d'azithromycine (1 g en dose unique) soit de doxycycline (100 mg matin et soir au cours du repas pendant 7 jours). Le groupe de traitement était masqué pour tout le personnel du laboratoire qui effectuait les analyses bactériologiques, mais pas pour les participantes ni pour les investigateurs. Le critère de jugement principal était le taux de guérison microbiologique au niveau anorectal, défini comme un résultat négatif à *C. trachomatis* par une technique d'amplification des acides nucléiques (TAAN) dans les échantillons anorectaux six semaines après le début du traitement parmi les femmes qui avaient un écouvillon anorectal positif à *C. trachomatis* par TAAN à l'inclusion. L'analyse principale a été menée dans la population en intention de traiter modifiée (m-ITT), avec imputation multiple. La population m-ITT comprenait toutes les femmes qui ont été randomisées et qui avaient un résultat TAAN positif à *C. trachomatis* au niveau vaginal et anorectal à l'inclusion. Nous avons également réalisé cette analyse dans la population dite « cas complet », qui comportait toutes les femmes de la population m-ITT restreinte à celles qui avaient un résultat anal par TAAN disponible à 6 semaines (résultat ininterprétable exclu), ainsi que dans la population per-protocole, regroupant toutes les femmes de la population cas complet qui ont suivi strictement le protocole.

#### Résultats

Entre le 19 octobre 2018 et le 17 avril 2020, nous avons inclus 460 participantes (230 dans chaque groupe). Il n'existait pas de différence entre les deux bras de traitement des population randomisée (n= 456), en intention de traitement (n = 357), et cas complet (n = 298) concernant les données démographiques (âge, pays de naissance, statut marital, niveau d'éducation et situation professionnelle), les antécédents d'IST, le comportement sexuel, excepté les symptômes cliniques (les femmes dans le bras azithromycine ont plus de signes vaginaux). Deux tiers des femmes ne rapportent pas de symptômes anaux, et n'ont pas de rapports anaux. Cependant, 80% ont des rapports oraux. Les femmes en centre d'orthogénie présentent moins de facteurs de risque que les femmes consultant les CeGIDD.

Parmi elles, 357 (78%) avaient un résultat de TAAN anorectal positif à *C. trachomatis* à l'inclusion ; 184 étaient dans le groupe doxycycline et 173 dans le groupe azithromycine (population m-ITT). Une guérison anorectale microbiologique a été obtenue chez 147 des 156 participants (94%) du groupe doxycycline (28 données manquantes) contre 120 des 142 participants (85%) du groupe azithromycine (31 données manquantes) (proportion de différence ajustée, -9,2 % (IC à 95 % -12,8- 5,6); odd ratio ajusté, 0,43 (IC à 95% 0,21 à 0,91) ; p = 0, 0274). Ces résultats ont été confirmés par l'analyse des populations cas complet et per-protocole.

A la visite de suivi à 6 semaines, 11 patientes du groupe azithromycine et 5 patientes du groupe doxycycline présentaient un écouvillon anorectal positif à *C. trachomatis* et un écouvillon vaginal négatif à *C. trachomatis*. Ces patientes sont revenues 2,5 mois plus tard et ont fourni à nouveau un écouvillon vaginal et anal pour recherche de *C. trachomatis*. Parmi les 5 patientes du groupe doxycycline, 4 ont fait leur suivi et étaient négatives à *C. trachomatis* dans l'écouvillon anal et vaginal. Parmi les 11 patientes du groupe azithromycine, 2 étaient devenues négatives au niveau anal, 5 présentaient une persistance de la bactérie au niveau anal uniquement, une a été contaminée avec une nouvelle souche (génovar différent de celui de la visite à S6), et 1 patiente s'est probablement recontaminée au niveau vaginal avec la souche anale présente à S6 (même génovar aux deux visites de suivi).

### Conclusion

Le taux de guérison anorectale microbiologique était significativement plus faible chez les femmes ayant reçu une dose unique d'azithromycine que chez celles ayant reçu un traitement de doxycycline d'une semaine. Cela suggère que **la doxycycline devrait être le traitement de première intention de l'infection à *C. trachomatis* chez les femmes.**

Cette étude est enregistrée sur ClinicalTrials.gov sous le numéro NCT03532464. L'essai Chlazidoxy a été soutenu par une subvention du ministère français de la Santé (numéro de référence PHRC-16-0127).

Cette étude est parue dans le **Lancet Infect Dis, May 2022.**

### **Etude ancillaire de Chlazidoxy : comparaison de l'effet de l'azithromycine et de la doxycycline sur le microbiote vaginal des femmes présentant une infection urogénitale à *C. trachomatis***

Les communautés bactériennes dysbiotiques du vagin sont associées à l'incidence de *C. trachomatis*. Nous avons comparé les effets de l'azithromycine et de la doxycycline sur le microbiote vaginal au sein de la cohorte Chlazidoxy, composée de femmes présentant une infection urogénitale à *C. trachomatis* et assignées de manière aléatoire (1 /1) à l'un de ces traitements (essai Chlazidoxy).

Nous avons analysé les échantillons vaginaux de 284 femmes (135 dans le groupe azithromycine et 149 dans le groupe doxycycline) collectés à l'inclusion et 6 semaines après le début du traitement. Le microbiote vaginal a été caractérisé par le séquençage du gène de l'ARNr 16S et classé en types d'état de communauté (CST).

L'analyse des résultats a montré que les participantes ne différaient pas en termes de caractéristiques sociodémographiques, clinicobiologiques et de composition du microbiote vaginal, excepté que les femmes du groupe azithromycine ont rapporté davantage de symptômes urogénitaux et présentaient une plus grande abondance de *Escherichia coli*. Soixante-quinze pour cent des femmes avaient un microbiote à haut risque (CST-III ou -IV). Après traitement, aucune différence significative dans l'évolution de la diversité du microbiote vaginal, du CST ou du phylotype n'a été mise en évidence entre les deux groupes. La comparaison transversale 6 semaines après le traitement a montré que plusieurs phylotypes étaient différenciellement abondants à 6 semaines, mais cette différence ne se reflétait pas au niveau du CST ou de la diversité.

**En conclusion**, chez les femmes présentant une infection urogénitale à *C. trachomatis*, le microbiote vaginal ne semble pas être affecté par l'azithromycine ou la doxycycline 6 semaines après le traitement. Comme le microbiote vaginal reste sensible à l'infection par *C. trachomatis* (avec CST-III ou -IV) après le traitement, les femmes restent exposées au risque de réinfection, soit en raison de leur comportement sexuel, soit en raison d'une infection anorectale à *C. trachomatis* non traitée.

Les résultats de ce travail viennent d'être acceptés pour publication dans **Clin Microbiol Infect.**

### **Etude ancillaire de Chlazidoxy : *Mycoplasma genitalium* : prévalence et résistance aux macrolides et fluoroquinolones au sein de la cohorte Chlazidoxy**

La cohorte Chlazidoxy inclue des femmes ayant une infection vaginale à *C. trachomatis*. Dans cette étude, un auto-prélèvement anal a été recueilli à l'inclusion pour la détection de *C. trachomatis*, puis les patientes ont été traitées par azithromycine 1gr dose unique ou doxycycline 100 mg par jour pendant 7 jours. Si l'écouvillon anal était positif à *C. trachomatis*, alors les participantes revenaient 6 semaines après le début du traitement et un auto-écouvillon vaginal et anal étaient à nouveau réalisés.

Nous nous sommes intéressés à la détection de *M. genitalium* au sein de la cohorte Chlazidoxy. Pour chaque échantillon positif à *M. genitalium*, nous avons déterminé la charge bactérienne et recherché la présence de mutations associées à la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones.

Dans un premier temps, nous avons étudié la prévalence de l'infection au sein des échantillons vaginaux et ano-rectaux prélevés à l'inclusion. Nous avons également comparé les données démographiques, cliniques et biologiques des patientes positives versus les patientes négatives à *M. genitalium*.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'impact du traitement par azithromycine versus doxycycline sur *M. genitalium*.

#### **Matériels et méthodes**

L'ADN des échantillons vaginaux et ano-rectaux de chaque patiente a été extrait. La recherche et la quantification de *M. genitalium* a été réalisée par PCR en temps réel quantitative « maison » ciblant le gène *mgpB*. Pour l'ensemble des échantillons positifs à *M. genitalium*, le séquençage des gènes ARNr 23S et *parC* a permis d'identifier les mutations

respectivement associées à la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones. Nous avons également réalisé le typage moléculaire de *M. genitalium*.

## Résultats

### - A l'inclusion

Au total, 852 échantillons (426 vaginaux et 426 ano-rectaux) correspondant à 426 participantes ont été analysés. *M. genitalium* a été détecté dans 134 échantillons correspondant à 97 participantes. *M. genitalium* était présent au niveau vaginal et anal pour 37 participantes (38,1%), uniquement au niveau vaginal pour 42 participantes (43,3%) et uniquement au niveau anal pour 18 participantes (18,5%). Il n'existe pas de différence concernant les données démographiques, clinico-biologiques et le comportement sexuel des participantes positives à *M. genitalium* et celles négatives. La charge bactérienne était significativement plus importante dans les échantillons vaginaux par rapport aux échantillons anaux ( $p < 0,05$ , test de Wilcoxon). Parmi les 97 participantes positives à *M. genitalium*, la prévalence de la résistance aux macrolides était de 16,7% (12/97), la mutation A2059G étant la plus fréquente. A noter que 6 participantes présentaient une souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides à la fois au niveau anal et vaginal. La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 9,1% (6/66) liée à la mutation Ser83Ile dans tous les cas sauf un.

### - A la semaine 6

Un écouvillon vaginal et un anal étaient disponibles à l'inclusion et à la semaine 6 pour 279 participantes, 131 dans le groupe azithromycine et 148 dans le groupe doxycycline. Il n'existait pas de différence concernant les données démographiques (âge, pays de naissance, statut marital, niveau d'éducation, situation professionnelle), les antécédents d'IST et le comportement sexuel entre ces deux groupes.

A l'inclusion, 25 des 131 (19,1%, 25/131) participantes du groupe azithromycine et 23 des 148 (15,5%, 25/148) participantes du groupe doxycycline étaient positives à *M. genitalium*. Dans chaque groupe, respectivement 11 et 7 participantes étaient positives à *M. genitalium* à la fois au niveau vaginal et anal, 10 et 11 étaient positives uniquement au niveau vaginal, et 4 et 5 étaient positives uniquement au niveau anal. La charge bactérienne était significativement plus élevée au niveau vaginal qu'au niveau anal ( $p < 0,001$ , test de Wilcoxon) dans chaque groupe. L'amplification et le séquençage de l'ARNr 23S a été réalisé avec succès pour 20 participantes dans le groupe azithromycine et 17 pour le groupe doxycycline. La prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides était de 10% (2/20) dans le groupe azithromycine et 23,5% (4/17) dans le groupe doxycycline ( $p = 0,38$ ).

Six semaines après traitement, les échantillons vaginaux et anaux collectés ont été analysés.

Pour les 25 participantes du groupe azithromycine, les résultats ont montré :

- Une guérison microbiologique pour 21 participantes (84%)
- Un échec thérapeutique pour 2 participantes qui étaient infectées avec une souche de *M. genitalium* résistant aux macrolides à l'inclusion
- Un échec thérapeutique ou une nouvelle infection pour deux participantes

Pour les 23 participantes du groupe doxycycline, les résultats ont montré :

- Une guérison microbiologique pour 15 participantes (62,5%)
- Un échec thérapeutique pour 6 participantes
- Une nouvelle infection pour une participante
- Un échec thérapeutique ou une nouvelle infection pour trois participantes

Il n'existe pas de différence significative en termes de guérison microbiologique entre le groupe azithromycine et le groupe doxycycline ( $p = 0,19$ ).

Nous avons également calculé l'incidence de l'infection à *M. genitalium* à la semaine 6. Celle-ci était de 15,1% (16/106) dans le groupe azithromycine et de 8% (10/125) dans le groupe doxycycline ( $p = 0,15$ ). Dans le groupe azithromycine, une participante a été infectée avec une souche présentant la mutation A2058G. Dans chaque groupe, deux participantes ont été infectées avec une double population de *M. genitalium* sensible et résistant aux macrolides.

Ce travail a fait l'objet de la thèse de Docteur en Pharmacie et du mémoire de DES de Biologie Médicale d'Alexandre Ferron sous la direction d'Olivia Peuchant. Il a fait l'objet d'une présentation orale à la **RICAI 2021** et un manuscrit est en cours de rédaction.

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

### Objectif

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 HSH sous PrEP ou HIV-positif et les femmes**. Alors que la méthode de typage *mgpB* a été souvent utilisée chez les HSH infectés par *M. genitalium*, les données de typage sont limitées chez les femmes infectées.

### Méthodes et résultats

Les populations étudiées seront, d'une part, une cohorte d'HSH (86,2% sous PrEP, 13,8% séropositifs pour le VIH) et, dans une grande cohorte de femmes 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 et 2019.

Le type du gène *mgpB* a été déterminé dans 374 échantillons provenant de 305 femmes et 65 HSH. Les mutations associées à la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones ont été recherchées dans les gènes 23SrRNA, *parC* et *gyrA*.

La construction phylogénétique *mgpB* a révélé trois grands clusters qui diffèrent selon les pratiques sexuelles et l'origine géographique des patients (Figure ci-dessous). La prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones était significativement plus élevée chez les HSH que chez les femmes (95,4% vs 14,1% et 30,6% vs 7,2% respectivement,  $p < 0,001$ ). **La diffusion de la résistance aux macrolides était polyclonale dans les deux populations mais une diffusion clonale de deux types (ST108 et ST159) présentant une double résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones a été observée chez les utilisateurs de la PrEP en lien avec une pression antibiotique élevée et une connectivité dense dans cette population.**

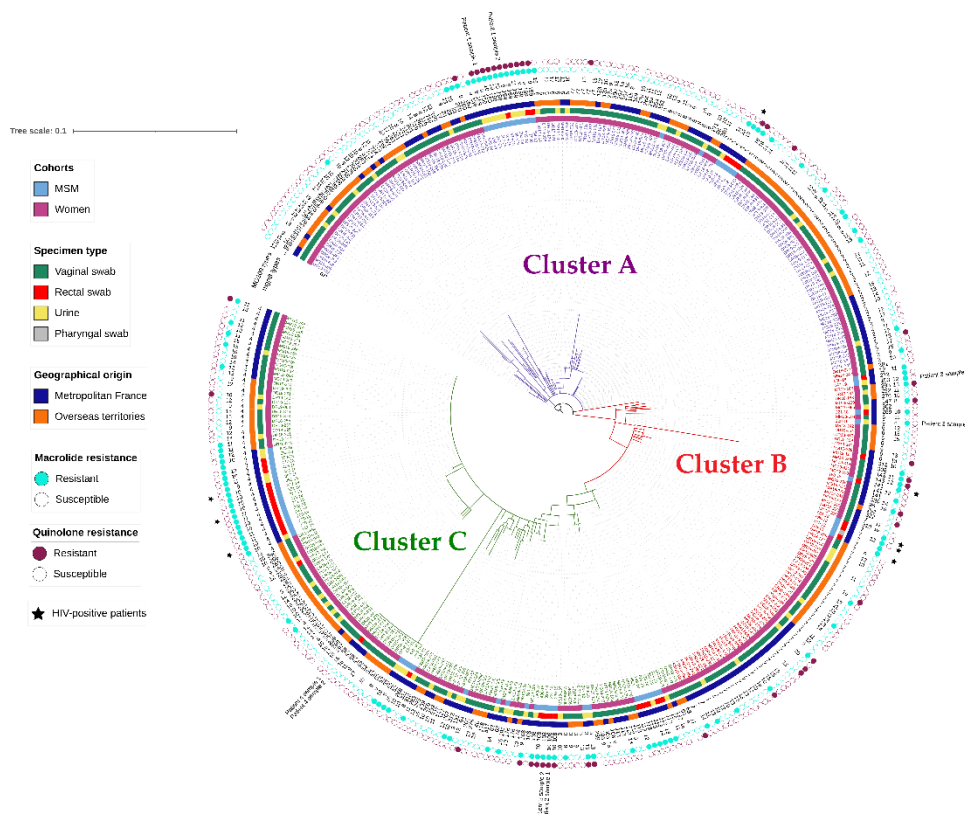


Figure. Arbre "Maximum likelihood" basé sur le type *mgpB* de 374 *M. genitalium* collectés auprès de 305 femmes and de 65 HSH. Les échantillons multiples ou séquentiels de 4 patients sont notés. Les patients HIV-positifs sont identifiés par une étoile.

Ce travail a fait l'objet du Master 2 Recherche de Marion Helary en 2020/21, du doctorat de Jennifer Guiraud (en cours) et a été présenté à l'ECCMID 2022 et publié dans *Microorganisms* en 2022.

### 6.1.2.3 Etude prospective, monocentrique, interventionnelle, sur la clairance vaginale spontanée de *M. genitalium* (MYCOCLEAR) (cf annexe 3)

### 6.1.2.4 Prévalence de *M. penetrans* dans les échantillons urogénitaux masculins reçus pour détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* au CHU de Bordeaux

*Mycoplasma penetrans* est un mycoplasme génital découvert dans les années 1990. Les premières études ont suggéré que cette bactérie était associée aux patients VIH+ et à la progression vers le SIDA en utilisant la détection indirecte d'anticorps anti-*M. penetrans* dans les échantillons de sérum. Après le développement de PCR spécifiques de *M. penetrans*, la prévalence de *M. penetrans* dans les échantillons d'urine de premier jet d'hommes VIH+ a été estimée entre 1,4 % et 2,5 %. Deux études ont rapporté une prévalence plus élevée de *M. penetrans* chez les patients VIH+ par rapport aux individus séronégatifs, mais une seule a montré une différence de prévalence significative. Récemment, *M. penetrans* a été associé aux urétrites non gonococciques (NGU) chez des hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH) mais pas chez des hommes ayant des rapports sexuels avec des femmes (HSF), et aucune information sur le statut VIH n'était disponible.

Pour évaluer la prévalence de *M. penetrans* en relation avec le statut VIH et le comportement sexuel, nous avons recherché *M. penetrans* par PCR en temps réel chez des hommes dépistés pour *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* au CHU de Bordeaux.

Entre le 1er février et le 31 mai 2021, tous les écouvillonnages urétraux et d'urines de 1<sup>er</sup> jet masculins soumis pour détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* par PCR au service de bactériologie du CHU de Bordeaux ont été systématiquement et prospectivement recueillis. Les données cliniques, le statut VIH, l'orientation sexuelle et les résultats de détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* obtenus avec le kit Cobas CT/NG (Roche Diagnostics) ont été collectés avant anonymisation. Une PCR en temps réel ciblant le gène de l'ARNr 16S de *M. penetrans* a été réalisée. La détection de *M. genitalium* et de *T. vaginalis* a été effectuée dans les échantillons positifs à *M. penetrans* à l'aide du kit Cobas MG/TV (Roche Diagnostics).

Un total de 444 échantillons (436 urines de premier jet et 8 écouvillons urétraux) a été collectés chez 429 hommes. Parmi les hommes inclus, 68,8% (295/429) ont consulté le service des maladies infectieuses, 17,9% (77/429) la permanence d'accès aux soins de santé (PASS), 7,9% (34/429) le centre pénitentiaire et 3,0 % (13/429) le service des urgences. Dans la population étudiée, 34 hommes (7,9%) avaient des symptômes urogénitaux et parmi eux, 18 (4,2%) présentant une dysurie et/ou un écoulement urétral et ont reçu un diagnostic d'urétrite. Parmi les 305 hommes pour lesquels des informations sur l'orientation sexuelle étaient disponibles, 255 (83,6%) étaient des HSH et parmi ces 255 HSH, 128 (50,2%) étaient séropositifs au VIH. Parmi les 419 hommes pour lesquels le statut VIH était disponible, 36,3% (152/419) étaient séropositifs et parmi ces 152 patients séropositifs, 128 (84,2%) étaient des HSH. Neuf échantillons d'urine provenant de neuf patients étaient positifs à *M. penetrans*, soit une **prévalence de l'infection à *M. penetrans* de 2,1% (9/429, IC95%, 1,1-3,9) dans la population étudiée**. Tous les patients positifs à *M. penetrans* étaient des HSH. La prévalence de l'infection à *M. penetrans* était de 3,5% chez les HSH (9/255, IC95%, 1,9-6,6), contre zéro chez les HSF. **La prévalence de l'infection à *M. penetrans* chez les patients VIH+ était de 5,3% (8/152, IC95%, 2,7-10,0), significativement plus élevée que 0,4% (1/267, IC95%, 0,1-2,1) chez les patients séronégatifs** ( $p=0,0016$ , test exact de Fisher). Les huit patients VIH+ et positifs pour *M. penetrans* avaient consulté pour le suivi de leur infection par le VIH, tandis que le patient séronégatif et positif à *M. penetrans* avait consulté pour un suivi de PrEP. Tous les patients positifs pour *M. penetrans* étaient asymptomatiques et tous étaient négatifs pour *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis*.

En conclusion, cette étude a trouvé une prévalence plus élevée de l'infection à *M. penetrans* dans les échantillons urogénitaux de patients VIH+ en utilisant une PCR spécifique, ce qui confirme d'anciennes études qui utilisaient la détection indirecte d'anticorps anti-*M. penetrans* dans le sérum. La question est de savoir si *M. penetrans* pourrait agir en tant que « badaud », circulant plus fréquemment chez les HSH en lien avec leurs pratiques sexuelles, et plus spécifiquement chez les patients HSH séropositifs pour le VIH en raison d'une susceptibilité plus élevée pour une raison encore inconnue. Cette question devra être évaluée dans des études de plus grande envergure incluant une plus grande proportion de patients symptomatiques et un suivi clinique.

Cette étude a été présentée sous forme de poster aux congrès de la **RICAI 2022** et sera présentée au congrès de **l'ECCMID à Copenhague en avril 2023**. Une publication vient d'être acceptée dans **Open Forum Infect Dis**.

### 6.1.2.5 Evaluation des pratiques professionnelles des sage-femmes libérales sur le dépistage de l'infection à *C. trachomatis*

Les recommandations HAS de 2018 sur le dépistage de l'infection à *C. trachomatis* mentionne que les sage-femmes peuvent dépister cette infection lors des consultations gynécologiques et obstétricales ; elles jouent donc un rôle majeur dans ce dépistage. Nous avons évalué l'application des recommandations actuelles de la HAS concernant le dépistage de l'infection à *C. trachomatis* par les sage-femmes libérales.

Pour cela, nous avons réalisé une étude quantitative via un questionnaire électronique comportant 26 questions auprès des sage-femmes libérales de France métropolitaine. Ce questionnaire a été envoyé à un tiers des sage-femmes libérales de chaque région, soit 2382 professionnelles, sur une période de 2 mois. Seules les sage-femmes réalisant des consultations de gynécologie et exerçant en libéral exclusivement ou en libéral et hospitalier ont été incluses dans cette étude.

Au total, nous avons recueilli 772 questionnaires, dont 741 respectaient les critères d'inclusion. L'analyse des résultats montre que le dépistage opportuniste systématique de l'infection à *C. trachomatis* chez les femmes de moins de 25 ans est proposé par 54,4% des sage-femmes lors des consultations gynécologiques mais seulement par 24,8% des professionnelles lors des consultations obstétricales ( $p < 0,001$ ). Conformément aux recommandations, le dépistage opportuniste ciblé est proposé aux femmes de plus de 25 ans présentant des facteurs de risque par 85,5% des sage-femmes lors des consultations gynécologiques et par seulement 57% des professionnelles lors des consultations obstétricales.

Lors d'un test positif à *C. trachomatis*, les recommandations ne sont pas correctement appliquées, car 64% des sage-femmes proposent systématiquement un test de contrôle post-traitement alors qu'il n'est pas recommandé ; seuls 4,3% suivent les recommandations en ne le proposant qu'aux femmes enceintes. Un nouveau dépistage systématique dans les 3 à 6 mois après l'infection n'est proposé que par 21,4% des sage-femmes. Enfin, 57,8% des professionnelles interrogées ont modifié leurs pratiques de dépistage avec ces nouvelles recommandations en proposant plus systématiquement un dépistage chez les femmes de 15 à 25 ans. A noter que les professionnelles ayant un DU de gynécologie connaissent mieux ces recommandations actuelles de dépistage.

Ces résultats montrent que le dépistage de l'infection à *C. trachomatis* par les sage-femmes libérales peut être amélioré car une part importante d'entre elles ne connaissent pas les recommandations actuelles, en particulier chez les femmes enceintes de moins de 25 ans et lors de la prise en charge d'un test positif à *C. trachomatis*. Il est important que ces recommandations soient connues de toutes, d'autant plus que la loi RIST permet une prise en charge globale de l'infection chez la patiente et son partenaire. Pour favoriser la diffusion de ces recommandations, des formations pourraient être organisées et l'utilisation d'applications telles que Formagyn et Ireco encouragée.

Ce travail a été réalisé par Pauline Elegoet dans le cadre de son mémoire de fin d'étude de sage-femme, sous la direction d'Olivia Peuchant. Les résultats de ce travail ont été sélectionnés pour présentation lors du **Grand prix d'Evian des Sage-Femmes, octobre 2022**.

### 6.1.2.6 Etude de l'expression des ICEs de *M. hominis*

Ce projet visant à étudier le **niveau d'expression des éléments intégratifs et conjugatifs (ICEs) de *M. hominis*** en fonctions de différentes conditions environnementales est détaillé dans le programme d'activités pour les années suivantes, au paragraphe 8.4.2.4.

Les premiers travaux ont fait l'objet du Master 2 recherche 2022 et de la thèse de Pharmacie d'Alicia Silvant soutenue en octobre 2022 sous la direction de Sabine Pereyre.

## 6.1.3 Laboratoire APHP Saint-Louis

### 6.1.3.1 Evaluation de molécules dérivées de la gatifloxacine – QUIN (Projet en partenariat avec Sorbonne Université – Hôpital Pitié-Salpêtrière – CNR Mycobactéries)

Ce projet rentre dans le cadre de la **synthèse de nouvelles fluoroquinolones** en collaboration avec l'équipe de G. Anquetin (Faculté des Sciences, Université Paris 5) guidée par les données de relation structure-activité obtenues à travers des travaux menés au CNR-MyRMA : brevet européen (n°EP 14 173 040.8) 2014, brevet international (n° PCT/EP2015/063752) 2015. Grâce à un financement d'un programme de maturation par la SATT Lutech, l'évaluation de ces composés actifs a été menée vis-à-vis du gonocoque. Le CNR IST expertise gonocoque a participé à ce projet en apportant une collection de 13 souches de référence.

L'ensemble des résultats de cette étude a été publiée en 2022 dans **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Sadowski, et al. Lipophilic quinolone derivatives: Synthesis and in vitro antibacterial evaluation.

### 6.1.3.2 Exploration moléculaire de gonocoques résistants à l'azithromycine en France

Depuis 2017, de nombreux laboratoires français participent aux enquêtes annuelles nationales de surveillance de la résistance du gonocoque aux antibiotiques ENGON menées par le Centre National de Référence des IST bactériennes. Dans ce cadre, la résistance du gonocoque à l'azithromycine est en augmentation et tend à se rapprocher de 10% en 2020 en France. Le pourcentage de souches résistantes à haut niveau de résistance à l'azithromycine (CMI  $\geq 16$  mg/l) a atteint 0,71% en 2020.

L'objectif de notre étude était d'explorer les mutations responsables de la résistance à haut niveau chez le gonocoque en ciblant le gène codant pour l'ARNr 23S chez les souches de gonocoque isolées entre 2018 et 2021.

Les souches ont été séquencées par séquençage haut débit (NGS) et analysées par le pipeline NG-AR2T (*Neisseria gonorrhoeae* genome Assembly, Resistome, Typing and Tree). Vingt-une souches isolées entre 2018-2021 qui avaient une CMI AZM  $\geq 4$  mg/l et/ou une mutation dans l'ARNr 23S ont été incluses dans cette étude. En parallèle, le gène codant l'ARNr 23S a été amplifié et séquencé par séquençage Sanger.

Sur les 21 souches étudiées, 16/21 (76,2%) possédaient une mutation du gène *rrl*. L'exploration des 5 isolats hautement résistants (CMI  $\geq 256$  mg/L) retrouvait les mutations A2059G (4/5) ou A2058G (1/5) dans l'ARNr 23S. Pour les 16 autres isolats CMI  $< 256$  mg/L, la mutation C2611T de l'ARNr 23S était observée pour 11/16 souches avec 4 cas où on constatait une discordance phénotype/génotype (CMI  $< 1$  mg/L avec la mutation retrouvée en NGS non détectée en séquençage Sanger). Les souches étaient toutes sensibles à la ceftriaxone.

Tableau. Caractéristiques des souches résistantes à l'azithromycine.

Strain number	MIC to AZM (mg/l)	Illumina method	Sanger method
1	>256	A2059G	A2059G
2	>256	A2059G	A2059G
8	>256	A2059G	A2059G
9	>256	A2059G	A2059G
10	>256	A2059G	A2059G
5	>256	A2058G	A2058G
7	>256	A2058G	A2058G
3	64	C2611T	C2611T
16	64	C2611T	C2611T
4	32	C2611T	C2611T
20	16	C2611T	C2611T
12	8	C2611T	C2611T
17	4	C2611T	C2611T
18	4	C2611T	C2611T
19	4	C2611T	C2611T
15	2	C2611T	C2611T
13	2	C2611T	WT
28	2	C2611T	WT
13	0,25	C2611T	WT
21	0,25	C2611T	WT
14	0,064	C2611T	WT

L'émergence en France de gonocoque avec un haut niveau à l'azithromycine est en adéquation les augmentations décrites en Europe depuis 2018. La pression de sélection liée à l'utilisation de l'azithromycine depuis 2012 pourrait être responsable de ces émergences. Nous rapportons les **mutations A2059G ainsi qu'une nouvelle mutation A2058G, jamais décrite en France**, sur deux isolats de gonocoques résistants à haut niveau à l'azithromycine (CMI >256mg/l) évoquant une possible transmission de ce clone en France. L'augmentation des gonocoques hautement résistants à l'azithromycine conforte l'actualisation des dernières recommandations françaises préconisant une monothérapie par ceftriaxone 1 g dans le traitement des gonorrhées.

Ce projet a fait l'objet du travail de Clara Maubaret et a été présenté sous forme de **poster à la RICAI 2022 et à l'ECCMID en 2023.**

### 6.1.3.3 Etude de la virulence et de l'invasion du gonocoque dans un modèle d'épithélium cellulaire (cf annexe 3)

## 6.1.4 Laboratoire APHP Cochin

### 6.1.4.1 Comparaison des techniques de sérologies et de PCR dans le LCR

**Contexte** : De nombreux tests sont disponibles sur le liquide céphalorachidien (LCR) pour le diagnostic de la neurosyphilis (NS), mais il n'existe pas de « norme de référence ».

**Objectifs** : Le but de cette étude était d'évaluer différents tests moléculaires et sérologiques utilisés en NS.

**Méthodologie** : Nous avons évalué deux tests PCR et trois techniques sérologiques en parallèle sur des échantillons de LCR prélevés entre 2019 et 2020 chez des patients suspectés de NS.

**Résultats** : L'étude a porté sur 143 patients, dont 30 patients NS précoces, 7 patients NS tardifs et 106 patients sans diagnostic de NS. Tous les patients atteints de NS étaient symptomatiques et présentaient des signes neurologiques (67,6%) ou ophtalmologiques (54,1%). Les tests qPCR et nPCR avaient des sensibilités globales (Se) de 41% et 27%, respectivement et une spécificité globale (Sp) de 100%. Le VDRL avait une Se de 51% et une Sp de 92%. L'immunoblot avait un Se de 62% et une Sp de 85%. Enfin, les TT avaient une Se de 96% et une Sp de 69%.



**Conclusion** : Notre étude confirme l'excellente spécificité des techniques moléculaires permettant d'éviter le surdiagnostic de la NS, et donc les protocoles d'antibiothérapie intensive injustifiés. Le TT LCR, bien qu'il ne soit pas très spécifique, a une excellente Se confirmant qu'il n'y a presque jamais de NS avec un TT négatif pour le LCR. Les tests VDRL et immunoblot ont de meilleures performances diagnostiques globales. Cependant, aucune de ces techniques n'a de performances diagnostiques suffisantes pour représenter un 'gold standard'. Ainsi, le diagnostic de la NS repose sur une combinaison de paramètres cliniques et biologiques avec l'association de la PCR avec la sérologie, associant VDRL et immunoblot, dans le LCR (cf. Tableau ci-dessous).

**Table 1. Clinical characteristics and biological features of patients.**

Clinical characteristics	Patients with neurosyphilis			Patients without neurosyphilis
	Early	Late	Total	
<b>Total no. of patients</b>	30	7	37	106
<b>Population</b>				
Men, <i>n</i> (%)	27 (90)	6 (86)	33 (89)	81 (76)
<b>Age (years)</b>				
Median	51	59	51	57
IQR	45-59	31-69	40-59	39-72
<b>HIV infection, <i>n</i> (%)</b>	8 (27)	1 (14)	9 (24)	24 (23)
<b>Clinical symptoms</b>				
Ophthalmological, <i>n</i> (%)	20 (66)	0	20 (54)	13 (12)
Neurological, <i>n</i> (%)	18 (60)	7 (100)	25 (68)	68 (64)
Both, <i>n</i> (%)	9 (30)	0	9 (24)	8 (8)
<b>Positive serological tests on blood</b>				
TT <sup>a</sup> , <i>n</i> (%)	30 (100)	7 (100)	37 (100)	105 (99)
NTT <sup>b</sup> , <i>n</i> (%)	30 (100)	7 (100)	37 (100)	51 (48)
NTT <sup>b</sup> titer, <i>mean</i> ( <i>SD</i> )	84 (133)	76 (90)	84 (125)	24 (79)
Both TT <sup>a</sup> NTT <sup>b</sup> , <i>n</i> (%)	30 (100)	7 (100)	37 (100)	51 (48)
<b>CSF white cell count</b>				
>10/mm <sup>3</sup> , <i>n</i> (%)	19 (90)	4 (80)	23 (88)	15 (20)
Median	32	110	38	0
IQR	15-70	20-122	15-107	0-4
<b>CSF protein level</b>				
> 0.4 g/L, <i>n</i> (%)	15 (83)	5 (83)	20 (83)	36 (49)
Median	0.4	1.2	0.6	0
IQR	0.2-1	0.6-1.4	0.1-1	0-0.5
<b>Molecular assays on CSF</b>				
Positive nPCR, <i>n</i> (%)	8 (27)	2 (29)	10 (27)	0
Positive qPCR, <i>n</i> (%)	14 (47)	1 (14)	15 (41)	0
<b>Serological assays on CSF</b>				
Positive VDRL <sup>c</sup> , <i>n</i> (%)	14 (47)	5 (71)	19 (51)	8 (8)
Positive immunoblot, <i>n</i> (%)	18 (78)	5 (100)	23 (82)	11 (13)
Positive TT <sup>a</sup> , <i>n</i> (%)	22 (96)	3 (100)	25 (96)	26 (30)

<sup>a</sup>TT: Treponemal test; <sup>b</sup>NTT: Non-treponemal test; <sup>c</sup>VDRL: Venereal Disease Research Laboratory test.

Ce travail a fait l'objet d'une publication, Salle *et al.*, **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2023 Feb;37(2):390-394. doi: 10.1111/jdv.18604.

#### 6.1.4.2 Evaluation des dons de sang syphilis positive

Dans le cadre d'une exploration des dons du sang initiée par l'EFS, le CNR a reçu 466 sérums ayant une sérologie positive afin d'être expertisé. Les échantillons correspondent aux tests effectués sur l'année 2022. Cette étude est en cours de finalisation.

## 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

1. N. Marque-Juillet, O. Peuchant. 2022. *Chlamydia* spp. Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7ème édition, Société Française de Microbiologie (ed).
2. C. Bébéar, F. Grattard, M. Garcia. 2022. Infections uro-génitales et sexuellement transmissibles. Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7ème édition, Société Française de Microbiologie (ed).
3. S. Pereyre, C. Bébéar. 2022. *Mycoplasma* spp. Référentiel en microbiologie médicale (REMIC) 7ème édition, Société Française de Microbiologie (ed).
4. O. Peuchant, C. Bébéar, B. de Barbeyrac. 2022. *Chlamydia*. In: *Encycl. Méd Chir, Biologie médicale*. 2022;0(0):1-16 [Article 8-037-A-10].

#### Publications internationales

1. J. Tamarelle, A.C. Thiébaud, B. de Barbeyrac, C. Bébéar, A. Bourret, J. Ravel, E. Delarocque-Astagneau. Vaginal microbiota stability over 18 months in young student women in France. *Clin Microbiol Infect*. In press.
2. M. Gardette, A. Touati, C. Laurier-Nadalié, C. Bébéar, S. Pereyre. Prevalence of *Mycoplasma penetrans* in urogenital samples from men screened for bacterial sexually transmitted infections. *Open Forum Infect Dis*. In press.
3. C. Bébéar, J. S. Dumler. Algorithms for identification of *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and obligate intracellular bacteria. In *Manual of Clinical Microbiology*, 13rd edition, ASM Press, Washington DC. In press.
4. K.B. Waites, C. Bébéar. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In *Manual of Clinical Microbiology*, 13rd edition, ASM Press, Washington DC. In press.
5. C. Bébéar. 2023. Diagnostic of human mycoplasmas (4 chapters). *Clinical Microbiology Procedures Handbook fifth edition*, ASM Press.
6. P. Blanc, F. Bonnet, O. Leleux, A. Perrier, E. Bessede, S. Pereyre, C. Cazanave, D. Neau, MO. Vareil, E. Lazaro, P. Duffau, A. Saunier, K. André, L. Wittkop, MA. Vandenhende; ANRS CO3 Aquivih-Nouvelle-Aquitaine Cohort Study Group. 2023. Severe bacterial non-AIDS infections in persons with HIV: the epidemiology and evolution of antibiotic resistance over an 18-year period (2000-2017) in the ANRS CO3 Aquivih-Nouvelle-Aquitaine cohort. *Clin Infect Dis*. 2023 Jan 4:ciac978. doi: 10.1093/cid/ciac978. PMID: 36610063.
7. A. Touati, C. Bébéar, O. Peuchant. 2022. Update on the availability of commercialised real-time PCR assays for the diagnosis of Lymphogranuloma venereum. *Clin Microbiol Infect*. 2022 Dec 23:S1198-743X(22)00635-8. PMID: 36572103.
8. E. Lorenzen, V. Contreras, A. W. Olsen, P. Andersen, D. Desjardins, I. Rosenkrands, H. B. Juel, B. Delache, S. Langlois, C. Delaugerre, C. Joubert, N. Dereuddre-Bosquet, C. Bébéar, B. de Barbeyrac, A. Touati, P.F. McKay, R. J. Shattock, R. Le Grand, F. Follmann, J. Dietrich. 2022. Multi-component prime-boost *Chlamydia trachomatis* vaccination regimes induce antibody and T cell responses and accelerate clearance of infection in a non-human primate model. *Front Immunol*. 2022 Nov 23; 13:1057375. PMID: 36505459.

9. M. Gardette, N. Hénin, C. Le Roy, J. Guiraud, A. Touati, C. Bébéar, S. Pereyre. 2022. Clinical performance of three commercial molecular diagnostic assays for the detection of fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium*. J Clin Microbiol. 60(12):e0113522. PMID: 36321820.
10. S. Pereyre, C. Laurier-Nadalié, C. Le Roy, J. Guiraud, A. Dolzy, N. Hénin, M. Gardette, C. Bébéar. 2022. Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in metropolitan and overseas France. Sex Transm Infect. (2022-09-05). 10.1136/sextrans-2022-055466. PMID: 36413349.
11. J. Guiraud, M. Helary, C. Le Roy, E. Elguero, S. Pereyre, C. Bébéar. 2022. Molecular typing reveals distinct *Mycoplasma genitalium* transmission networks among a cohort of men who have sex with men and a cohort of women in France. Microorganisms. 10(8):1587. PMID: 36014005.
12. D. Viriot, E. Lucas, B. de Barbeyrac, C. Bébéar, S. Fouéré, N. Dupin, A. Bertolotti, B. Berçot, C. Cazanave, G. Delmas, J. Pillonel, F. Lot, N. N. Ngangro. 2022. Use of healthcare reimbursement data to monitor bacterial sexually transmitted infection testing in France, 2006 to 2020. Euro Surveill. 27(39). PMID: 36177869.
13. B. Rivaya, C. Le Roy, E. Jordana-Lluch, G. Fernández-Rivas, C. Casañ, V. González, J. Hao Wang, C. Bébéar, L. Matas, S. Pereyre. 2022. Detection and prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance in *Mycoplasma genitalium* in Badalona, Spain. Antibiotics (Basel) Apr 5;11(4):485. doi: 10.3390/antibiotics11040485. PMID: 35453236.
14. L. Sánchez-Busó, M.J. Cole, G. Spiteri, M. Day, S. Jacobsson, D. Golparian, N. Sajedi, C. A. Yeats, K. Abudahab, A. Underwood, B. Bluemel, D.M. Aanensen, M. Unemo, on behalf of the Centre for Genomic Pathogen Surveillance and the Euro-GASP study group. 2022. Europe-wide expansion and eradication of specific *Neisseria gonorrhoeae* lineages elucidate an increased azithromycin resistance and decreased cephalosporin resistance: a genomic surveillance study. Lancet Microbe, May 10, 2022.
15. P. Blanco, A. Rachline, A. Tarantol, A. Biron, S. Pereyre, J. Coutherut, M. Patoureau. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* and other sexually transmitted pathogens in male urethritis in a sexual health centre in New Caledonia. Int J STD AIDS. 2022 Jul;33(8):792-798. doi: 10.1177/09564624221103808. Epub 2022 May 27. PMID: 35621120
16. S. Pereyre, F. Caméléna, N. Hénin, B. Berçot, C. Bébéar. 2021. Clinical performance of four multiplex real-time PCR kits detecting urogenital and sexually transmitted pathogens. Clin. Microbiol. Infect. 2:S1198-743X(21)00557-7. PMID: 34610459.
17. O. Peuchant, E. Lhomme, P. Martinet, A. Grob, D. Baita, C. Bernier, S.A. Gibaud, I. Le Hen, E. Le Naour, N. Trignol-Viguié, P. Lanotte, P. Lefebvre, A. Vachée, T. Girard, J. Loubinoux, C. Bébéar, B. Ghezzoul, C. Roussillon, M. Kret, B. de Barbeyrac, and the Chlazidoxy study group. 2022. Doxycycline versus azithromycin for the treatment of anorectal *Chlamydia trachomatis* infection concurrent with vaginal infection: a randomized, open-label, multicentre trial (Chlazidoxy study). Lancet Infect Dis. 22(8):1221-1230. PMID: 35550262.
18. C. Brin, R. Palich, N. Godefroy, A. Simon, J. Robert, C. Bébéar, W. Sougakoff, R. Agher, E. Caumes, G. Monsel. 2022. Clinical, epidemiological and therapeutic characteristics of *Mycoplasma genitalium* infection in a French STI center. Infect. Dis. Now. 52(1):13-17. PMID: 34547546.
19. M. Delafoy, J. Goutines, A.-M. Fourmont, A. Birgy, M. Chomton, M. Levy, J. Naudin, L. Le Mouel, K. Yakouben, A. Cointe, M. Caseris, S. Bonacorsi, F. Mechinaud, S. Pereyre, N. Boissel, A. Baruchel. Hyperammonemic encephalopathy linked to *Ureaplasma* spp. and/or *Mycoplasma hominis* systemic infection in patients treated for leukemia: an emergency not to be missed. Frontiers in Oncology, 2022, 12, 912695. PMID: 35875088.
20. E. Cardot Martin, S. Dolidon, P. Lesprit M. Vasse, S. Pereyre. A strain uncoloured by Gram staining in a pleural fluid. Clin. Microbiol. Infect. 2022, 28, 7, 973-974. PMID: 34400344.

### Communications nationales

1. C. Le Roy, A. Ferron, C. Balcon, J. Guiraud, B. de Barbeyrac, C. Bébéar, O. Peuchant. 2022. Epidémiologie de *Mycoplasma genitalium* chez les femmes du projet Chlazidoxy. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Communication orale.
2. S. Pereyre, N. Hénin, A. Dolzy, J. Guiraud, M. Gardette, C. Bébéar. 2022. Commercial plates for resistance assessment in urogenital mycoplasmas in France. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.

3. M. Gardette, A. Touati, C. Laurier-Nadalié, C. Bébéar, S. Pereyre. 2022. *Mycoplasma penetrans*, un agent d'urétrite méconnu ? 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.
4. A. Touati, I. Vincent, A. Nugier, C. Bébéar, N. Catajar, D. Lecocq, O. Peuchant. 2022. Validation d'auto-prélèvements à domicile pour le diagnostic des IST bactériennes. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.
5. C. Maubaret, A. Braille, M. Mainardis, G. Sbaa, C. Bébéar, M. Mérimèche, B. Berçot et Biologistes participants aux enquêtes ENGON. 2022. Exploration de moléculaire de gonocoques résistants à l'azithromycine en France. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.
6. G. Sbaa, M. Mainardis, F. Camelena, A. Braille, M. Mérimèche, C. Bébéar, F. Lot, E. Chazelle, B. Berçot. 2022. Nouvelle souche de gonocoque résistante à la ceftriaxone, Lyon, 2022. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.
7. I. Rezzoug, A. Touati, F. Meunier, P. Lawson Body, C. Moreau, C. Bébéar, B. Berçot. 2022. Prévalence de la Lymphogranulomatose Vénérienne (LGV) au sein du GH Saint Louis/Lariboisière : intérêt du kit VIASURE LGV. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.
8. P. Blanco, A. Rachline, A. Tarantola, A. Biron, S. Pereyre, 2022. J. Coutherut, M. Patoureau. Prévalence de *Mycoplasma genitalium* et d'autres agents pathogènes sexuellement transmissibles dans les urétries masculines d'un centre de santé sexuelle en Nouvelle Calédonie. 23<sup>ème</sup> Journée Nationales d'Infectiologie, Bordeaux, 15-17 juin. Poster.
9. J. Voisin, S. Pereyre, M. Gardette, D. Raffenot, E. Decroisette, E. Forestier, M. Levast. Bactériémie à *Mycoplasma hominis* dans le post-partum : description d'un cas clinique. 5<sup>ème</sup> Journées Francophones de Biologie Médicale, Saint-Etienne, 5-7 octobre 2022. Poster.
10. O. Alcouffre, R. Desage, L. Mendes, M. Sabrui, S. Sire, S. Pereyre, N. Wilhelm. Quand le spectromètre de masse nous réserve des surprises : infection loco-régionale à *Mycoplasma hominis*. 5<sup>ème</sup> Journées Francophones de Biologie Médicale, Saint-Etienne, 5-7 octobre 2022. Poster.

### Communications internationales

1. H. Seth-Smith, D. Goldenberger, B. Versteeg, J. Kok, I. Carter, O. Peuchant, C. Bébéar, D. Lewis, D. Kese, E. Balla, H. Zakoucka, F. Rob, S. Morré, B. Herrmann, J. Galàn, B. de Barbeyrac, H. de Vries, N. Thomson, A. Egli. 2022. Exploring the genomic diversity of circulating strains *Chlamydia trachomatis* lymphogranuloma venereum: 2011-2017. International intracellular bacteria meeting 23-26 August, Lausanne, Switzerland.
2. S. Pereyre, N. Hénin, A. Dolzy, J. Guiraud, M. Gardette, C. Bébéar. 2022. Evaluation of commercial customized plates for *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* antimicrobial susceptibility testing and determination of resistance prevalence in France in 2020. 32<sup>nd</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Lisbonne, Portugal, 23-26 avril. Poster.
3. M. Gardette, N. Hénin, C. Le Roy, J. Guiraud, A. Touati, C. Bébéar, S. Pereyre. 2022. Clinical evaluation of two commercial assays for the detection of fluoroquinolone resistance in *Mycoplasma genitalium*. 32<sup>nd</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Lisbonne, Portugal, 23-26 avril. Communication orale.
4. J. Guiraud, M. Helary, C. Le Roy, S. Pereyre, C. Bébéar. 2022. Distinct *Mycoplasma genitalium* transmission networks among women and PrEP users in France. 32<sup>nd</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Lisbonne, Portugal, 23-26 avril. Communication orale.

### Conférences sur invitation

1. S. Pereyre. 2022. Diagnostic de l'infection à *Mycoplasma genitalium* et de sa résistance. Journées Nationales d'Infectiologie, juin, Bordeaux.
2. C. Bébéar. 2022. Resistance-guided therapy for Chlamydia. 32<sup>nd</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 20-23 April, Lisboa, Portugal.
3. S. Pereyre. 2022. Update on mechanisms, detection and epidemiology of antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium*. Webinar of ESGMAC (ESCMID study group on Mycoplasma and Chlamydia infections).

## 6.2.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

### Publications nationales

1. A Goubard, B. Berçot. Chapitre du REMIC. *Neisseria gonorrhoeae*. Référentiel de Microbiologie médicale, 7ème édition, Société Française de Microbiologie (ed). 2022.
2. Herms F, Poizeau F, Anyfantakis V, Bonhomme P, Chaine-Sidibé B, Louison JB, Berçot B, Bagot M, Fouéré S; Groupe infectiologie dermatologique et infections sexuellement transmissibles (GrIDIST) de la Société française de dermatologie (SFD). *Mycoplasma genitalium* screening in a specialized French unit: A retrospective study. Ann Dermatol Venereol. 2022 Sep;149(3):165-168. PMID: 35690480.

### Publications internationales

1. S. Pereyre, F. Caméléna, N. Hénin, B. Berçot, C. Bébéar. 2021. Clinical performance of four multiplex real-time PCR kits detecting urogenital and sexually transmitted pathogens. Clin. Microbiol. Infect. 2:S1198-743X(21)00557-7. PMID: 34610459.
2. Sadowski E, Berçot B, Chauffour A, Gomez C, Varon E, Mainardis M, Sougakoff W, Mayer C, Sachon E, Anquetin G, Aubry A. Lipophilic quinolone derivatives: Synthesis and in vitro antibacterial evaluation. Bioorg Med Chem Lett. 2022 Jan 1;55:128450.
3. Saïb A, Bouscaren N, Berçot B, Duchateau A, Miltgen G, Rodet R, Wartel G, Andry F, Iacobelli S, Bertolotti A. Prevalence and risk factors for gonococcal infection in Reunion Island. Infect Dis Now. 2022 May;52(3):149-153. PMID: 34920179.
4. Congo-Ouedraogo M, Poncin T, Sangaré L, Mérimèche M, Braille A, Jacquier H, Ouedraogo AS, Dah E, Traore I, Corander J, Haukka K, Berçot B, Godreuil S. Genomic and antimicrobial resistance analyses of *Neisseria gonorrhoeae* isolates, Burkina Faso, 2018-2019. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2022 Jul;36(7):e565-e568. PMID: 35224783
5. Rahib D, Berçot B, Delagreverie H, Gabassi A, Delaugerre C, Salord H, Icard V, Le Thi TT, Leveau B, Khiri H, Digne J, Didelot MN, Pisoni A, Tuillon E, Lydié N, Vandentorren S. Online self-sampling kits for human immunodeficiency virus and other sexually transmitted infections: Feasibility, positivity rates, and factors associated with infections in France. Int J STD AIDS. 2022 Mar;33(4):355-362. PMID: 35144493.
6. Sánchez-Busó L, Cole M.J, Spiteri G, Day M, Jacobsson S, Golparian D, Sajedi N, Yeats C.A, Abudahab K, Underwood A, Bluemel B, Aanensen D.M\*, Unemo M\*, on behalf of the Centre for Genomic Pathogen Surveillance and the Euro-GASP study group. Europe-wide expansion and eradication of specific *Neisseria gonorrhoeae* lineages elucidate an increased azithromycin resistance and decreased cephalosporin resistance: a genomic surveillance study. Lancet Microbe 2022 Jun;3(6):e452-e463. PMID: 35659907.
7. Day MJ, Jacobsson S, Spiteri G, Kulishev C, Sajedi N, Woodford N, Blumel B, van der Werf MJ, Amato-Gauci AJ, Unemo M, Cole MJ; Euro-GASP network. Significant increase in azithromycin "resistance" and susceptibility to ceftriaxone and cefixime in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in 26 European countries, 2019. BMC Infect Dis. 2022 Jun 7;22(1):524. PMID: 35672671.
8. Viriot D, Lucas E, Barbeyrac B, Bébéar C, Fouéré S, Dupin N, Bertolotti A, Berçot B, Cazanave C, Delmas G, Pillonel J, Lot F, Ndeikoundam NN. 2022. Use of health care reimbursement data to monitor bacterial STI testing in France, 2006-2020. Euro Surveill. 27(39). PMID: 36177869
9. Pereyre S, Laurier-Nadalié C, Le Roy C, Guiraud J, Dolzy A, Hénin N, Gardette M, Bébéar C; investigator Group. Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in metropolitan and overseas France. Sex Transm Infect. 2022 Sep 5;sextrans-2022-055466. doi: 10.1136/sextrans-2022-055466. Epub ahead of print. PMID: 36413349.
10. Berçot B, Caméléna F, Mérimèche M, Jacobsson S, Sbaa G, Mainardis M, Valin C, Molina JM, Bébéar C, Chazelle E, Lot F, Golparian D, Unemo M. Ceftriaxone-resistant, multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* with a novel mosaic *penA-237.001* gene, France, June 2022. Euro Surveill. 2022 Dec;27(50):2200899. PMID: 36695466.

### Communications nationales

1. C. Maubaret, A. Braille, M. Mainardis, G. Sbaa, C. Bébéar, M. Mérimèche, B. Berçot et Biologistes participants aux enquêtes ENGON. 2022. Exploration de moléculaire de gonocoques résistants à l'azithromycine en France. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.

2. G. Sbaa, M. Mainardis, F. Camelena, A. Braille, M. Mérimèche, C. Bébéar, F. Lot, E. Chazelle, B. Bercot. 2022. Nouvelle souche de gonocoque résistante à la ceftriaxone, Lyon, 2022. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.
3. I. Rezzoug, A. Touati, F. Meunier, P. Lawson Body, C. Moreau, C. Bébéar, B. Bercot. 2022. Prévalence de la Lymphogranulomatose Vénérienne (LGV) au sein du GH Saint Louis/Lariboisière : intérêt du kit VIASURE LGV. 42<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 12-13 décembre. Paris. Poster.

### Communications internationales

1. V. Ferré V, A Sadio, F Gbeasor-Komlanvi, M Salou, B Bercot, C Bébéar, L Abramowitz, M Zaidi, A P Amenyah-Ehlan, E Mensah, A Claver Dagnra, J Ghosn, D Descamps, C Charpentier, D K. Ekouevi. High prevalence of HPV, other STI and anal lesions among MSM in Togo. Congres HPV EUROGIN. International multidisciplinary HPV congress. 8-11 février 2023, Bilbao, Espagne, Communication orale.
2. JM Molina, B Bercot, L Assoumou, M Algarte-Genin, E Rubenstein, G Pialoux, C Katlama, L Surgers, C Bébéar, N Dupin, JP Viard, J Pavie, C Duvivier, J Ghosn, D Costagliola, Research Group: ANRS 174 Doxyvac Group. ANRS 174 DOXYVAC: an open-label randomized trial to prevent STIs in MSM on PrEP. 30<sup>th</sup> Conference on retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 19-22 fevrier 2023 Seattle, USA. Communication orale.
3. V. Ferré V, A Sadio, F Gbeasor-Komlanvi, M Salou, B Bercot, C Bébéar, L Abramowitz, M Zaidi, A P Amenyah-Ehlan, E Mensah, A Claver Dagnra, J Ghosn, D Descamps, C Charpentier, D K. Ekouevi. High prevalence of HPV, other STI and anal lesions among MSM in Togo. 30<sup>th</sup> Conference on retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 19-22 fevrier 2023 Seattle, USA. Poster.
4. Maubaret C, Braille A, Mainardis M, Sbaa C, Bébéar, Mérimèche M, Bercot B and Biologists involved in ENGON surveys. Molecular investigation of azithromycin-resistant gonococcal in France. 33<sup>rd</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 14-18 avril, 2023 Copenhage, Danemark, Poster.

### Conférences sur invitation

1. Bercot B. 2022. Prévention des IST par antibiothérapie. Journées Thématiques IST, PrEP, Santé sexuelle, 7-8 juin 2022, Paris.
2. Bercot B. *Neisseria gonorrhoeae* : résistance, virulence, phylogénie. Communication orale dans le cadre du projet SARA, Institut Pasteur 13–17 juin 2022, Paris.

### 6.2.3 Laboratoire APHP Cochin

#### Publications nationales

1. N. Benhaddou. 2022. *Treponema pallidum*. Référentiel en Microbiologie Médicale (REMIC) 7<sup>ème</sup> édition, Société Française de Microbiologie (ed).

#### Publications internationales

1. Specific detection of *Treponema pallidum* in clinical samples: validation of a qPCR assay combining two genomic targets. (2023) Salle R, Mayslich C, Grange PA, Leducq V, Ollagnier G, Heller U, Saule J, Martinet P, Robert JL, Benhaddou N, Fouéré S, Dupin N. Sex Transm Infect. 99:91-96.
2. Comparison of molecular and serological assays on cerebrospinal fluid for the diagnosis of neurosyphilis. (2023) Salle R, Grange PA, Ollagnier G, Benhaddou N, Heller U, Dupin N. J Eur Acad Dermatol Venereol. 37:390-394.
3. Syphilis is a rare cause of erythema nodosum: a case report. (2022) Anthony N, Duquenne S, Zemali N, Foucher A, Dupin N, Bertolotti A. Infect Drug Resist. 15:307-310.
4. Secondary syphilis: An ecthyma-like syphilis case report. (2022) Ichane F, Duquenne S, Poubeau P, Dupin N, Bertolotti A. Ann Dermatol Venereol. 149:209-210

5. Use of healthcare reimbursement data to monitor bacterial sexually transmitted infection testing in France, 2006 to 2020. (2022) Viriot D, Lucas E, de Barbeyrac B, Bébéar C, Fouéré S, Dupin N, Bertolotti A, Berçot B, Cazanave C, Delmas G, Pillonel J, Lot F, Ngangro NN. Euro Surveill. Sep;27(39):2100618.

#### **Communications nationales**

1. Dupin N. 110<sup>ème</sup> Journée Française de Médecine, Paris visioconférence, 2022. Infections sexuellement transmissibles

#### **Communications internationales**

1. Benhaddou. N. 11<sup>ème</sup> conférence internationale Francophone Santé sexuelle, VIH/Hépatites, infections émergentes (AFRAVIH), 06-09 avril 2022, Marseille. Communication orale.

#### **Conférences sur invitation**

2. Dupin N. 19<sup>th</sup> Edition of Euroderm Excellence training program, 15-18 November 2022, Roma Sexually transmitted diseases in 2021
3. Dupin N. 14<sup>ème</sup> Journées Nationales Provinciales de Dermatologie, Rennes 2022. Ateliers : cas cliniques en dermatologie infectieuse et Flash actualité : les IST à l'heure de la PrEP.
4. Dupin N. 35<sup>th</sup> IUSTI-Europe congress, Tbilissi, 2022. Chairman du symposium Syphilis.

## **7 Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux**

---

Le CNR IST bactériennes n'est pas concerné.

## 8 Programme d'activité pour les années suivantes

### 8.1 Evaluation de trousse diagnostiques des IST bactériennes et de leurs résistances aux antibiotiques

#### 8.1.1 Trousses diagnostiques

En 2023, nous allons évaluer **des kits de PCR en temps réel multiplexes nouvellement commercialisés pour la détection simultanée de plusieurs agents d'IST**, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis* :

- Le kit **CT/GC/TV2** (Beckton Dickinson), détectant *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *T. vaginalis*,
- Le kit **Sexually transmitted diseases (Viasure)** détectant *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *T. vaginalis*, *U. parvum*, *U. urealyticum* et *M. hominis*,
- Le kit **Bosphore STD Urethritis mini Bundle kit (Anatolia Geneworks)** détectant *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis*.

Un total de 250 échantillons d'urines et d'écouvillonnages urétraux, cervico-vaginaux, pharyngés et rectaux sera collectés au laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux, avec au moins 50 échantillons positifs pour chacun des quatre pathogènes, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis* et 70 échantillons négatifs. Les échantillons seront utilisés sans extraction avec le kit BD sur l'automate BD MAX (BD). En parallèle, les échantillons seront extraits sur MagNa Pure 96 et l'amplification sera réalisée sur CFX96 (Bio-Rad) pour les deux autres kits selon les recommandations des fournisseurs.

La sensibilité et la spécificité de détection des trois kits seront évaluées pour chaque pathogène en comparaison avec les résultats obtenus avec les kits Cobas CT/NG et Cobas MG/TV (Roche Diagnostics), utilisés comme référence.

#### 8.1.2. Trousses de type Point of care (POC) et tests de diagnostic rapide

En 2020, l'OMS a communiqué sur la nécessité de développer de nouvelles technologies de dépistage sur le lieu de prise en charge du patient, en POC pour une prise en charge individualisée et rapide. Les tests **binx io® CT/NG et CT** (Binx Health) sont les premiers à réaliser en 30 minutes toutes les étapes de PCR, de l'introduction du prélèvement dans la cartouche à l'obtention des résultats (Poncin *et al*, Lett Infect 2021). Le test binx io® CT/NG vient de recevoir le marquage CE-IVD et FDA. Un nouveau test en 30 minutes, le **Visby Medical Sexual Health Test**, qui détecte *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *T. vaginalis* vient d'être également marqué par la FDA (Morris *et al*, Lancet Infect Dis, 2021). Un 3<sup>ème</sup> POC, le **GeneXpert® Xpress CT/NG** (Cepheid) propose un diagnostic moléculaire en 30 minutes et sera commercialisé en 2023. Le CNR IST est en contact avec ces 3 firmes pour évaluer ces tests POC.

### 8.2 Développement d'une nouvelle technique de Séquençage Haut Débit (WGS, DNA-capture) à partir des prélèvements pour la détection et le typage des 4 agents d'IST bactérienne

Les trois laboratoires vont collaborer pour développer cette technique de WGS à partir des échantillons cliniques de manière concomitante.

#### 8.2.1 *C. trachomatis* et *M. genitalium*

Le CNR des IST bactériennes a pour mission d'étudier l'épidémiologie, la transmission et l'évolution de la résistance des infections à *C. trachomatis* et *M. genitalium*. Les méthodes de typage basées sur le séquençage d'un ou plusieurs gènes ne constituent plus des marqueurs fiables de la phylogénie, en raison des phénomènes de recombinaison. Le séquençage du génome entier est nécessaire pour comprendre l'évolution, la diversité et l'épidémiologie de ces



pathogènes. Il pourrait également faciliter l'identification de mutations associées à la résistance aux antibiotiques et décrire de nouveaux mécanismes de résistance aux antibiotiques. L'isolement de la souche bactérienne était, jusqu'à présent, une condition préalable à l'obtention d'ADN pour le séquençage du génome entier ; cependant, pour *C. trachomatis* et *M. genitalium*, cette procédure est très fastidieuse et non applicable à l'ensemble des échantillons cliniques. L'objectif de ce projet est de développer une méthode de séquençage des génomes de *C. trachomatis* et *M. genitalium* directement à partir d'échantillons cliniques. Il s'agira de techniques basées sur l'enrichissement de l'ADN par capture. C'est le sujet de doctorat de Jennifer Guiraud aidée par A. Touati, ingénieur au CNR.

#### Méthode et résultats attendus

Comme les échantillons cliniques contiennent souvent un inoculum faible, il faut passer par une étape d'enrichissement en ADN. Le système "**SureSelect XT HS2 DNA System**" commercialisé par Agilent permet le séquençage de génomes entiers au sein d'échantillons comprenant de l'ADN bactérien et de l'ADN humain, en purifiant et en concentrant les fragments d'ADN cible. Le kit proposé par Agilent utilise des sondes oligonucléotidiques d'ARN biotinylées spécifiquement designées pour *C. trachomatis* (n=34 795) et pour *M. genitalium* (n=11 762), qui peuvent s'hybrider et couvrir l'ensemble du génome cible. Ces amorces ont été sélectionnées à partir des séquences de plusieurs génomes de *C. trachomatis*/*M. genitalium* disponibles dans GenBank. Des billes magnétiques marquées à la streptavidine sont utilisées pour séparer les fragments hybridés du reste de l'échantillon avant que l'ADN isolé soit amplifié et séquencé avec le système iSeq100 d'Illumina. Cette méthode permet d'enrichir et de séquencer les génomes bactériens directement à partir des prélèvements. La technique a été publiée pour *C. trachomatis* (Bowden *et al.* mSphere 2021) mais ne l'est pas pour *M. genitalium*. Le CNR prévoit d'automatiser les étapes de fragmentation, de capture et de préparation des bibliothèques qui sont chronophages grâce à l'achat de l'automate Magnis, commercialisé par Agilent, spécifiquement adapté aux trousse SureSelect avec capture. Cet automate sera mutualisé avec l'équipe du CNRCH qui souhaite s'équiper d'une station de travail Biomeck (Beckman Coulter) pour la préparation des bibliothèques NGS à partir de souches bactériennes sans capture et qui sera mutualisée avec le CNR IST.

Des échantillons cliniques positifs à *C. trachomatis* ou *M. genitalium*, avec des inoculums différents, seront sélectionnés au sein de la collection du laboratoire. Les données de séquençage obtenues seront comparées à un génome de référence. **Des génomes complets de *C. trachomatis*/*M. genitalium* pourront être obtenus à partir des échantillons cliniques.** Une corrélation entre la couverture des génomes et la quantité d'ADN de *C. trachomatis*/*M. genitalium* dans le prélèvement pourra être établie. Il pourra être ainsi déterminé le cycle seuil (Ct) et le nombre de copies à partir desquels un génome complet pourra être obtenu d'un échantillon clinique. Des analyses phylogénétiques pourront être réalisées à partir des génomes obtenus. Nous pourrions également décrire des génomes recombinants entre différents génotypes de *C. trachomatis*. Enfin, des mutations associées à la résistance aux antibiotiques et de nouveaux mécanismes de résistance aux antibiotiques pourront être identifiés. **Un pipeline spécifique** à chaque bactérie devra être établi. Dans ce but, A. Touati, ingénieur et J. Guiraud biologiste du CNR ont suivi en 2022 le 1er DU de Bioinformatique médicale de l'Université de Bordeaux.

#### 8.2.2 *N. gonorrhoeae*

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. Des techniques de typage moléculaire à partir de prélèvements cliniques positifs en TAANs ont été évaluées (NG-MAST en PCR nichée) mais sont limitées en cas de faible charge bactérienne. Le NGS couplé à la technique de capture/hybridation (*hybrid-capture based-NGS- hcNGS*) permet le séquençage d'une large partie, voire de la totalité du chromosome bactérien directement à partir du prélèvement clinique, sans étape de culture. A partir de l'échantillon clinique le processus d'enrichissement en ADN passe par une étape d'hybridation de l'ADN du gonocoque avec des sondes préalablement définies. L'ADN hybridé est ensuite amplifié et séquencé par NGS. Le hcNGS a été évalué à partir de prélèvements cliniques positifs en TAANs : crachats pour *Mycobacterium tuberculosis*, écouillons vaginaux pour *C. trachomatis*, liquide cébrospinal pour *Neisseria meningitidis* (Gaudin M, Desnues C. Front Microbiol. 2018 Nov 27;9:2924).

Afin d'explorer plus largement des collections d'échantillons cliniques positifs en PCR dans le cadre des projets du CNR IST pour lesquels la souche de gonocoque n'a pas été obtenue en culture (cf. les chapitres suivants), nous développons une technique de capture d'ADN avec enrichissement de la quantité d'ADN couplée à du séquençage du génome bactérien sur prélèvement. Le projet est avancé, les contacts avec la société Agilent sont établis pour le choix des génomes (300 génomes résistants aux C3G, génomes de référence, les régions à cibler). Nous allons travailler avec le protocole "SureSelectXT HS2 Target Enrichment System for Illumina Paired-End Multiplexed

Sequencing Library". L'extraction sera effectuée avec l'automate Genlead avec des sondes ARN de 120 pb et nous recherchons une profondeur de 10-15X sur les runs. Nous sommes en contact avec le service design pour identifier, avec l'aide de notre bioinformaticienne M. Mérimèche; les régions à couvrir ; le génome du gonocoque étant de 2 millions pb, la couverture des sondes sera ciblée sur des régions spécifiques de typage et de résistance.

Nous effectuerons 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. 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 du gonocoque seront au cœur de cette première phase d'évaluation. La phase d'application de la technique aura pour objectif de faire, en routine, du typage moléculaire au CNR sur des prélèvements cliniques positifs à gonocoque en PCR en l'absence d'obtention de souche.

L'analyse de séquençage suivra le même process que celui utilisé pour les génomes complets NG-AR2T décrit dans le chapitre 3.1.6.2 pour l'obtention des déterminants de clonalité et de résistance.

### 8.2.3 *T. pallidum*

A ce jour la détection de *T. pallidum* se fait, soit par observation directe en microscopie à fond noir (mais de moins en moins utilisée car retirée de la nomenclature), soit par PCR. Cependant, la proportion d'ADN bactérien dans les échantillons est très faible.

C'est dans ce cadre que nous souhaitons développer une technique spécifique de capture de ADN de *T. pallidum* avant le séquençage par NGS. Dans un premier temps, en lien avec la plateforme GENOMIC de l'Institut Cochin et la plateforme de séquençage de l'hôpital Cochin, cette technique sera mise au point à partir d'une solution d'ADN de *T. pallidum* issue d'un extrait testiculaire de lapin infecté par le tréponème. Dans un deuxième temps elle sera appliquée aux échantillons humains du CNR pour être validée. Une étude rétrospective sur l'ensemble des souches de *T. pallidum* du CNR sera effectuée. Dans un troisième temps, cette technique sera mise en place en routine sur tous les échantillons positifs à *T. pallidum* en PCR pour réaliser le typage de ces souches.

## 8.3 Contribution à la surveillance épidémiologique

Le CNR IST bactériennes a développé depuis 5 ans un réseau commun de cliniciens et de laboratoires partenaires dans le cadre de ses enquêtes pluriannuelles sur les anorectites à *C. trachomatis*, la résistance aux antibiotiques pour *N. gonorrhoeae* et les mycoplasmes urogénitaux. Depuis 2019, les enquêtes concernant la résistance aux antibiotiques du gonocoque et des mycoplasmes urogénitaux sont lancées ensemble par les laboratoires du CHU de Bordeaux et de l'hôpital Saint-Louis. Cette action coordonnée nous a permis d'augmenter de 20 à 50% le nombre de participants volontaires en Métropole et en Outre-mer.

Pour la prochaine mandature, nous continuerons cette coordination commune des réseaux partenaires en y incluant le réseau GenoSyph animé par le laboratoire associé syphilis. Nous essaierons de conforter notre réseau Outre-mer, qui s'est constitué progressivement au cours de la dernière mandature, entre autres grâce à l'aide des contacts des CIRE Outre-Mer fournis par SpF.

### 8.3.1 Développement de réseaux de partenaires (cliniciens, laboratoires de biologie médicale) au niveau national, incluant l'Outre-mer et enquêtes à venir

#### 8.3.1.1 Enquêtes annuelles Anachla

Voir paragraphe 3.2.1

Devant le succès des enquêtes **Anachla** 2020-2022 et les résultats obtenus, l'enquête sera reconduite chaque année lors de la prochaine mandature du 1<sup>er</sup> mars au 31 mai et **consistera à collecter tous les échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis*, sans critère d'exclusion**. Les résultats de ces études nous permettront de suivre l'évolution épidémiologique de la LGV et de surveiller l'apparition de nouveaux géovariants.

### 8.3.1.2 Enquête infections urogénitales à *C. trachomatis*

La surveillance des infections urogénitales à *C. trachomatis* sera de nouveau étudiée au cours de la prochaine mandature en France métropolitaine et en Outre-Mer. Nous réaliserons cette enquête **en 2024**.

Nous proposerons un recueil des échantillons uro-génitaux sur une période de 7 jours en France métropolitaine et sur une période de 3 mois pour les DROM auprès des laboratoires volontaires du réseau LGV. La période de 3 mois envisagée pour les DROM nous permettra de vérifier sur un plus grand nombre d'échantillons la présence de souches de génovar A et B dans l'infection urogénitale, notamment à Mayotte et à la Réunion.

Tous les échantillons uro-génitaux (urine, vagin, col) positifs à *C. trachomatis* seront collectés consécutivement et envoyés au CNR au moyen d'enveloppes T pré-adressées pour la métropole et par transporteur agréé pour les DROM. Les données sociodémographiques (sexe, année de naissance), clinico-biologiques (site et nature du prélèvement, service prescripteur, motif de consultation, statut VIH) et comportementales (pratiques sexuelles) seront colligées de façon anonyme. La détermination des génovars sera réalisée par séquençage du gène *ompA*. Les échantillons contenant des souches de génovars A et B feront l'objet d'un WGS.

La répartition des génovars étant stable et ne présentant pas de phénomène inhabituel, il n'apparaît pas nécessaire de réaliser une surveillance épidémiologique plus rapprochée.

### 8.3.1.3 Enquêtes annuelles de l'épidémiologie de la syphilis

Le laboratoire continuera la surveillance de la syphilis en s'appuyant sur le **réseau GenoSyph et celui de l'expertise**. Plus particulièrement nous renforcerons également la participation des centres de métropole et d'Outre-mer au réseau GenoSyph. L'île de La Réunion envoie des échantillons depuis 2019. Nous prévoyons d'inclure les îles de la Martinique et de la Guadeloupe ainsi que la Guyane. Afin de faciliter la participation des centres préleveurs, le laboratoire prendra en charge le coût du transport du retour des échantillons au CNR qui était à la charge des centres préleveurs jusqu'à maintenant.

### 8.3.1.4 Syphilis congénitale et PMSI

Cette enquête est coordonnée par D. Viriot puis E. Chazelle et F. Lot de SpF. Cette enquête a débuté en 2019 mais a été retardée à cause de l'épidémie de Covid-19. 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.

### 8.3.1.5 Expansion du réseau GenoSyph

Afin d'augmenter le nombre de prélèvements positifs pour *T. pallidum*, nous proposons de transformer le protocole GenoSyph pour l'inclure dans l'étude Anachla réalisée par le laboratoire de Bordeaux en 2023 ou en 2024.

Les centres participants recevront une enveloppe T pré-payée contenant un écouvillon sec afin de réaliser un prélèvement d'ulcération cutanéomuqueuse pour toute suspicion de syphilis sur une période de 3 mois. Les prélèvements seront analysés par PCR. Cette étude nous permettra, en lien avec la mise en place du séquençage NGS, de cartographier les différents variants de *T. pallidum* en France métropolitaine mais aussi dans les territoires d'Outre-mer.

## 8.3.2 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux

### 8.3.2.1 Enquêtes annuelles de surveillance de la résistance des mycoplasmes urogénitaux aux antibiotiques

Lors de la prochaine mandature les enquêtes annuelles suivantes seront reconduites à l'aide du réseau de laboratoires et de cliniciens que nous avons constitué :

- **MGMET** : surveillance de la prévalence et des mécanismes de résistance de *M. genitalium* aux antibiotiques en France métropolitaine.

- **MGDROM** : surveillance de la prévalence et des mécanismes de résistance de *M. genitalium* aux antibiotiques dans les départements et régions d'Outre-mer.

- **MYCOMET** : surveillance de la prévalence et des mécanismes de résistance de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* aux antibiotiques en France.

Nous souhaitons améliorer notre système de recueil des renseignements cliniques pour obtenir des données plus complètes, concernant notamment les signes cliniques, les pratiques sexuelles, le statut VIH et la prise antérieure d'antibiotiques.

### 8.3.2.2 Enquêtes annuelles de surveillance de la résistance du gonocoque aux antibiotiques

Lors de la prochaine mandature les enquêtes annuelles suivantes seront reconduites à l'aide du réseau de laboratoires et de cliniciens que nous avons constitué :

- **ENGON** : surveillance de la prévalence et des mécanismes de résistance de *N. gonorrhoeae* aux antibiotiques en France métropolitaine.

- **NGDROM** : surveillance de la prévalence et des mécanismes de résistance de *N. gonorrhoeae* aux antibiotiques dans les départements et régions d'Outre-mer.

Concernant les DROM, La Réunion et la Polynésie Française nous ont envoyé des souches. Le renforcement avec les autres îles reste difficile. Pour l'enquête 2023, nous allons proposer un recueil de tube positifs en TAAN comme effectué en 2017 afin d'augmenter le recueil des données.

De la même manière que nos collègues de Bordeaux, nos efforts seront concentrés sur l'obtention de données cliniques plus complètes. Par ailleurs, les pourcentages de recueil de souches en fonctions des 5 régions (IDF, SE, NO, NE, SO) ont été améliorés entre l'enquête 2017-2020 et le recueil de 2021. Sur la prochaine mandature, nous nous appliquerons à augmenter le nombre de souches dans les régions de NO et SO afin d'avoir une répartition des souches totalement équilibrée sur les régions.

### 8.3.2.3 Enquêtes annuelles de surveillance de la résistance de *T. pallidum* aux macrolides

A partir des échantillons reçus dans le cadre de l'expertise et du réseau **GenoSyph**, le laboratoire continuera à analyser la présence des mutations sur l'ARNr 23S dans tous les prélèvements positifs pour *T. pallidum* en qPCR de routine. Plus particulièrement nous enrichirons la collection en participant à la détection de *T. pallidum* dans les enquêtes **Anachla** du laboratoire de Bordeaux (cf. 3.2.3.2).

### 8.3.2.4 Évaluation de l'activité de nouvelles molécules antibiotiques

Le nombre d'antibiotiques potentiellement actifs contre *C. trachomatis* est relativement faible, du fait de leur développement intracellulaire. Ils comprennent les tétracyclines, les macrolides et les antibiotiques apparentés, et les fluoroquinolones.

**La gépotidacine (GSK2140944, GSK, Colledgeville, USA)** est un nouvel antibiotique triazaacénaphthylène, qui inhibe sélectivement les topoisomérases de type IIA et qui a démontré une activité *in vitro* contre les bactéries à Grams négatif et positif, y compris les souches multi-résistantes. Nous allons évaluer l'activité de cette nouvelle molécule sur 2 souches de référence de *C. trachomatis* (D/UW-3/Cx (ATCC VR-885) et L2/434-Bu (ATCC VR-902B)), 5 souches cliniques isolées entre 2015 et 2021 (2 génovar D, 2 génovar E, 1 génovar L2b). Nous allons également tester la souche L2/434-Bu résistante à l'ofloxacine obtenue par sélection *in vitro*. L'activité de la gépotidacine sera évaluée par détermination de la CMI en culture cellulaire et les résultats seront comparés aux valeurs des CMI obtenues pour les antibiotiques actifs sur *C. trachomatis* (doxycycline, azithromycine, lévofloxacine).

### 8.3.3 Projets d'enquêtes ou d'études concourant à la surveillance

#### Etude nationale de prévalence des infections sexuellement transmissibles (PréVIST) INSERM - Santé publique France - CNR IST-CNR HPV

L'enquête PréVIST, 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 est couplé à la prochaine enquête "Contexte de la sexualité en France 2022 – CSF 2022" coordonnée 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 a démarré en novembre 2022.

**CSF 2022** prévoit d'inclure un échantillon aléatoire de 37 000 personnes de 15 à 89 ans (27 000 en métropole et 10 000 en Martinique, Guadeloupe, Guyane et La Réunion), et de les interroger par téléphone sur de nombreux déterminants de santé. C'est l'institut de sondage Ipsos qui a été choisi pour réaliser cette collecte de données. 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.

Le principe du **volet IST** est de proposer à un sous-échantillon des participants de l'enquête CFS 2022 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 huit mille échantillons (auto-écouvillons vaginaux pour les femmes et 1<sup>ers</sup> jets d'urine pour les hommes) avec les kits Aptima Combo CT/NG et Aptima Mycoplasma genitalium (Hologic). Les échantillons positifs à *C. trachomatis* seront typés. Un typage moléculaire et une recherche de résistance aux antibiotiques sera réalisée pour les échantillons positifs à *M. genitalium* (CHU Bordeaux) et à *N. gonorrhoeae* (APHP Saint-Louis).

Les kits d'envoi des prélèvements ont été constitués par la société Koba.

Un budget de 220 000 € doit être alloué au CNR IST et un ETP technicien vient d'être recruté pour un an.

## 8.4 Travaux de recherche appliquées en lien avec les missions du CNR

### 8.4.1 Projets ANRS communs internationaux (cf annexe 3)

Le CNR IST participe en tant qu'investigateur coordonnateur (MyTTrA) ou partenaire (DepIST-H, Princesse) à des projets ANRS internationaux Nord-Sud, le CNR ayant reçu un financement spécifique pour tous les projets.

#### 8.4.1.1 Suivi longitudinal du microbiote vaginal et des IST bactériennes et virales dans la cohorte ANRS 12381 PRINCESSE (France-Côte d'Ivoire)

#### 8.4.1.2 Epidémiologie moléculaire des infections à *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae* et *T. pallidum* et de leur antibiorésistance au sein de l'étude TransOdara chez les femmes transgenres brésiliennes- MyTTrA (France-Brésil)

## 8.4.2 Laboratoire CHU Bordeaux (cf annexe 3)

### EXPERTISE

#### 8.4.2.1 Mise en place de la culture de souches cliniques de *M. genitalium*

### EPIDEMIOLOGIE

#### 8.4.2.2 Etude de la viabilité par PCR des principales IST bactériennes chez les HSH (VISTH)

#### 8.4.2.3 Prévalence de l'infection à papillomavirus humains chez les jeunes femmes de 18-24 ans après la mise en place de la vaccination en France : une étude nichée dans la cohorte I-Predict

#### 8.4.2.4 Prévalence de *Mycoplasma penetrans* dans les échantillons anaux (étude MYPEGA)

#### 8.4.2.5 Retentissement des mycoplasmes dans le sperme sur le succès des procédures d'Assistance Médicale à la Procréation (étude MyAMP)

### MECANISMES D'ECHANGE DE GENES ET D'ANTIBIORESISTANCE

#### 8.4.2.6 ICEs et conjugaison chez *M. hominis*

#### 8.4.2.7 Sélection *in vitro* de mutants résistants à la pristinamycine chez *M. genitalium*

## 8.4.3 Laboratoire APHP Saint-Louis (cf annexe 3)

### 8.4.3.1 Projet ANRS TRust

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

#### 8.4.3.3 Etude de la virulence et de l'invasion du gonocoque dans un modèle d'épithélium cellulaire

#### 8.4.3.4 Epidémiologie des infections à gonocoque, Madagascar et la Réunion : projet STI-MADA

## 8.4.4 Laboratoire APHP- GH Cochin

### EXPERTISE

#### 8.4.4.1. Evaluation de la place de la PCR *T. pallidum* sur des ulcérations sérologiquement négatives

L'objectif principal de cette étude sera d'évaluer l'impact du résultat de la PCR *T. pallidum* sur des ulcérations provenant de patients ayant une sérologie syphilis négative.

Il est prévu de sélectionner l'ensemble des échantillons obtenus dans le cadre du réseau GenoSyph ayant une PCR positive sur la période 2010 – 2021.

### ETUDES CLINIQUES

#### 8.4.4.2 PHRCN SY-Doxy et SY-BPG

Les autorisations du CPP et de l'ANSM ont été obtenues pour ce PHRC national qui a démarré en février 2021. Il est coordonné par N. Dupin sur le site Cochin et promu par l'APHP.

**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. 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.

**Les objectifs secondaires** sont d'évaluer :

1. la tolérance des deux traitements en termes d'événements indésirables graves (SAE)
2. l'adhésion au traitement de doxycycline
3. l'impact des deux traitements sur d'autres IST au mois 6

Points d'arrivée secondaires :

4. l'occurrence des SAE entre les groupes
5. l'observance de la doxycycline
6. les autres IST dans les deux groupes au mois 6.

Il est prévu d'inclure 85 patients dans chaque bras sur une période d'inclusion de 24 mois et de suivi de 6 mois.

**Les centres participants sont :** CeGIDD Hôtel Dieu, APHP, Pr Nicolas Dupin; Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, APHP, Pr Olivier Chosidow; CeGIDD Hôpital Saint-Louis, APHP, Dr Sébastien Fouéré; Service des MIT, Hôpital saint-Louis, Pr Jean-Michel Molina; CeGIDD Hôpital de la Grave, Toulouse, Dr Nathalie Spenatto; CeGIDD, Lyon Dr Fatima Yassir Oria; CeGIDD, Besançon, Dr Fabien Pelletier; CeGIDD, Hôpital Bichat, APHP, Dr Fabrice Bouscarat ; Service de Dermatologie, Hôpital de Valenciennes, Dr Annie Vermersch 100/5 ; CeGIDD, Marseille, Dr Pervenche Martinet; Service de Dermatologie, Hôpital de la Réunion, Dr Antoine Bertolotti; Service des MIT, Hôpital de Rennes, Pr Pierre Tattevin; Service des MIT, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Dr Gentiane Monsel; CeGIDD, Montpellier, Dr Eric Picot; Service des MIT, Hôpital de Tourcoing, Dr Isabelle Alcaraz.

# 1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

---

## 1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Par arrêté du 30 décembre 2022 (JO no 2022-1770), 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<sup>er</sup> janvier 2023 au 31 décembre 2027. Le CNR IST bactériennes oriente en priorité ses activités sur les infections à *C. trachomatis*, les infections à gonocoque, la syphilis et les infections urogénitales à mycoplasmes, notamment *M. genitalium*. 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 et des mycoplasmes uro-génitaux ;
- 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 apportant une expertise moléculaire notamment sur les souches de *Neisseria gonorrhoeae* et de *Treponema pallidum* ;
- en participant à l'actualisation des recommandations concernant les méthodes de dépistage et de diagnostic ainsi que des recommandations thérapeutiques ;
- 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 en lien l'agence nationale de santé publique la surveillance des infections anorectales à *Chlamydia trachomatis* et en veillant à la représentativité nationale de cette surveillance ;
- en assurant une surveillance de la sensibilité du gonocoque et des mycoplasmes urogénitaux aux anti-infectieux au niveau national et en veillant à la représentativité nationale des centres participants ;
- en assurant une surveillance moléculaire des souches de gonocoque et des génotypes des infections anorectales à *Chlamydia trachomatis* ;
- en collaborant à la surveillance de la syphilis congénitale ;
- en collaborant à l'identification des diagnostics d'IST dans les bases médico-administratives du SNDS ;
- 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 ou regroupement de cas dans une sous-population ; modifications des formes cliniques (répartition, expression clinique, formes inhabituelles) ; augmentation du nombre de cas ; émergence d'une souche échappant aux techniques diagnostiques habituelles ou multirésistante ; etc.
- en participant à l'investigation de cas groupés d'IST.

## 1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels 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@chu-bordeaux.fr

**Responsable administratif** :  
Mme Anne Moulin, directeur médico-technique  
Direction Générale CHU de Bordeaux  
12 rue Dubernat  
33404 Talence  
Tel 05 57 65 64 68  
email : anne.moulin@chu-bordeaux.fr

**Organigramme du CNR IST bactériennes**  
**Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux**  
**UMR 5234 MFP, Equipe ARMYNE, CNRS-Université de Bordeaux**

- Cécile Bébéar (PU-PH) - directeur CNR et USC EA 3671 ETP 0,20
- 1. Secteur C. trachomatis, responsable O. Peuchant**
- Olivia Peuchant (MCU-PH) ETP 0,15
- Jennifer Guiraud (AHU) ETP 0,05
- 2. Secteur Mycoplasmes urogénitaux, responsable S. Pereyre**
- Sabine Pereyre (PU-PH) ETP 0,15
- Jennifer Guiraud (AHU) ETP 0,05
- 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\*
- A recruter, ingénieur bioinformaticien ETP 0,5\*
- Carla Balcon, technicienne ETP 1\*

- Amandine Dolzy, technicienne	ETP 1*
- Laurie Madras, technicienne	ETP 1**
- Charlène Ancelin, technicienne qualité	ETP 0,5*
- Marie Gardette, ingénieur CHU	ETP 0,25
- Nadège Hénin, technicienne UBx	ETP 0,8
- M. Tobler, secrétaire	ETP 0,1
- Claudio Nunes Figueiredo, cadre de santé CHU	ETP 0,1

\*Personnel rémunéré par la subvention SpF, C. Ancelin recrutée en collaboration avec le CNRCH (P. Lehours, service de Bactériologie CHU Bordeaux).

\*\*1 ETP technicien 12 mois dans le cadre du projet PrevIST, INSERM-SpF-CNR IST-CNR HPV. 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

### Laboratoire de Bactériologie

#### GH Saint Louis-Lariboisière-Fernand Widal (APHP)

Pr Béatrice Berçot, chef de service

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](mailto:beatrice.bercot@aphp.fr)

**Responsable administratif** : Manuela Klapouszczak

Directrice par interim de l'hôpital St Louis

Assistée de Mesdames Sophie Boisselet / Christel Predinas

Direction des Finances et du Contrôle de Gestion

Tél : 01.42.38.51.20

Mail : [christel.predinas@aphp.fr](mailto:christel.predinas@aphp.fr)

### Organigramme du laboratoire associé « gonocoques »

#### Laboratoire de Bactériologie, GH Saint-Louis

#### UMR 1137 INSERM, Université Sorbonne Paris Cité

### Secteur *N. gonorrhoeae*, responsable B. Berçot

Béatrice Berçot (PU-PH, MD, PhD) – Directrice du laboratoire associé au CNR des IST bactériennes

pour l'expertise gonocoque .....ETP 0,35

- François Caméléna (AHU, PH en 2023) .....ETP 0,35

- 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 Mérimèche, bioinformaticienne .....	ETP 1 *
- Fabienne Meunier, technicien de laboratoire.....	ETP 1 *
- A recruter, ingénieur data manager biostatisticien .....	ETP 0,5 *
- Chloé Voitichouk, technicienne ANRS .....	ETP 1**
- Maeva Garros, ingénieur d'étude ANRS.....	ETP 1**
- Caroline Cazaux, secrétaire.....	ETP 0,05
- Géraldine Goudefroye, cadre de santé .....	ETP 0,05

\*Personnel rémunéré par la subvention SpF.

\*\*Personnel rémunéré par l'étude ANRS174 Doxyvac.

Jean-Michel Molina, infectiologue, est le coordonnateur des essais cliniques ANRS Prévenir et Doxyvac.

### 1.2.3 Laboratoire APHP Cochin, laboratoire associé

**U1016, Laboratoire de Biologie Cutanée  
Service de Dermatologie  
Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca (APHP)**

Bâtiment Faculté de Médecine

Etage 2, porte 2003

27, 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 Nadjat Benhaddou

Tél. : +33 (0) 1 58 41 27 88

Fax : +33 (0) 1 58 41 15 48

Email : nadjat.benhaddou@cch.aphp.fr

**Responsable administratif :**

Roland MULLER

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 : roland.muller@aphp.fr

**Organigramme du laboratoire associé syphilis**

**U1016, Laboratoire de Biologie Cutanée**

**Service de Dermatologie**

**Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel Dieu-Broca (APHP)**

- Nicolas DUPIN (PU-PH) – directeur du CNR associé syphilis ..... ETP 0,3
- Nadjet BENCHADDOU (Biologiste, Praticien attaché) ..... ETP 0,3\*
- Philippe GRANGE (Ingénieur Hospitalier, PhD)..... ETP 0,3
- Johan CHANAL (PH) ..... ETP 0,3
- Guillaume OLLAGNIER (Technicien Etude Clinique)..... ETP 1,00\*

\*Personnel rémunéré par la subvention 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'équipe ARMYNE (Antimicrobial Resistance in MYcoplasmas and gram-NEgative bacteria), UMR CNRS 5234 MFP (Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité) à l'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 m<sup>2</sup> avec 1 poste de sécurité microbiologique (PSM) classe 2, 1 étuve à CO<sub>2</sub>, 1 réfrigérateur-congélateur, 1 centrifugeuse thermostatée pour la culture cellulaire de *C. trachomatis*, 1 microscope inversé et 1 pièce de 15,25 m<sup>2</sup> pour la culture des mycoplasmes avec 1 PSM classe 2, 1 étuves à CO<sub>2</sub>, 2 réfrigérateurs-congélateurs à -20°C
- Laverie-stérilisation du plateau Microbiologie-Immunologie du CHU de Bordeaux : 30,5 m<sup>2</sup>
- 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.
- 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
- 3 Amplificateurs Light Cycler 480, version 96, Roche
- 1 Amplificateur point final Thermocycleur Mastercycler Nexus GX2 32 et 64 puits gradient module individuel, Eppendorf
- Extracteurs d'acides nucléiques MagNaPure 96 (Roche), MagNaPure 24 (Roche), MagNA Pure Compact (Roche).
- Migration d'acides nucléiques par électrophorèse capillaire QIAxcel (QIAGEN)
- Fluoromètre de quantification des acides nucléiques Qubit (ThermoFisher Scientific)
- Plateforme de migration capillaire 4200 TapeStation System (Agilent) pour le contrôle qualité et la quantification des librairies NGS
- Plateforme automatisée de préparation de librairie NGS Magnis NGS Prep System (Agilent), en prévision d'achat
- Séquenceur de nouvelle génération pour ADN iSeq 100 (illumina), mutualisé avec le CNRCH
- 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 dédiés 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 ARMYNE, UMR CNRS 5234 MFP**

- 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 (Sonic materials)
- 1 système complet d'imagerie E-Box pour gels d'électrophorèse (Fisher Bioblock)
- 1 microscope à fluorescence, 1 microscope inversé, 1 microscope
- 1 appareil de PCR en temps réel z480 (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 du département Sciences Biologiques et Médicales, 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 Saint-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 en 2020-2021.

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 Cité.

Le laboratoire bénéficie du matériel bureautique (téléphones, fax, ordinateurs, photocopieurs, scanners, réseau internet) des infrastructures du GH SLS-LRB-FW et de l'Université de Paris Cité qui l'hébergeant.

### Techniques culturelles en Bactériologie (plateau de 500 m2) :

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 automatique 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 m<sup>2</sup> 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 correspond aux plateformes suivantes :

- 2 Cobas 6800 (Roche)
- 1 GenXpert 16 places (Cepheid)
- 1 Alinity BM (Abbott)
- 1 NeumoDX (Qiagen)
- 2 Genlead (Diagenode) correspondant à 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)

### Locaux

- Un espace est 20 m<sup>2</sup> consacré aux extractions sur colonies pour le séquençage haut débit (NGS) 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 m<sup>2</sup> consacré aux extractions sur prélèvements 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 m<sup>2</sup> 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 bain-maries à sec pour tubes Eppendorff
- 1 Qubit

#### Matériel pour l'amplification / la détection

- 4 amplificateurs d'ADN classiques pour PCR (Bio-Rad MiniJ et Applied Biosystems)
- 6 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 Labchip
- 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 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

#### Analyses de séquence

- Les analyses des séquences NGS sont effectuées sur la plateforme Mage et Moabi (APHP). La suite d'outils utilisés pour l'analyse des données brutes de séquençage est installée sur la plateforme Galaxy / Moabi avec accès G-Route : nettoyage, assemblage, typage, résistome et phylogénie. L'annotation des séquences assemblées est assurée par la plateforme Mage.

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<sup>ème</sup> étage dans le bâtiment de la Faculté de Médecine. Ces locaux représentent environ 100 m<sup>2</sup> 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 sacoche 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 sacoche 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<sup>ème</sup> 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) dédiés 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 sont des activités partagées au sein de l'équipe afin de regrouper le lieu d'utilisation des produits classés cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction.

#### 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, la plateforme GENOM'IC dédiée à l'analyse en biologie moléculaire.

## 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 tout le territoire) et à *M. genitalium*, recueillis à partir du 1er 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) et au laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux à -80°C, dans des congélateurs sous report d'alarme et contrôle de température.

La collection du CNR à Bordeaux comprend des prélèvements positifs à *C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis* et à *M. genitalium* et des souches de *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis* et de *C. trachomatis*. La distribution de la collection 2022 par projet est détaillée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau. Collection de matériel biologique au CNR IST à Bordeaux pour 2022**

Projet	Nombre d'échantillons
<b>Diagnostic de la LGV</b>	
LGV 2022*	2325



## Recherche de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium*

2022 989

### Enquêtes

MYCOMET 2021 (Souches UuUpMh) 205

MGMET 2021 (MG) 599

### Souches *C. trachomatis* isolées en routine

Souches *C. trachomatis* 2022 21

### Souches UuUpMh isolées en routine

Souches UuUpMh 2022 86

TOTAL 4225

\*Incluant les enquêtes ANACHLA; MG : *M. genitalium*; CT : *C. trachomatis*; UuUpMh: *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis*; MGMET : MG en métropole.

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 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 *Ureaplasma* 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 du Comité de protection des Personnes Sud-Ouest et outre-Mer III.

### - Bases de données de séquences (cf 2.6)

Notre laboratoire utilise, entre autres, 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.

Les séquences (FASTQ et FASTA) issus de WGS de *C. trachomatis* seront stockées sur un lecteur sécurisé (2 To) sur le réseau du CHU de Bordeaux.

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. Tout nouvel allèle est répertorié et déposé dans GenBank. Un total de plus de 300 allèles est répertorié à ce jour.

Les séquences (FASTQ et FASTA) issus de WGS des mycoplasmes urogénitaux seront stockées sur un lecteur sécurisé (2 To) sur le réseau du CHU de Bordeaux.

## 1.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Le LA-CNR IST a constitué sur la mandature une collection de 15877 souches comprenant la récupération de la collection Renago, 9119 prélèvements et 1615 séquences NGS.

Notre laboratoire possède 16 souches WHO qui sont classées comme souches de référence internationale par l'OMS. (Unemo M. *et al.* J. Antimicrob. Chemother. 2009;63,1142-51) et une souche de référence propre au CNR (Berçot B, *et al.* Euro Surveill. 2014;19(44):7-9.)

Le tableau ci-dessous résume les collections qui sont plus détaillées en 3.1.4.2.

**Tableau. Collection de matériel biologique au LA-CNR IST à Saint-Louis.**

<b>PROJETS LA-CNR</b>	
<b>Surveillance de la résistance sur souches et NGS (fastQ )</b>	
ENGON 2017	25
ENGON 2018	195
ENGON 2019	376
ENGON 2020	446
ENGON 2021	894
ENGON 2022	635
ANRS IPERGAY	8
ANRS DOXYVAC DEPUIS 2021	42
PREpeurs BORDEAUX	25
C3G-R France 2008-2020	300
HAITI 2018	25
BURKINA FASO 2018-2019	52
COLLECTION RENAGO 2008-2018	13 100
<b>Surveillance de la résistance sur prélèvements</b>	
DROM 2018-2019	211
ANRS IPERGAY 2016-2017	70
ANRS REMIND 2018-2020	7142 pour CT/NG 277 expertises pour NG
LOME (TOGO) 2017	52
ANRS (MALI) 2018	2
Depl85	
<b>Autres souches d'intérêt</b>	
Souches invasives	23
Souches du Contrôle de Qualité européen 2017-21	40
Souches WHO et CNR	17
Cas judiciaires ou expertise CNR	182
<b>TOTAL 2017-2022</b>	<b>24 266</b>

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 16 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.

### - Bases de données de séquences

Le LA-CNR IST dispose de 2529 séquences NGS de gonocoque, cf chapitres 2.6 et 3.1.6.2, activités de séquençage à l’hôpital Saint-Louis.

### 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.

**Tableau. Collection d’échantillons positifs à *T. pallidum* sur la période 2006-2022.**

Nombre	Type de prélèvement						
	LCR	Placenta	Liq. Amniotique	Cordon / Sang de cordon	Ecouvillon	Biopsie	Sang total
<b>Total</b>	139	20	9	12	859	63	23

Nous disposons de **1125 échantillons positifs par amplification et de 440 immun-sérums.**

**Tableau. Collection du matériel biologique sur la période 2017-2022.**

Année	Type de prélèvement																	
	LCR		Placenta		Liq. Amniotique		Cordon / Sang de cordon		Ecouvillon		Biopsie		Sérum		Sang total		Autres	
	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos	Nb. Ech.	PCR pos
2017	289	17	39	2	12	0	22	0	204	50	17	4	230	1	28	1	18	1
2018	333	11	37	2	7	3	32	1	264	61	26	6	302	0	31	0	20	2
2019	347	10	48	1	12	0	37	0	310	43	27	1	362	0	33	0	36	0
2020	280	5	49	3	5	2	76	3	196	48	23	8	349	0	27	1	5	0
2021	357	1	57	4	7	2	32	0	232	38	35	6	351	0	34	1	12	0
2022	291	2	58	3	5	0	36	0	218	52	30	6	397	0	14	0	11	2
<b>Total</b>	<b>1897</b>	<b>46</b>	<b>288</b>	<b>15</b>	<b>48</b>	<b>7</b>	<b>235</b>	<b>4</b>	<b>1424</b>	<b>292</b>	<b>158</b>	<b>31</b>	<b>1991</b>	<b>1</b>	<b>167</b>	<b>3</b>	<b>102</b>	<b>5</b>

Sur la période 2017-2022, nous avons reçu un total de 6310 échantillons pour expertise moléculaire et/ou sérologique dont 404 sont positifs pour *T. pallidum* après amplification.

## - Bases de données de séquences

Pas de données de séquences pour *T. pallidum* horsmi celles citées en 2.6. Cette technique sera mise en place lors de la prochaine mandature.

## 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 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.

Nous avons déposé deux demandes d'ajout d'analyse dans le cadre de l'accréditation : **le diagnostic moléculaire de la LGV à *C. trachomatis* (portée B) et le diagnostic moléculaire de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* (portée A)**. Le laboratoire réalise ce travail avec l'aide de la cellule qualité du pôle Biologie et Pathologie. Tous les modes opératoires et dossiers de validation de méthodes ont été rédigés et sont enregistrés 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 depuis 2018 (0,5 ETP pour chaque CNR) par le CNR IST et le CNRCH hébergés dans le même laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux. Un 1<sup>er</sup> 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 et N. Hénin, technicienne au CNR ont été formées et habilitées en tant que correspondantes assurance qualité (CAQ). En 2021, A. Touati a suivi une formation et a été habilitée en tant qu'auditeur interne. Dans le cadre de la démarche d'accréditation du CNR un document de type « SH FORM 43 » a été déposé pour la validation en portée B de la détection de *C. trachomatis* souche L par PCR en temps réel qualitative, pour la validation en portée A de la détection de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* sur l'automate Ingenius d'ELITech ainsi que pour le diagnostic de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis* sur l'automate Cobas6800 de Roche. Lors de la visite du COFRAC en décembre 2022, la détection de *C. trachomatis* souche L par PCR en temps réel qualitative et le diagnostic de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis* sur l'automate Cobas 6800 de Roche ont été accrédités. La 3<sup>ème</sup> technique devrait être auditée lors d'une prochaine visite du COFRAC.

En ce qui concerne **les contrôles de qualité** de 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**, 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. Les échanges réalisés en 2022 ont donné des résultats conformes pour les 2 laboratoires.

Le contrôle de qualité ***M. genitalium*** du Quality Control Molecular Diagnostics (QCMD) a été réalisé en 2022 et a inclus un contrôle qualité pour la résistance aux macrolides. Nous avons également participé en 2022 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 selon la norme ISO 15189

Le laboratoire du LA-CNR IST bactériennes est situé dans le Service de Bactériologie du CHU de Saint Louis et, à ce titre, suit la démarche de la Cellule Qualité –Métrologie du DMU BioGEM Biologie Génomique Médicale du GH Nord de Paris pour l'obtention de l'accréditation totale selon la norme EN ISO 15189. Le laboratoire est, tout au long du processus en cours accrédité à travers ce DMU au COFRAC comme un laboratoire unique. Comme pour nos analyses courantes, les non-conformités qui sont rares au LA-CNR sont tracées avec un appel vers les laboratoires concernés.

Chaque appel reçu au CNR fait l'objet d'une traçabilité. Le personnel technique et les biologistes du CNR ont été habilités pour travailler dans le laboratoire de Bactériologie et de Biologie moléculaire de Saint Louis.

Le diagnostic bactériologique pour la **recherche des gonocoques en culture** est accrédité au même titre que celle de la bactériologie classique avec les lignes de portée correspondantes à la mise en culture sur la chaine WaspLab, l'identification par spectrométrie de masse et la réalisation et lecture des antibiogrammes en E-test. Cette activité est contrôlée par des programmes d'EEQ du Centre Toulousain pour le Contrôle de Qualité en Biologie Clinique, pour la Microbiologie et pour les contrôles européens spécifiques pour le gonocoque.

Nous avons été **audités par le COFRAC (audit de surveillance) pour les analyses TAAN CT/NG sur l'automate Roche 6800 en mars 2023 avec la notification de nos analyses comme point fort du site**. Il a été observé le déménagement du 1er COBAS 6800, la qualification du 2ème COBAS 6800, la comparaison des 2 automates et tous les documents relatifs aux CT/NG notamment les dossiers de validation de méthode, la gestion des contrôles, la validation biologique, la prestation conseil, les habilitations des technicien(ne)s, des biologistes et des internes, la métrologie, les connexions informatiques avec les tests de pérennité et de non-régression, la cartographie informatique, le pourcentage de lecture des documents, la gestion des réactifs et consommables et la traçabilité documentaire.

### Conservation des données de séquençage NGS

Le LA-CNR de St Louis utilise la **plateforme bio-informatique de l'APHP MOABI "Multi Omics Analytics & Bioinformatics"** qui est une infrastructure française agréée pour l'analyse et l'hébergement de données de santé de l'APHP et de recherche dirigée par Guillaume Meurice pour toutes ses analyses et stockage des données de séquençage haut débit. Cette plateforme Moabi est en lien direct avec la plateforme **SeqOIA-IT** qui est un Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites (LBMMS) autorisé à l'activité de biologie médicale et à la réalisation d'exams des caractéristiques génétiques constitutionnelles par l'Agence Régionale de Santé d'Ile-de-France et l'Agence de Biomédecine. SeqOIA-IT constitue un Groupement de Coopération Sanitaire (GCS) de droit privé constitué entre l'AP-HP, l'Institut Curie et Gustave Roussy pour mettre en œuvre un laboratoire de séquençage à très haut débit afin de répondre aux objectifs du Plan France Médecine Génomique 2025. **Moabi partage avec SeqOIA-IT son infrastructure** (cluster de calcul, stockage à froid), son architecture technique (GO-Docker, Marathon, Mesos), son expertise et savoir-faire en bio-informatique (pipeline d'analyse).

Le pipeline de traitement des données de NGS a été élaboré par la bioinformaticienne du CNR (Manel Mérimèche) en 2017 qui travaille directement sur le site de la plateforme MOABI (cf. partie 3.1.6.2). Ce pipeline dénommé **NG-AR2T (NG-Assembly, Resistome, Typing&Tree)** est déployé sur le portail G-route de la plateforme de bio-informatique de l'AP-HP, MOABI. Les génomes sont codés avec un numéro unique qui inclut l'année, la bactérie, la fin du numéro GLIMS et ;l'étude concernée. 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 de l'APHP**. Les données vives y sont conservées 5 ans pour analyse puis archivées sur le serveur local de Moabi. Le déploiement du pipeline sur cette interface à travers l'interface G-Route 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*, (III) la caractérisation des déterminants de la résistance aux antibiotiques (IV) la construction d'un arbre phylogénétique et le calcul des distances génomiques ainsi que des clusters pour tracer les liens épidémiologiques entre les isolats. Ces données sont associées à un fichier "**big data**" non relié qui regroupe des données de traçabilité (code de la séquence, date de la séquence, année de l'enquête, code ENGON, nom de l'hôpital / laboratoire qui envoie la souche, numéro échantillon), des données cliniques (sexe, année de naissance, date de l'échantillon (JJ/MM/YY), date de la culture, site anatomique, statut VIH, autre IST virale ou bactérienne, motif de consultation, zone géographique, département, probable pays d'infection), des données microbiologiques (CMI de 8 antibiotiques et caractérisation SIR).

En 2022, nous avons démarré deux nouveaux processus qui seront opérationnels fin 2023 ; ces processus sont nécessaires en raison des nombreuses données recueillies dans le cadre des enquêtes ENGON et TESSy.

- **Automatisation des sorties de séquenceur (après analyse des fichiers de NGS) directement vers un fichier de big data cliniques** (travail en cours avec G. Meurice, M. Mérimèche (Entrepôt de données de santé de l'APHP) et la société Big Bang avec laquelle nous avons travaillé au début de l'ancienne mandature pour le site web du CNR.
- **Amélioration du pipeline** avec greffe des logiciels comme celui en ligne sur <http://www.mgc.ac.cn/VFs/> permettant l'analyse des déterminants de virulence en même temps que celle de la résistance.

## 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 inter laboratoire a été mis en place en 2021 avec le contrôle de 5 échantillons cliniques anorectaux avec le site de Bordeaux du CNR. En 2022, 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 et 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 leurs retours 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

Le LA-Syphilis du CNR IST bactériennes pour la partie **diagnostic sérologique de la syphilis** est intégré dans le Service de Bactériologie du GH Cochin et, à ce titre, suit la démarche de la Cellule Qualité –Métrologie du DMU Biologie médicale, Médecine Génomique et physiologie – LBM site Cochin pour l'obtention de l'accréditation totale selon la norme EN ISO 15189.

Tous les modes opératoires et dossiers de validation de méthodes ont été rédigés et sont enregistrés dans le logiciel KALILAB permettant de gérer les documents qualité. Les non-conformités mises en évidence à la réception des échantillons sont tracées avec un appel vers les laboratoires concernés. Chaque appel reçu au CNR fait l'objet d'une traçabilité.

Le diagnostic de la syphilis réalisé par les tests sérologiques : test tréponémique (TT), test non tréponémique (TNT) et test de confirmation (ImmunoBlot) sur sérum et LCR avec les lignes de portée correspondantes (SEROM, famille Sérologie Infectieuse), 80% des techniques utilisées sont accréditées depuis juin 2016.

### Liste des techniques :

- Dépistage par CLIA (automate Architect) 20%
- RPR pour sérum (Bio-Rad) + (ASI) 20%

- VDRL pour LCR (All Diag) + (Biosynex) + (Nadal) 20%
- Immunoblot (IgG/IgM Ingen) 20%

Cette activité est contrôlée par des programmes de **contrôles internes de qualité CIQ entre paires et d'EEQ** du centre Toulousain pour le Contrôle de Qualité en Biologie Clinique, pour la Microbiologie. En 2020, un contrôle de qualité externe EEQ «Accurun 256 » VDRL sur LCR a été mis en place.

Pour tout changement de réactif ou de méthode d'analyse, de nouveaux dossiers de vérification de méthode sont réalisés en référence au guide technique de validation et d'accréditation des méthodes en biologie médicale (SH-GTA-04) et des audits internes de suivi sont réalisés par la vérification des dossiers, des résultats des EEQ et des tests de traçabilité des dossiers. Des audits de suivi et de surveillance COFRAC sont réalisés tous les 2 ans pour le diagnostic sérologique, le dernier (juin 2022) n'a relevé aucun écart.

Une demande d'accréditation du diagnostic moléculaire de la Syphilis à *T. pallidum* en portée B sera ajoutée à la ligne de l'extension du diagnostic sérologique déjà accrédité. Un 1<sup>er</sup> audit interne de la biologie moléculaire sera réalisé en octobre-novembre 2023 pour une visite du COFRAC début 2024. De plus P. Grange ingénieur au CNR et G. Ollagnier technicien au CNR ont été formés et habilités en tant que correspondants assurance qualité (CAQ).

## 2 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 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 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 à 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*.

- PCR pour la recherche de mutations de l'ARNr 16S pour l'étude de la résistance aux tétracyclines (Le Roy et al. 2021. J Antimicrob Chemother 76: 1150-1154).

- PCR pour la recherche de mutations au niveau gène *gyrA* pour l'étude de la résistance aux fluoroquinolones (Dessus-Babus et al. 1998. Antimicrob Agents Chemother 42 :2474-2481).

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 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).

##### **- Liste des techniques disponibles pour le typage**

- Typage moléculaire de *C. trachomatis* pour déterminer le génotype par séquençage du gène *ompA*, sur les souches de *C. trachomatis* 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 *ompA* (Rodriguez et al. 1991. J Clin Microbiol 29:1132-1136).

- Séquençage du gène *ompA* (Lan et al. 1994. J Clin Microbiol 32 : 528-530) des souches typées L afin de vérifier la présence de souches L2 (et variants), L2b (et variants), L1 (et variants), et hybride L2/D-Da.



## - Bases de données de séquences

Notre laboratoire utilise, entre autres, 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.

Les séquences (FASTQ et FASTA) issus de WGS de *C. trachomatis* seront stockées sur un lecteur sécurisé (2 To) sur le réseau du CHU de Bordeaux.

## **Mycoplasmes**

### - 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 RevolutionN2 (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. 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 pour les enquêtes avec le kit ResistancePlus™ MG (SpeeDx, Australie). En routine, nous utilisons le kit Macrolide-R/MG ELITE MGB® sur l'automate InGenius d'ELITechGroup.

- Le diagnostic moléculaire de la résistance aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* par PCR en temps réel est réalisé pour les enquêtes et/ ou la routine avec le kit MGMO qPCR (Nytor, Pays Bas) ou Allplex MG&MoxiR (Seegene, Corée).

- 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.

- PCRs maison et séquençage 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 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 (Guiraud, et al, Microorganisms 2022 10(8):1587).

#### - Bases de données de séquences (cf 2.6)

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. Tout nouvel allèle est répertorié et déposé dans GenBank. Un total de plus de 300 allèles est répertorié à ce jour.

Les séquences (FASTQ et FASTA) issus de WGS des mycoplasmes urogénitaux seront stockées sur un lecteur sécurisé (2 To) sur le réseau du CHU de Bordeaux.

### 2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

#### 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 Vitek MS (Morel F *et al*, Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018 ;37(12):2273-2277).

##### Techniques directes par amplification d'acides nucléiques (TAAN)

- Le diagnostic moléculaire de *N. gonorrhoeae* est effectué par PCR en temps réel est réalisé avec le kit cobas ® CT/NG marqué CE-IVD détectant *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* sur la plateforme cobas ® 6800 (Roche diagnostics).

- Le diagnostic moléculaire de la résistance aux quinolones chez *N. gonorrhoeae* par PCR en temps réel est réalisé pour les enquêtes avec le kit ResistancePlus™ NG (SpeeDx, Australie).
- Le kit ResistancePlus® MG Flexible (Cepheid) détectant *M. genitalium* et sa résistance aux macrolides est disponible au laboratoire. Le kit Xpert CT/NG (Cepheid) peut être utilisé secondairement.
- Deux techniques d'identification des *N. gonorrhoeae* sur prélèvement ont été mises en place au CNR, la PCR *opA* et la PCR *rpIF*.
- Le kit de détection par PCR en temps réel VIASURE conçu pour l'identification des souches de *C. trachomatis* génovar L dans des échantillons rectaux de patients présentant des symptômes de LGV.

#### 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 CMI par la méthode des E-test (bioMérieux). Les concentrations critiques de *N. gonorrhoeae* sont précisées dans le communiqué annuel du CA-SFM <http://www.sfm.asso.fr/>.

#### **- Liste des techniques disponibles pour le typage**

Le typage moléculaire peut être effectué par différentes techniques de PCR suivi de séquençage Sanger :

- la méthode NG-MAST (amplification séquençage des gènes *porB* et *tbpB*) qui est la technique de typage de référence est effectuée suivant les recommandations internationales (Unemo et al, Clin Microbiol Rev 24:447-58). Nous avons développé une PCR nichée « maison » / séquençage pour le génotypage de *N. gonorrhoeae* sur prélèvements cliniques TAAN positifs ciblant les gènes *porB* et *tbpB*. (M. Mainardis, et al. Prevalence and survey of *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility in French Overseas Departments on clinical samples (2017-2018). IUSTI Europe Congress. 5-7 septembre 2019, Tallinn, Estonia. Poster).
- la méthode du 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 (Unemo et al, Clin Microbiol Rev 24:447-58).

Depuis quelques années, le typage moléculaire sur colonies repose sur le séquençage haut débit et la détermination du MLST, rMLST, NGSTAR, NG-MAST et le core genome (M. Merimèche, et al. NG-AR2T, an epidemiological analysis pipeline for *Neisseria gonorrhoeae* sequenced isolates. JOBIM French Congress. 30 June –3 July 2020, Montpellier, France, Poster.)

#### **- Techniques disponibles pour l'étude de la résistance aux antibiotiques**

- Extraction de l'ADN bactérien de *N. gonorrhoeae* : kit InstaGene Matrix (Bio-Rad) et QiaSymphony (Qiagen)
- Etude des plasmides par la technique de (Kieser, Plasmid 12:19-36)
- Diagnostic moléculaire de la résistance aux fluoroquinolones chez *N. gonorrhoeae* par PCR en temps réel avec le kit ResistancePlus NG (SpeeDx, Australie).
- Séquençage du gène *penA* par PCR par chevauchement (M. Mainardis, et al. Prevalence and survey of *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility in French Overseas Departments on clinical samples (2017-2018). IUSTI Europe Congress. 5-7 septembre 2019, Tallinn, Estonia. Poster.)
- Détection des gènes *bla*<sub>TEM</sub>
- Détection des mutations dans les QRDR des gènes *gyrA* et *parC* (Gueret D, et al. Molecular epidemiology of quinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in France. 24<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 10 – 13 may 2014, Barcelone)
- Détection des mutations dans les QRDR des gènes *gyrB* et *parE*
- Détection du gène *aac(6')-Ib-cr* (Fihman V et al, J Infect 2008;56:454-9).
- Détection des mutations dans les 4 allèles de l'ARNr 23S (Belkacem A, et al. J Antimicrob Chemother. 2016;71(9):2471-8)
- Détection des mutations des gènes de la pompe d'efflux *mtrCDE* et du répresseur *mtrR* (Belkacem A, et al. J Antimicrob Chemother. 2016;71(9):2471-8)

- Détection des mutations des protéines S10, L4, L22 (Belkacem A, *et al.* J Antimicrob Chemother. 2016;71(9):2471-8)
- 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*) (Belkacem A, *et al.* J Antimicrob Chemother. 2016;71(9):2471-8)
- Pyroséquençage 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. (Braille A, *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* : résistance à la tétracycline sur échantillons cliniques. 38<sup>ème</sup> RICAI, 17-18 décembre 2018, Paris)
- 2 PCR spécifiques du génome de *N. gonorrhoeae* pour la détection des principaux déterminants de résistance aux macrolides sur prélèvements cliniques TAAN positifs ciblant les mutations A2059T et C2611T dans le gène *rrl* du 23S. (C. Maubaret, *et al.* Exploration de moléculaire de gonocoques résistants à l'azithromycine en France. 42<sup>ème</sup> RICAI, 12-13 décembre 2022, Paris).

#### - Technique de séquençage haut débit à partir des cultures

Extraction, séquençage haut débit sur Miseq et/ou Nextseq (Illumina) et extraction des séquences cibles (Poncin *et al.*, Eurosurveil 2017 et 2019).

#### - Bases de données de séquences

Le LA-CNR IST dispose de 2529 séquences NGS de gonocoques, cf chapitres 2.6 et 3.1.6.2, activités de séquençage à l'hôpital Saint-Louis.

### 2.1.3 Laboratoire APHP Cochin

#### - Liste des techniques disponibles pour le diagnostic, l'identification, et l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

- Tous les tests sérologiques commerciaux utilisés dans le cadre du diagnostic de la syphilis sont accrédités et indiqués ci-dessous :

- Tests non tréponémiques : VDRL (Nadal), RPR (BioRad), RPR (Launch)
- Tests tréponémiques : Tp 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) et par PCR en temps réel -qPCR- (Salle *et al.*, Sex Transm Infect. 2022)

#### - Liste des techniques disponibles pour le typage

- 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)

#### - Bases de données de séquences

Pas de données de séquences pour *T. pallidum* horsmi celles citées en 2.6. Cette technique sera mise en place lors de la prochaine mandature.

## 2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Les 3 laboratoires du CNR IST recommandent les techniques qu'ils utilisent (cf. 2.1).

### 3 AUTRES ANNEXES

#### Annexe. Fiche de recueil des données cliniques enquête Anachla et résultats enquête Anachla 2022



<b>ANACHLA : Enquête épidémiologique sur les anorectites à <i>Chlamydia trachomatis</i>.</b> 1 mars- 31 mai 2022.		
<b>COORDONNEES DU MEDECIN PRESCRIPTEUR</b> Nom : ..... Prénom : ..... Adresse : ..... Mail : ..... <b>SPECIALITE :</b> Maladies infectieuses / Médecine interne <input type="checkbox"/> CeGIDD <input type="checkbox"/> Médecine générale <input type="checkbox"/> Dermatologie vénérologie <input type="checkbox"/> Gastro / Proctologie <input type="checkbox"/> Autre <input type="checkbox"/> .....		
<b>IDENTIFICATION DU PATIENT :</b>  Date de la consultation : ____ / ____ / ____  Genre : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> Si T, préciser si - M vers F <input type="checkbox"/> - F vers M <input type="checkbox"/>  Date de naissance : ____ / ____ / ____  Département de résidence : .....	<b>MOTIF DE CONSULTATION :</b> - Dépistage systématique hors PrEP <input type="checkbox"/> - Suivi PrEP <input type="checkbox"/> - Suivi HIV <input type="checkbox"/> - Symptomatologie anale <input type="checkbox"/> - Symptomatologie autre <input type="checkbox"/> - IST partenaire <input type="checkbox"/> - Contrôle traitement <input type="checkbox"/> - Prise de risque <input type="checkbox"/> - Patient travailleur du sexe <input type="checkbox"/> - Viol / Agression <input type="checkbox"/> - Autre <input type="checkbox"/> .....	<b>STATUT HIV :</b> Pos <input type="checkbox"/> Nég <input type="checkbox"/> Inconnu <input type="checkbox"/> <b>PREP EN COURS:</b> Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Inconnu <input type="checkbox"/>  <b>AUTRE INFECTION VIRALE ACTIVE :</b> - Herpès <input type="checkbox"/> - HPV <input type="checkbox"/> - Hépatite A <input type="checkbox"/> - Hépatite B <input type="checkbox"/> - Hépatite C <input type="checkbox"/> - Aucune <input type="checkbox"/> - Inconnu <input type="checkbox"/>
<b>RAPPORTS SEXUELS DANS LES 12 DERNIERS MOIS AVEC :</b> Homme (s) <input type="checkbox"/> Femme (s) <input type="checkbox"/> Trans <input type="checkbox"/> Inconnu <input type="checkbox"/> - Nombre de partenaires : ..... - Contamination par un partenaire : Régulier <input type="checkbox"/> Occasionnel <input type="checkbox"/> Inconnu <input type="checkbox"/>	<b>RAPPORT SEXUEL SUPPOSE CONTAMINANT :</b> En France <input type="checkbox"/> Avec une personne venant de l'étranger <input type="checkbox"/> Pays..... À l'étranger <input type="checkbox"/> Pays ..... Inconnu <input type="checkbox"/>	<b>AUTRE IST BACTERIENNE ACTIVE :</b> - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <input type="checkbox"/> - Syphilis <input type="checkbox"/> - <i>Mycoplasma genitalium</i> <input type="checkbox"/> - Autre <input type="checkbox"/> ..... - Aucune <input type="checkbox"/> - Inconnu <input type="checkbox"/>
<b>Quel traitement antibiotique avez-vous prescrit en première intention?</b> - Doxycycline 7 jours <input type="checkbox"/> - Doxycycline 21 jours <input type="checkbox"/> - Azithromycine 1 gr <input type="checkbox"/> - Autre <input type="checkbox"/> .....		
<b>Avez-vous modifié votre prescription à réception du résultat ?</b> NON <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> si Oui, préciser :		

## Réseau de surveillance des ano-rectites à *Chlamydia trachomatis* (CT) Enquête ANACHLA 2022



CNR des IST bactériennes. CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin  
Laboratoire de bactériologie, Place Amélie Raba Léon 33076 BORDEAUX CEDEX  
Tél : 05 57 82 16 77 Fax : 05 56 93 29 40  
Site Web: <https://www.cnr-ist.fr/>

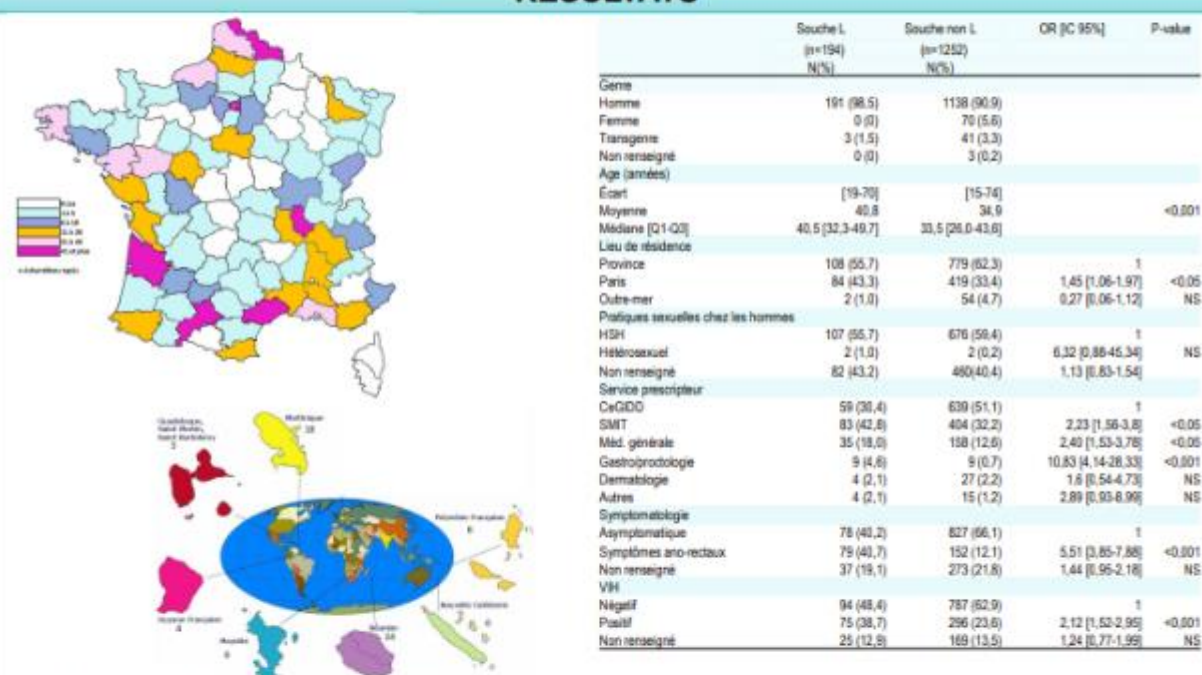
### OBJECTIFS

- Détermination de la prévalence de la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) ano-rectale 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.
- Évaluation des pratiques de traitement en comparaison avec les recommandations.

### MATERIELS ET METHODES

Du 1<sup>er</sup> mars au 30 mai 2022, les laboratoires ayant accepté de participer à l'étude ont envoyé au CNR des IST bactériennes tous leurs échantillons ano-rectaux positifs à *C. trachomatis* au moyen d'enveloppes T pré-adressées. L'extraction d'ADN a été réalisée sur l'automate MagNaPure 96™ (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 *mpH* (1). 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, spécialité médicale, motif de consultation, présence de symptômes, informations sur le comportement sexuel, traitement). Ces données ont été colligées de façon anonyme sur un fichier Excel.

### RESULTATS



Au cours de cette enquête, 1558 échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* ont été reçus.

Un résultat interprétable en PCR LGV a été obtenu pour 1467 échantillons (94,2%). Le taux de retour des fiches cliniques demandées aux cliniciens était de 61,8% (907/1467). Ces échantillons provenaient de 134 laboratoires de France métropolitaine et d'Outremer et appartenaient à 1446 patients (1329 hommes (91,9%), 70 femmes (4,8%), 44 transgenres (3%) et 3 personnes de sexe inconnu. L'âge médian était de 33,8 ans [16-71] chez les hommes, de 22,8 ans [15-51] chez les femmes et de 36,7 ans [21-74] chez les transgenres. La majorité des transgenres avait une conversion Homme vers Femme, seule une personne avait une conversion Femme vers Homme.

Après dédoubleurage, parmi les 1446 échantillons analysés, **194 (13,4%) étaient de génovar L** et 1252 (86,6%) étaient de génovar non-L. On notait que 10,2% (108/887) des échantillons issus de province étaient de génovar L versus 16,7% (84/503) des échantillons provenant de l'île de France ( $p < 0,05$ ). Deux cas de LGV ont été retrouvés dans les DROM (Guadeloupe et Guyane).

**Le nombre de partenaires rapportés dans l'année influait sur la présence d'une souche de génovar L** (29,4 partenaires) ou non-L (18,8 partenaires) ( $p < 0,05$ ). Nous observons une différence en fonction du pays d'origine de la contamination : **11,5% (11/96) des patients LGV ont été infectés à l'étranger ou par un partenaire venant de l'étranger** vs 2,8% (19/669) chez les non-LGV ( $p < 0,001$ ).

Les patients porteurs d'une souche non-L provenaient des CeGDD dans 51,0% (639/1252) des cas vs 30,4% (59/194) pour les LGV ( $p < 0,001$ ).

Les **patients LGV présentaient plus souvent des symptômes ano-rectaux** que les patients non-LGV (respectivement 40,2% (78/194) vs 8,3% (104/1252)), ( $p < 0,001$ ).

Les patients non LGV consultaient plus souvent pour un suivi de PrEP que les patients LGV (respectivement 22,4% (281/1252) vs 8,8% (17/197)), ( $p < 0,001$ ).

Les **patients LGV étaient plus fréquemment séropositifs pour le VIH** (38,7%, 75/194) que les patients non-LGV (23,6%, 296/1252), ( $p < 0,001$ ).

Nous ne trouvons pas de différence statistiquement significative concernant la prévalence de LGV parmi les PrEPeurs vs l'ensemble de la population des hommes étudiée, respectivement 12,7% (53/418) et 14,4% (191/1329), ( $p > 0,05$ ).

## Enquête *Mycoplasma genitalium* Métropole 2021

### INTRODUCTION

Le CNR des IST bactériennes surveille l'évolution de la résistance de *Mycoplasma genitalium* (MG) en France depuis 2017. Macrolides et fluoroquinolones sont d'un intérêt majeur car ils correspondent respectivement aux antibiotiques de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> intention.

### OBJECTIF

**Déterminer la prévalence de la résistance de *Mycoplasma genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine en 2020.**

### MATERIELS ET METHODES

- Collecte de tous les échantillons positifs à MG entre le 15/9/2021 et le 15/10/2021 dans 38 centres métropolitains.
- Extraits d'ADN : kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume sur MagNA Pure 96 (Roche Diagnostics).
- Résistance aux macrolides : PCR en temps réel maison FRET ou PCR multiplex commercialisée (ResistancePlus® MG, SpeeDx et Macrolide-R/MG ELITe MGB®, ELITech Group). Séquençage de l'ARNr 23S si mutation détectée.
- Résistance aux fluoroquinolones : amplification et séquençage de la QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) du gène *parC*. Les échantillons non amplifiés ou présentant une séquence non interprétable ont été testés avec une PCR multiplex commercialisée RUO (MGMO qPCR, NYTOR).

### RESULTATS

La prévalence globale de l'infection à *M. genitalium* dans l'ensemble des centres participants était de 2,68% durant la période d'enquête.

Un total de 599 échantillons (51% cervico-vaginaux, 30% urines, 9% rectaux), provenant de 580 patients dont 59,6% de femmes, a été collecté.

La résistance aux macrolides était de 35,2%, significativement plus élevée chez les hommes que chez les femmes (54,8% vs 22,0%,  $p < 0,001$ ).

Cette prévalence est inférieure à celle de 42,1% décrite en 2020. Cependant, en comparant les 12 centres ayant participé entre 2018 et 2021, cette baisse n'était pas significative (34,6% en 2018, 35,3% en 2019, 35,6% en 2020 versus 36,2% en 2021,  $p > 0,05$ ).

La résistance aux fluoroquinolones était de 17,7%, sans différence entre hommes et femmes, stable depuis 2018 pour les 12 centres constants (16,1% en 2018, 15,5% en 2019, 18,4% en 2020 et 20,0% en 2021).

La double résistance était de 12,8% des cas, sans augmentation significative depuis 2018.



### CONCLUSIONS

La résistance aux macrolides chez MG reste élevée mais stable en France avec une différence marquée entre hommes et femmes, soulignant la nécessité de réaliser une détection de la résistance aux macrolides pour tout échantillon positif à MG. Après une forte augmentation de la résistance aux fluoroquinolones entre 2017 et 2018, une stabilisation est observée. Cette résistance reste néanmoins préoccupante de part la faible efficacité des traitements de 3<sup>ème</sup> intention.

### Remerciements pour les deux enquêtes

- ❖ Tous les biologistes des laboratoires hospitaliers et privés, ainsi que leurs équipes
- ❖ Tous les médecins spécialistes, les médecins généralistes et les médecins exerçant dans un Centre Gratuit d'Information, de Dépistage et de Diagnostic des IST (CeGIDD)

### L'équipe du CNR IST

Cécile LAURIER-NADALIE, Marie GARDETTE, Arabella TOUATI, Laura ALBUCHER, Amandine DOLZY, Nadège HENIN, Jennifer GUIRAUD, Olivia PEUCHANT, Sabine PEREYRE, Cécile BEBEAR