

# Rapport annuel d'activité 2024

## *Année d'exercice 2023*

**CNR Infections sexuellement transmissibles bactériennes**

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



RESUME ANALYTIQUE- FAITS MARQUANTS .....	7
EXECUTIVE SUMMARY- HIGHLIGHTS .....	8
<b>1 Missions et organisation du CNR .....</b>	<b>9</b>
<b>2 Activités d'expertise .....</b>	<b>9</b>
2.1 Evolution des techniques .....	9
2.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	9
2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	9
2.1.3 Laboratoire APHP Cochin .....	10
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse .....	10
2.2.1 Evaluation de plaques à façon pour la détermination de CMI des mycoplasmes urogénitaux .....	10
2.2.2 Evaluation de kits de PCR en temps réel multiplexes nouvellement commercialisés pour la détection simultanée de plusieurs agents d'IST .....	10
2.2.3 Etude de la sensibilité de <i>C. trachomatis</i> à la gépotidacine (annexe 3) .....	11
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires .....	11
2.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	11
2.3.1.1 Diagnostic de la LGV .....	11
2.3.1.2 Détection de résistance de <i>M. genitalium</i> aux macrolides .....	11
2.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	11
2.3.3 Laboratoire APHP Cochin .....	11
2.4 Collections de matériel biologique .....	11
2.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	11
2.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	12
2.4.3 Laboratoire APHP Cochin .....	12
2.5 Activités d'expertises .....	13
2.5.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	13
2.5.1.1 <i>C. trachomatis</i> .....	13
2.5.1.2 Mycoplasmes urogénitaux .....	13
2.5.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	15
2.5.3 Laboratoire APHP Cochin .....	16
2.6. Activités de séquençage .....	17
2.6.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	17
2.6.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	18
2.6.3 Laboratoire APHP Cochin .....	19
2.7. Partage de séquences produites par les CNR .....	20
2.7.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	20
2.7.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	20
2.7.3 Laboratoire APHP Cochin .....	20

<b>3 Activités de surveillance .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Description du réseau de partenaires .....</b>	<b>22</b>
3.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	22
3.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	23
3.1.3 Laboratoire APHP Cochin .....	24
3.1.3.1 Dans le cadre du protocole GenoSyph.....	24
3.1.3.2 Dans le cadre de l'expertise .....	25
<b>3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....</b>	<b>26</b>
3.2.1 Anorectites à <i>C. trachomatis</i> : enquête Anachla 2023 .....	26
3.2.2 Infections à gonocoque .....	31
3.2.2.1 Cas d'infections recensées dans l'enquête ENGON 2022 .....	31
3.2.2.2 Cas de gonococcies invasives expertisées au CNR en 2023 .....	31
3.2.3 Syphilis .....	32
3.2.3.1 Dans le cadre du protocole GenoSyph.....	32
3.2.3.2 Dans le cadre de l'expertise .....	32
3.2.3.3 Dans le cadre du réseau Anachla.....	33
<b>3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....</b>	<b>34</b>
<b>3.3.1 Surveillance de la résistance de <i>M. genitalium</i> aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine et en Outre-mer .....</b>	<b>34</b>
3.3.1.1 Surveillance de la résistance de <i>M. genitalium</i> aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine (MGMET 2022).....	34
3.3.1.2 Surveillance de la résistance de <i>M. genitalium</i> aux macrolides et aux fluoroquinolones en Outre-mer (étude MGDROM 2022).....	37
<b>3.3.2 Surveillance de la résistance de <i>Ureaplasma spp.</i> et <i>M. hominis</i> aux antibiotiques en France métropolitaine (enquêtes MYCOMET).....</b>	<b>40</b>
<b>3.3.3 Surveillance de la résistance de <i>N. gonorrhoeae</i> en France .....</b>	<b>41</b>
3.3.3.1 Surveillance de la résistance de <i>N. gonorrhoeae</i> en France métropolitaine (enquête ENGON 2022) : analyse des antibiogrammes.....	41
3.3.3.2 Surveillance de la résistance de <i>N. gonorrhoeae</i> en France métropolitaine (enquête ENGON 2022) : analyse NGS comparative .....	45
3.3.3.3 Surveillance de la résistance de <i>N. gonorrhoeae</i> en France métropolitaine (enquête ENGON 2023) : résultats préliminaires (CMI uniquement) .....	47
<b>3.3.4 Surveillance de la résistance de <i>T. pallidum</i> aux macrolides en 2022 .....</b>	<b>49</b>
<b>3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....</b>	<b>50</b>
3.4.1 CNR IST .....	50
3.4.2 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	51
3.4.3 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	51
3.4.4 Laboratoire APHP Cochin .....	51
<b>3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance .....</b>	<b>51</b>

3.5.1 Etude nationale de prévalence des infections sexuellement transmissibles (PréVIST) INSERM - Santé publique France - CNR IST-CNR HPV (annexe 3).....	51
3.5.2 Syphilis et grossesse .....	51
<b>4 Alertes .....</b>	<b>52</b>
4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	52
4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	52
4.3 Laboratoire APHP Cochin .....	52
<b>5 Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil .....</b>	<b>54</b>
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé .....	54
5.1.1 Webinaires du CNR IST .....	54
5.1.2 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	54
5.1.3 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	56
5.1.4 Laboratoire APHP Cochin .....	57
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires .....	58
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	59
5.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	59
5.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis .....	59
<b>6 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....</b>	<b>61</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.....	61
6.1.1 Projets de recherche communs.....	61
6.1.1.1 Étude ANRS DOXYVAC, résultats finaux.....	61
6.1.1.2 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) ...	62
6.1.2 Laboratoire CHU de Bordeaux .....	62
6.1.2.1 Etude prospective, monocentrique, interventionnelle, sur la clairance vaginale spontanée de <i>M. genitalium</i> (MYCOCLEAR) .....	62
6.1.2.2 Prévalence de <i>Mycoplasma penetrans</i> dans les échantillons urogénitaux masculins reçus pour détection de <i>C. trachomatis</i> et <i>N. gonorrhoeae</i> au CHU de Bordeaux.....	63
6.1.2.3 Prévalence de <i>Mycoplasma penetrans</i> dans les échantillons anaux (étude MYPEGA) ...	63
6.1.2.4 Étude de la viabilité par PCR des principales IST bactériennes chez les HSH (VISTH)-annexe 3 .....	63
6.1.2.5 ICEs et conjugaison chez <i>M. hominis</i> -annexe 3 .....	63
6.1.2.6 Sélection in vitro de mutants résistants à la pristinamycine chez <i>M. genitalium</i> - annexe 3 .....	64

6.1.3	Laboratoire APHP Saint-Louis .....	64
6.1.3.1	Étude de la virulence et de l'invasion du gonocoque dans un modèle d'épithélium cellulaire – annexe 3.....	64
6.1.4	Laboratoire APHP Cochin .....	64
6.1.4.1	Comparaison des techniques de sérologies et de PCR dans le LCR .....	64
6.1.4.2	Évaluation de la place de la PCR T. pallidum sur des ulcérations sérologiquement négatives .....	64
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.....	65
6.2.1	Laboratoire CHU de Bordeaux .....	65
6.2.2	Laboratoire APHP Saint-Louis .....	68
6.2.3	Laboratoire APHP Cochin .....	69
<b>1.</b>	<b>Annexe 1 : Missions &amp; organisation du CNR.....</b>	<b>70</b>
1.1	Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés .....	70
1.2	Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.....	72
1.2.1	Laboratoire CHU de Bordeaux, laboratoire coordonnateur .....	72
1.3	Locaux et équipements .....	76
1.4	Collections de matériel biologique .....	80
1.5	Démarche qualité du laboratoire .....	83
<b>2</b>	<b>Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....</b>	<b>86</b>
2.1	Liste des techniques de référence .....	86
2.2	Liste des techniques recommandées par le CNR .....	90
<b>3</b>	<b>AUTRES ANNEXES .....</b>	<b>91</b>

## RESUME ANALYTIQUE- FAITS MARQUANTS

### Laboratoire CHU de Bordeaux

Deux nouvelles trousse commerciales multiplex de PCR en temps réel pour le diagnostic des IST ont été évaluées.

**La surveillance des infections à *C. trachomatis* en 2023** a concerné **les infections anorectales** dans le cadre de l'enquête **Anachla**. **La prévalence de la LGV est en forte baisse, 7,8% (121/1553) en 2023 vs 13,4% (194/1446) en 2022 (p<0.001)**, la LGV étant principalement diagnostiquée chez des HSH symptomatiques et séropositifs pour le VIH. Lors de cette enquête les patients, après réception du typage L/non-L, ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans **79% des cas**.

**La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. genitalium* en France métropolitaine (37 centres)** rapporte en 2022 une prévalence de la résistance **aux macrolides et aux fluoroquinolones** de *M. genitalium* à respectivement **38,6% (161/417) et 17,1% (67/392)**. La prévalence de la résistance aux macrolides était de 51,5% chez les hommes *versus* 29,4% chez les femmes (p<0,001) ; pour les fluoroquinolones, la résistance est de 25,8% chez les hommes *versus* 10,8% chez les femmes (p<0,001). Les HSH sont plus souvent porteurs de *M. genitalium* résistants aux macrolides que les hétérosexuels. Le taux de **double résistance** en Métropole est stable à **15,9%**. **En Outre-mer**, la prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* est à **18,4% (37/201) pour les macrolides et à 4,8% (10/2027) pour les fluoroquinolones**. Là encore les hommes, particulièrement les HSH, sont plus touchés que les femmes. Le taux de **double résistance** est à **2,6%**.

### Laboratoire APHP Saint-Louis

En novembre 2023, **4 souches résistantes à la ceftriaxone et à l'azithromycine (haut niveau de résistance)** ont fait l'objet d'une **alerte** conjointe du CNR et de Santé publique France. Elles sont décrites chez des patients hétérosexuels, sont toutes génotypiquement reliées au clone à succès FC428 prévalent en Asie. Un cas autochtone sans lien avec l'étranger est décrit en région Auvergne-Rhône-Alpes suggérant une propagation possible de cette souche. En 2023, seules 4 souches invasives ont été décrites.

Concernant **la résistance des souches circulantes en France métropolitaine en 2022**, on note (i) un taux très faible de souches résistantes au céfixime et à la ceftriaxone (0,2%), (ii) **une augmentation de la résistance à l'azithromycine à 11,6%** (2,2% à haut niveau de résistance), (iii) des taux stables et élevés de résistance aux **fluoroquinolones (FQ) et aux tétracyclines (TET) de 69,1% et 92,2%**, respectivement, (iv) une absence de résistance à la gentamicine et spectinomycine. Les phénotypes de résistance les plus fréquemment observés sont TET<sup>R</sup>/FQ<sup>R</sup>, TET<sup>R</sup> et TET<sup>R-HN</sup>/FQ<sup>R</sup> à 47,2%, 15,1% et 9,3%, respectivement.

Les résultats finaux de l'étude randomisée ANRS 174 DoxyVAC rapportent que la **doxyPEP diminue de manière significative de 86%, 79% et 33%** un premier cas d'infection à ***C. trachomatis* (p<0,0001), *T. pallidum* (p<0,001) et *N. gonorrhoeae* (p=0,003)**, respectivement. La vaccination par le **vaccin ciblant le méningocoque B (Bexsero)** permet une diminution de l'infection à gonocoque de 22%, **sans effet significatif** (p = 0,061).

### Laboratoire APHP Cochon

La syphilis reste un problème de santé majeur dans les groupes à risques et chez les femmes enceintes qui échappent aux programmes de dépistage tout au long de la grossesse.

Pour l'année 2023, nous avons expertisé 2116 échantillons qui a conduit à 37 alertes pour neurosyphilis et 10 alertes pour syphilis congénitale. La prévalence de la **résistance à l'azithromycine est de 71%**.

Dans le cadre de l'étude **Anachla** de Bordeaux, nous rapportons que 5,5% des échantillons anorectaux avec une sérologie syphilis positive présentaient une détection positive du génome de *T. pallidum*.

## EXECUTIVE SUMMARY- HIGHLIGHTS

### Laboratory from Bordeaux University Hospital

Two new commercial multiplex real-time PCR assays have been evaluated for the diagnostic of STI.

In 2023, we performed a nationwide survey based on universal LGV testing onto anorectal *C. trachomatis*-positive samples from men and women, **the Anachla survey**. LGV prevalence is significantly decreasing, **7.8% (121/1553) in 2023 vs 13.4% (194/1446) in 2022 (p<0.001)**, LGV being mainly diagnosed in symptomatic and HIV-positive MSM. Within this survey, after receiving the L/non-L- typing, patients received treatment according to the recommendations in 79% of the cases.

Surveillance of ***M. genitalium* antimicrobial resistance in metropolitan France** (37 centers) reports in 2022 a prevalence of resistance to **macrolides and fluoroquinolones** at **38.6% (161/417) and 17.1% (67/392)**, respectively. The prevalence of macrolide resistance was 51.5% in males versus 29.4% in females (p<0.001); for fluoroquinolones, resistance was 25.8% in males vs 10.8% in females (p<0.001). MSM are more frequently infected with a macrolide-resistant *M. genitalium* than MSW. Dual resistance rate is 15.9% in Mainland France.

**In overseas territories**, prevalence of **macrolide and fluoroquinolone resistance** is an increase in the prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance in *M. genitalium* is **18.4% (37/201) and 4.8% (10/2027)**, respectively. Here again, MSM are mostly infected and the dual resistance prevalence is 2.6%.

### Laboratory from APHP Saint-Louis

In November 2023, **4 strains resistant to ceftriaxone and azithromycin (high-level resistance)** were the subject of a joint alert by the CNR and Santé publique France. They have been described in **heterosexual patients**, and are all genotypically linked to the successful FC428 clone prevalent in Asia. An autochthonous case with no foreign link has been described in the Auvergne-Rhône-Alpes region, suggesting a possible spread of this strain. In 2023, only 4 invasive strains have been described.

Regarding antimicrobial resistance in circulating strains in mainland France in 2022, we note (i) a very low rate of strains resistant to cefixime and ceftriaxone (0.2%), (ii) **an increase in resistance to azithromycin to 11.6% (2.2% high-level resistance)**, (iii) stable high rates **of resistance to fluoroquinolones (FQ) and tetracyclines (TET) of 69.1% and 92.2%**, respectively, (iv) absence of resistance to gentamicin and spectinomycin. The most frequently observed resistance phenotypes were TET<sup>R</sup>/FQ<sup>R</sup>, TET<sup>R</sup> and TET<sup>R-HN</sup>/FQ<sup>R</sup> at 47.2%, 15.1% and 9.3%, respectively.

The results of the randomized ANRS 174 DoxyVAC study reported that **doxyPEP significantly reduced a first case of infection with *C. trachomatis* (p<0.0001), *T pallidum* (p<0.001) and *N. gonorrhoeae* (p=0.003)**, respectively, by 86%, 79% and 33%. Vaccination with the **meningococcal B vaccine (Bexsero)** reduces gonococcal infection by 22%, with **no significant effect** (p = 0.061).

### Laboratory from APHP Cochin

Syphilis remains a major health problem in at-risk groups and among pregnant women who miss screening programmes throughout pregnancy.

For the year 2023, we assessed 2116 samples which led to 37 alerts for neurosyphilis and 10 alerts for congenital syphilis. The prevalence of **azithromycin resistance is 71%**.

As part of the **Bordeaux' Anachla study** we report that 5.5% of anorectal samples with positive syphilis serology had a positive detection of the *T. pallidum* genome.



# 1 Missions et organisation du CNR

---

Cf annexe 1.

## 2 Activités d'expertise

---

### Laboratoire CHU de Bordeaux : éléments clefs 2023

- Évaluation de 2 trousse commerciales multiplex pour le diagnostic des IST (240 échantillons).
- Évaluation de plaques Sensititre (Biocentric) préparées à façon permettant de déterminer la sensibilité à 7 antibiotiques pour *M. hominis* et *Ureaplasma* spp.
- Echantillons biologiques positifs et souches de *C. trachomatis* en 2023 : 2268 échantillons positifs à *C. trachomatis* dans le cadre du diagnostic de la LGV, dont 1610 échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* (enquête Anachla 2023) et 121 échantillons anorectaux de génotypage *C. trachomatis* L, 10 souches isolées.
- Echantillons biologiques positifs à *M. genitalium* : 895 en 2023 (recherche de résistance aux macrolides et fluoroquinolones), 713 (enquête surveillance résistance macrolides et fluoroquinolones, MGMT et MGDROM 2022).
- Souches de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* : 80 et 24 souches antibiogrammées au CHU Bordeaux en 2023.
- Echantillons pour recherche de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* : 67 reçus pour PCR (27 centres), 104 reçus pour culture (34 centres). 895

### Laboratoire APHP Saint-Louis : éléments clefs 2023

- Souches : analyse du phénotype et génotype (NGS) de 551 souches de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2022), 78 souches de l'étude ANRS doxyVAC, 10 souches de contrôle européen, 57 cas judiciaires ou d'expertise dont 4 invasives  
Collecte de 705 souches de l'enquête ENGON 2023 et questionnaires, de 153 prélèvements de l'île de la Réunion pour l'enquête ENGON 2023
- Echantillons : analyse du génotype (amplification / analyse NGS nanopore) de 450 échantillons de l'étude ANRS doxyVAC, de 26 échantillons dans le cadre de l'alerte SFP/CNR à Grenoble, 15 pour expertise CNR

### Laboratoire APHP Cochin : éléments clefs 2023

- 892 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise moléculaire, dont 52 ont été positifs pour *T. pallidum*
- 673 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise sérologique, dont 306 ont été positifs pour la syphilis.
- 135 échantillons analysés dans le cadre du protocole GenoSyph, dont 31 ont été positifs pour *T. pallidum*.

## 2.1 Evolution des techniques

### 2.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Pas de nouvelle technique en 2023.

### 2.1.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

En 2023, le CNR gonocoque a développé une technique de séquençage Nanopore sur amplicons (cf chapitre 2.6.2)

### 2.1.3 Laboratoire APHP Cochin

Pas de nouvelle technique en 2023.

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

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

La prévalence de la résistance aux antimicrobiens chez les mycoplasmes humains nécessite une surveillance mais les tests de sensibilité aux antimicrobiens utilisant la méthode de microdilution en milieu liquide sont laborieux.

Dans cette étude, nous avons comparé les performances des **plaques MICRONAUT-S (Biocentric-Bruker)**, dessinées à façon pour la détermination des CMI de *U. parvum*, *U. urealyticum* et *M. hominis* aux résultats obtenus à l'aide de la méthode de référence par microdilution en milieu liquide du CLSI. Nous avons ensuite étudié la prévalence et les mécanismes de résistance aux tétracyclines, aux fluoroquinolones et aux macrolides en France en 2020 et 2021 de ces trois espèces.

Les deux méthodes ont été comparées en utilisant 60 souches. Pour l'étude de la prévalence de la résistance, des échantillons cliniques positifs pour *U. parvum*, *U. urealyticum* et *M. hominis* ont été collectés pendant un mois chaque année dans 22 laboratoires français. Les CMI ont été déterminées à l'aide des plaques MICRONAUT-S. Le gène *tet(M)* a été recherché par PCR et les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones ont été recherchées par séquençage Sanger.

En comparant les méthodes, 99,5 % (679/680) des CMI obtenues à l'aide des plaques MICRONAUT-S concordaient avec celles obtenues à l'aide de la méthode de référence du CLSI, validant cette méthode.

Pour 90 isolats de *M. hominis*, les taux de résistance à la tétracycline, à la lévofloxacine et à la moxifloxacine étaient respectivement de 11,1%, 2,2% et 2,2%, sans résistance à la clindamycine. Pour 248 isolats de *U. parvum*, les taux de résistance à la lévofloxacine et à la moxifloxacine étaient respectivement de 5,2% et 0,8% ; ils étaient de 2,9% et 1,5% pour 68 isolats de *U. urealyticum*. La résistance aux tétracyclines était significativement ( $p < 0,001$ ) plus élevée chez *U. urealyticum* (11,8 %) que chez *U. parvum* (1,2 %). Aucune résistance à l'érythromycine n'a été observée.

Finalement, les plaques MICRONAUT-S constituent un outil fiable et pratique pour la détermination des CMI des mycoplasmes urogénitaux humains cultivables. La résistance aux tétracyclines et aux fluoroquinolones reste limitée en France. Cependant, la prévalence de la résistance à la lévofloxacine et à la moxifloxacine a augmenté de manière significative chez *Ureaplasma* spp. depuis notre dernière étude en 2010-2015 et nécessite donc une surveillance continue.

Ces résultats ont été présentés sous forme de poster au **congrès de l'International Organization for Mycoplasmaology en juillet 2023** à Osaka, Japon. Un manuscrit a été soumis pour publication.

### 2.2.2 Evaluation de kits de PCR en temps réel multiplexes nouvellement commercialisés pour la détection simultanée de plusieurs agents d'IST

Nous avons évalué les performances cliniques de deux kits commerciaux de PCR en temps réel multiplex pour la détection de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* et *Trichomonas vaginalis* : le **Bosphore STD Urethritis Mini Bundle Kit** (Anatolia geneworks) et le **Viasure Sexually Transmitted Disease Real-Time PCR Detection Kit** (CerTest BIOTEC).

Un total de 240 échantillons cliniques a été évalué. Les résultats ont été comparés aux kits Cobas CT/NG et TV/MG (Roche Diagnostics) utilisés comme référence. Le pourcentage d'agrément positif était compris entre 83,3% et 87,8% pour les deux kits pour la détection de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *T. vaginalis* sur les natures d'échantillons validés. Pour la détection de *M. genitalium*, le pourcentage d'agrément positif était de 83,0% pour le kit Bosphore et de 68,1% pour le kit Viasure. Ce dernier n'a pas détecté 31,9% des échantillons positifs pour *M. genitalium*. Le pourcentage d'agrément négatif était compris entre 98,4% et 100%, quel que soit le micro-organisme ciblé.

Les deux kits étaient faciles à utiliser et compatibles avec plusieurs appareils d'extraction d'ADN et de PCR. Ils n'ont pas été validés pour être utilisés sur des écouvillons pharyngés ou rectaux, à l'exception des écouvillons

rectaux pour la détection de *N. gonorrhoeae* par le kit Viasure. Le kit Viasure détecte également des bactéries commensales telles que *Ureaplasma* spp. et *Mycoplasma hominis*, bactéries qui ne devraient pas être ciblées dans les kits de détection des IST. Au final, les utilisateurs doivent être conscients de l'absence de validation pour certains types d'échantillons et du manque de sensibilité du kit Viasure pour la détection de *M. genitalium*.

Ce travail a fait l'objet d'une présentation orale à la RICAI 2023 et une publication est en cours de rédaction.

### 2.2.3 Etude de la sensibilité de *C. trachomatis* à la gépotidacine (annexe 3)

## 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

### 2.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

#### 2.3.1.1 Diagnostic de la LGV

Réponses par courriel ou au téléphone aux questions des biologistes sur la mise en place du diagnostic de la LGV que ce soit avec notre technique maison accréditée (envoi du protocole) ou par l'utilisation de tests commercialisés (envoi de la liste des tests évalués par le CNR IST). Nous avons également fourni l'ADN de *C. trachomatis* L2 434/Bu comme témoin positif pour la mise en place de la technique.

#### 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*.

### 2.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

En janvier 2023, le CNR a accueilli Lala RAFETRARIVONY, étudiante niveau master de l'université Pasteur de Madagascar afin de transmettre ses connaissances en culture et traitement de gonocoque et les analyses de NGS sur souches bactériennes.

En septembre 2023, le CNR a accueilli pendant une semaine Laura CHAUFOR, assistante hospitalo-universitaire de l'unité de bactériologie et hygiène hospitalière du CHRU de Tours pour transférer sa technique de NGS.

### 2.3.3 Laboratoire APHP Cochin

Aucune technique n'a été transférée en 2023.

## 2.4 Collections de matériel biologique

### 2.4.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

- 2 268 échantillons positifs à *C. trachomatis* dans le cadre du diagnostic de la LGV en 2023, dont 1610 échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* reçus dans le cadre de l'enquête Anachla 2023 (121 échantillons anorectaux de géovar *C. trachomatis* L). Les échantillons positifs à souche L sont conservés au CRB Bordeaux Biothèque Santé (BBS) du CHU de Bordeaux, les autres sont conservés à -80°C au CHU de Bordeaux.

- 25 souches de *C. trachomatis* isolées au CHU de Bordeaux entre 2022 et 2023 envoyées au CRB.

- 895 échantillons biologiques positifs à *M. genitalium* envoyés au CNR en 2023 (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, 291 ont été envoyés au CRB car ils possèdent une double résistance aux macrolides et

aux fluoroquinolones

- 479 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 2022 (MGMET 2022). L'ensemble de ces prélèvements a été envoyé au CRB.
- 234 échantillons positifs à *M. genitalium* dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones dans les départements et régions d'outre-mer pour 2022 (DROM 2022). L'ensemble de ces prélèvements a été envoyé au CRB.
- 80 souches d'uréaplasmes et 24 souches de *M. hominis* isolées et antibiogrammées au CHU de Bordeaux en 2023 et conservées au laboratoire du CHU de Bordeaux.

#### 2.4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Matériel biologique reçu à l'hôpital Saint-Louis, entre le 1er janvier et le 31 décembre 2023 :

- 1323 souches de gonocoque
  - o 551 souches collectées au niveau national et reçues entre 2022-2023 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2022)
  - o 705 souches et questionnaires cliniques collectés au niveau national et reçus entre 2023-2024 dans le cadre de l'enquête de surveillance de la résistance du gonocoque en France métropolitaine (ENGON 2023)
  - o 57 souches issues de demandes d'expertise au CNR (dont 4 responsables d'infections invasives)
  - o 10 souches provenant du contrôle de qualité de l'ECDC (UKNEQAS)
- 41 prélèvements cliniques positifs en qPCR à gonocoque et expertisés pour les études suivantes :
  - o 15 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* issus de cas cliniques expertisés au CNR
  - o 26 échantillons positifs à *N. gonorrhoeae* issus du CHU de Grenoble prélevés en fin d'année 2023 pour une recherche de clone résistants

#### 2.4.3 Laboratoire APHP Cochin

Matériel biologique envoyé au CNR en 2023 :

- 892 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise moléculaire, dont 52 ont été positifs pour *T. pallidum*.
  - o 416 LCR, dont 40 positifs pour *T. pallidum*
  - o 306 échantillons périnataux dont 18 positifs
  - o 153 écouvillons lésions cutanéomuqueuses dont 28 positifs
  - o 14 biopsies dont 2 positives
  - o 30 sangs totaux, aucun positif
  - o 12 prélèvements «autres» dont 1 positif
- 673 échantillons analysés dans le cadre de l'expertise sérologique, dont 306 ont été positifs pour la syphilis.
- 135 échantillons analysés dans le cadre du protocole GenoSyph, dont 31 ont été positifs pour *T. pallidum*.
- 77 échantillons positifs pour *T. pallidum* provenant de l'expertise et de GenoSyph analysés pour la recherche des marqueurs génétiques de résistance à l'azithromycine : 71% 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 *C. trachomatis*

En 2023, le CNR a reçu et typé 2 268 échantillons dont 2 216 d'origine anorectale. Le résultat était invalide pour 51 échantillons (dont 3 extra-rectaux), 213 laboratoires ayant fait parvenir des prélèvements. La répartition et le typage des 49 échantillons non rectaux sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau. Nature des échantillons extra-rectaux typés en 2023

Nature des échantillons	Souche L	Souche non L
Abcès	0	1
Bouche	0	3
Col	0	1
Ganglion inguinal	4	0
Gorge	0	24
Trompe	0	2
Urètre	0	1
Urines	1	9
Vagin	0	3
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>44</b>

Les résultats concernant le diagnostic de la LGV sont transmis dans un délai de cinq à sept jours ouvrables.

#### 2.5.1.2 Mycoplasmes urogénitaux

##### - *Mycoplasma genitalium*

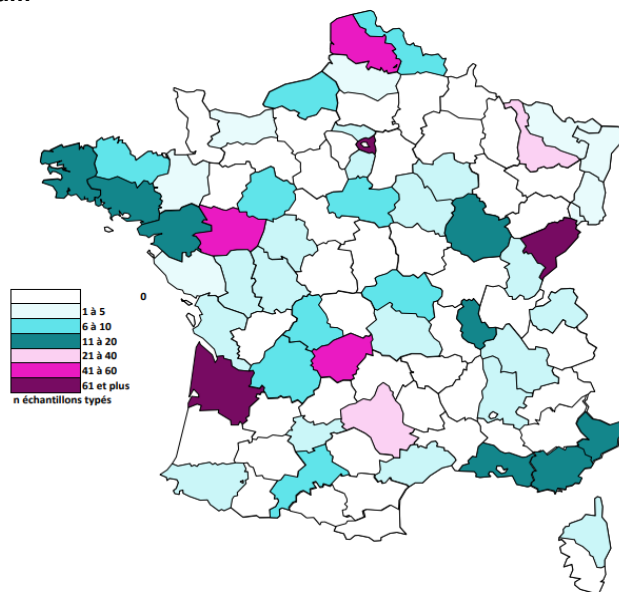


Figure. Couverture géographique de l'activité de recherche de résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones

Pour l'année 2023, dans le cadre de la recherche de résistance chez *M. genitalium*, le CNR a reçu 895 échantillons provenant de 95 centres. La répartition des échantillons par département en 2023 est donnée dans la figure ci-dessus.

A partir du 1er avril 2023 (mentionné sur le site web du CNR), le CNR a facturé la recherche de résistance aux macrolides chez *M. genitalium* et a élargi les demandes gratuites de recherche de résistance aux fluoroquinolones pour tous les patients ayant une résistance aux macrolides ou bien un échec thérapeutique sous macrolides ou fluoroquinolones. Ce changement implique une légère baisse des demandes de résistance aux macrolides.

Un total de 790 recherches de résistance aux macrolides et 351 recherches de résistance aux fluoroquinolones a été réalisé en 2023.

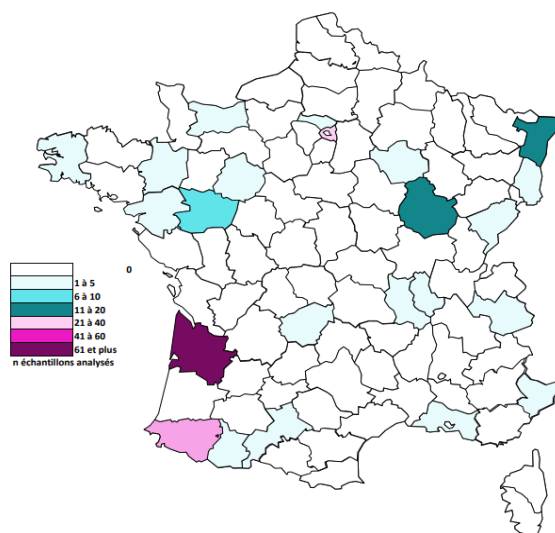
Les pourcentages de résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones des échantillons reçus sont présentés dans le Tableau ci-dessous. Ces prévalences de résistance sont nettement supérieures à celles retrouvées lors des enquêtes annuelles de prévalence de la résistance de *M. genitalium* en métropole (MGMET 2022, cf. paragraphe 3.3.1.1), 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, 2021-2023.**

% résistance	2021	2022	2023
Aux macrolides	45,0	45,6	52,0
Aux fluoroquinolones	71,4	75,4	55,0

- ***Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma* spp.**

En 2023, le CNR a reçu 67 échantillons pour la recherche de mycoplasmes urogénitaux par PCR provenant de 27 centres, 104 échantillons pour la recherche de mycoplasmes urogénitaux par culture provenant de 34 centres. La répartition des échantillons par département en 2023 est donnée dans la Figure ci-dessous.



**Figure. Couverture géographique de l'activité de recherche des mycoplasmes urogénitaux par PCR et par culture**

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 2023, le CNR a reçu un total de 57 souches de gonocoque et 41 prélèvements cliniques provenant de centres hospitaliers ou de laboratoires pour expertise dans le cadre d'une suspicion de gonococcie.

**Tableau. Nombre de souches reçues pour activités d'expertise gonocoque en 2023**

LABM ou Hôpitaux	2023	LABM ou Hôpitaux	2023
CH ANNECY GENEVOIS	1	INSTITUT GUSTAVE ROUSSY (Villejuif)	1
CH BOULOGNE SUR MER	2	LABM BIOLAM LCD (Saint-Denis)	1
CH CAYENNE	2	LABM BIOMER (Metz)	2
CH JACQUES MONOD (Flers)	1	LABM BIOPAJ VAUBAN (Valenciennes)	14
CH LA CROIX ROUSSE (Lyon)	4	LABM BIOPOLE 66 (Cabestany)	3
CH MOULINS-YZEURE	1	LABM BIOXA (Bezannes)	1
CHI COMPIÈGNE NOYON	2	LABM CERBALLIANCE NORMANDIE OUEST (Pont L'Eveque)	1
CHU AMIENS	1	LABM DYNALAB (Romilly-sur-Seine)	1
CHU GRENOBLE	1	LABM ORIADE-NOVIALE (Saint Martin d'Hères)	2
CHU LIMOGES	1	LABM SELCO BIO (Le Controis-en-Sologne)	1
CHU SAINT-ÉTIENNE	1	LABM SELCO BIO (Selles-sur-Cher)	1
GH MONTÉLIMAR	1	LABM SYNLAB CHARENTES (Saintes)	1
HÔPITAL HENRI MONDOR (Créteil)	1	LABM SYNLAB NORMANDIE MAINE (La Ferté Macé)	4
HÔPITAL SAINT ANTOINE (Paris)	1	LABM SYNLAB SYLAB (Aurillac)	3
HÔPITAUX DRÔME NORD (Romans-Sur-Isère)	1	<b>TOTAL</b>	<b>57</b>

**Tableau. Nombre d'échantillons positifs en PCR à *N. gonorrhoeae* reçus en 2023 pour étude de résistance sur prélèvements**

LABM ou Hôpitaux participants	Nombre d'échantillons
CHU GRENOBLE	26
CHR ORLEANS	2
CHRU Brest	2
CHU BICHAT	1
CHU SAINT-ÉTIENNE	1
HÔPITAL SAINT LOUIS (Paris)	5
LABM BIO-VSM (Vaires sur Marne)	1
LABM MIRIALIS (Evian les bains)	3
<b>TOTAL</b>	<b>41</b>

## 2.5.3 Laboratoire APHP Cochin

Tableau. Nombres d'expertises syphilis réalisées en 2023

Année 2023	
- Nombre des centres participants :	143, >95% laboratoires hospitaliers
- Nombre total d'expertises :	2495, 35,8% PCR et 64,2% sérologies
- Nombre total d'échantillons :	1 981
LCR	416, 1% positifs par qPCR et 9% par sérologie
Périnataux <sup>a</sup>	306, 5,9% positifs par qPCR
Ecouvillon	153, 18% positifs par qPCR
Biopsie	14, 14% positifs par qPCR
Sérum	418, 45,5% positifs par qPCR et/ou sérologie
Sang total	30, aucun positif par qPCR
Autre	12, 8% positifs par qPCR

<sup>a</sup> Liquide gastrique, liquide articulaire, humeur aqueuse, abcès cérébral, liquide drainage biliaire, LBA

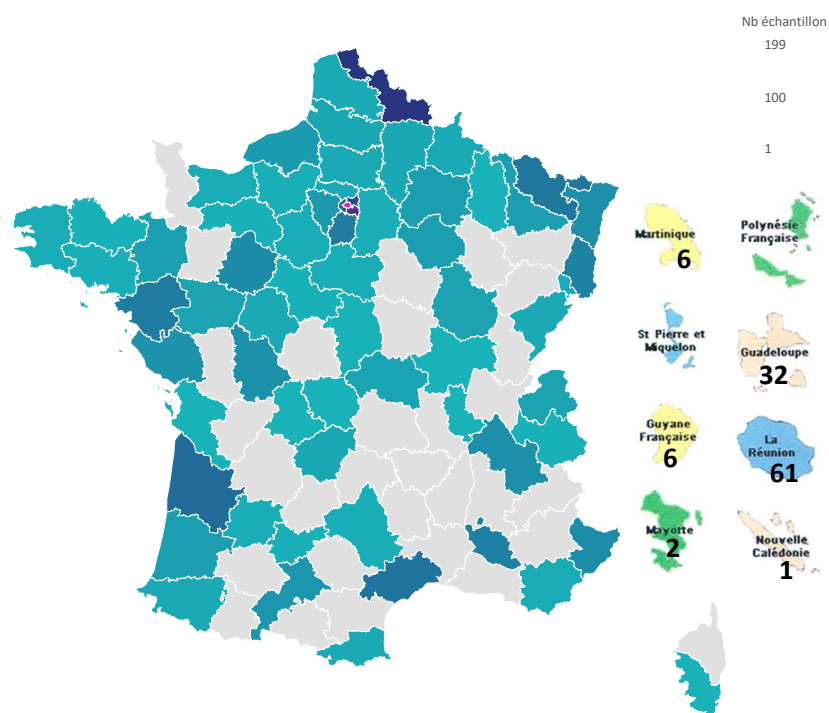


Figure. Répartition géographique des échantillons reçus pour expertise pour l'année 2023



## 2.6. Activités de séquençage

### 2.6.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

Nous n'avons pas eu d'activité de séquençage génomique en dehors de nos activités de recherche. Nous développons actuellement une technique de séquençage génomique directement à partir des échantillons que nous espérons utiliser en routine dans les années à venir (cf. annexe 3).

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> OUI	Accès externe, plateforme de séquençage Sanger d'Eurofins Le CNR du CHU de Bordeaux a accès à une plateforme de séquençage (NGS) interne située le site de Pellegrin (Iseq100).  Séquençage Sanger Le séquençage à haut débit (NGS) est actuellement en développement.

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<input type="checkbox"/> OUI	Interne : ingénieurs du CNR, 0,5 ETP bioinformaticien avec le CNRCH  Outils utilisés pour l'analyse des séquences : commercial (BioNumerics par exemple), outil open source, outil maison ... BioNumerics, BioEdit, MEGA, iTOL, fastp, bowtie2, BWA, Unicycler, Kraken2, metaphlan, gubbins, FastTree, BLAST...

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
<input type="checkbox"/> OUI	Investigations dans le cadre de la surveillance de la résistance des mycoplasmes urogénitaux aux anti-infectieux, génotypage de <i>C. trachomatis</i> L

**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**

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

Précisez ici le nombre de souches séquencées dans l'année : cf enquêtes de surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux anti-infectieux

Modalités de sélection des souches pour séquençage : aucune sélection (séquençage de tous les échantillons reçus)

**Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génomes 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 Pellegrin-CHU de Bordeaux

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 relarguées avec leur numéro d'accès sur NCBI.

## 2.6.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

En 2023, le séquençage haut débit (NGS) est 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.

<b>Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?</b>	
<input type="checkbox"/> OUI	<p>Le CNR de St Louis a accès à une plateforme de séquençage interne situé le site de Saint Louis</p> <p>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.</p>

<b>Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?</b>	
<input type="checkbox"/> OUI	<p>L'accès est interne au CNR à St Louis avec une bioinformaticienne dédiée aux analyses et à l'amélioration et l'incrémentation de nouveaux génomes de gonocoques qui sont importés pour analyse.</p> <p>La plateforme MOABI de l'APHP héberge les génomes et le pipeline (cf. rapport année précédente chapitre 2.6.2)</p> <p>Les outils utilisés sont en constante évolution et le pipeline personnalisé NG-AR2T est décrit dans les anciens rapports. Les autres données provenant du site NG-STAR ont été importées en 2022 et les bases de données de virulence en 2023.</p>

<b>Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?</b>	
<input type="checkbox"/> OUI	<p>Le CNR est en complète 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 analyses NGS des enquêtes</p>

<p><b>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)</b></p>
<p>- <b>Le séquençage haut débit (NGS) des souches</b> de <i>N. gonorrhoeae</i> permet une analyse fine avec l'extraction <i>in silico</i> des gènes utiles au typage moléculaire (NG-MAST, MLST, le NG-NSTAR) et le résistome prédiction de résistance (<i>penA</i>, <i>gyrA</i>, 16S rRNA, <i>tetM</i>, <i>rpsJ</i>, <i>mtrR</i>, ...). Ce point est détaillé dans les anciens rapports. Le séquençage est réalisé en première ligne.</p> <p>- <b>Pour les échantillons cliniques</b>, le CNR dispose des outils précédemment décrits (rapport précédent). En 2023, nous avons développé le séquençage haut débit Nanopore sur prélèvement. Cette nouvelle technique a une meilleure profondeur de séquençage. Les séquences de lectures (long reads) générées par la technologie de séquençage Nanopore sont assemblées en contigs à l'aide de l'outil CANU. Cet assembleur prend en charge en premier temps la correction et le trimming des reads visant ainsi à éliminer les lectures de faible qualité ou petite taille. Ensuite, grâce à son approche d'overlap-layout-consensus (OLC) il assemble les lectures corrigées et filtrées en contigs. Ces contigs sont ensuite alignés contre la base de données du déterminant de résistance recherché pour définir le numéro d'allèle ainsi que la présence/absence de la mutation sur le gène.</p>

<p><b>Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies : OUI</b></p>
--

Ce point est décrit pour l'alerte sur des souches XDR 2023 (cf chapitre 4.2)

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

##### Séquençage de 588 souches en 2023 par la technique Illumina sur Miseq ou Nextseq

- 551 souches de gonocoque séquencées dans le cadre de l'enquête de surveillance ENGON 2022
- 4 souches de gonocoque invasives reçues au CNR
- 4 souches de gonocoque résistantes reçues au CNR
- 19 souches de gonocoque isolées dans le cadre de l'étude ANRS DOXYVAC en 2023
- 10 souches de l'UK-NEQAS

##### Séquençage de 318 prélèvements en 2023

Séquençage des gènes *penA*, *rrl* codant l'ARNr23S, *tbpB*, *porB* pour :

85 échantillons de patients *N. gonorrhoeae*-positifs reçus dans le cadre de la surveillance de la résistance au Togo (ANRS DepIST-H), 218 échantillons dans le cadre du projet ANRS DOXYVAC, 15 échantillons de patients *N. gonorrhoeae* positifs reçus dans le cadre de la surveillance de la résistance en France.

Pour l'année 2024, 704 souches de gonocoque sont en cours de traitement dans le cadre de l'enquête de surveillance ENGON 2023

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 : génomes 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. (cf rapport année précédente partie annexe 1, paragraphe 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 relarguées avec leur numéro d'accès sur NCBI.

Lorsque les séquences fastQ des génomes français ont été adressées dans le cadre de la surveillance européenne, celles-ci peuvent être stockées 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

À ce jour, le séquençage du génome de *T. pallidum* par NGS 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. 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

La plateforme de séquençage est disponible à l'hôpital St Louis

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

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

NON

Le laboratoire expert syphilis aura accès à la plateforme de bio-informatique de St Louis (cf. ci-dessus) Les outils et le pipeline seront travaillés sur la mandature à venir.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies : <b>NON pas en 2023</b>
---

Séquençage utilisé à des fins de surveillance : <b>NON pas en 2023</b>
--

<b>Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génômes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?</b>
--

Les séquences (FastQ et FastA) sont stockées sur un lecteur sécurisé sur le réseau de l'hôpital Cochin.
---

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

## 2.7. Partage de séquences produites par les CNR

### 2.7.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

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

### 2.7.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Il n'y a pas eu de transfert de séquences en 2023. Si besoin, les partages se font via un serveur des séquences, sécurisé sur le serveur dépôt de l'ECDC, 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 séquences au niveau national ou international.

## 3 Activités de surveillance

### Laboratoire CHU de Bordeaux : éléments clefs 2023

La surveillance des infections à *C. trachomatis* en 2023 a concerné les infections anorectales dans le cadre de l'enquête **Anachla**. Les points marquants sont :

- Une augmentation du nombre de nos correspondants cliniciens due à la dynamique de l'enquête Anachla.
- **Une prévalence de la LGV en forte baisse, 7,8% (121/1553) en 2023 vs 13,4% (194/1446) en 2022 ( $p < 0.001$ )**, la LGV étant principalement diagnostiquée chez des HSH symptomatiques et séropositifs pour le VIH.
- Lors de cette enquête les patients, après réception du typage L/non-L, ont reçu le traitement en accord avec les recommandations dans **79% des cas**.

La surveillance de la résistance aux anti-infectieux de *M. genitalium* en France métropolitaine (37 centres) rapporte en 2022 une prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* à respectivement **38,6% (161/417) et 17,1% (67/392)**. La prévalence de la résistance aux macrolides était de 51,5% chez les hommes versus 29,4% chez les femmes ( $p < 0,001$ ) ; pour les fluoroquinolones, la résistance est de 25,8% chez les hommes versus 10,8% chez les femmes ( $p < 0,001$ ). Les HSH sont plus souvent porteurs de *M. genitalium* résistants aux macrolides que les hétérosexuels. La résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones de *M. genitalium* est stable sur les 3 dernières années. Le taux de **double résistance** en Métropole est stable à **15,9%**. **En Outre-mer**, la prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones chez *M. genitalium* est à **18,4% (37/201) pour les macrolides et à 4,8% (10/2027) pour les fluoroquinolones**. Là encore les hommes, particulièrement les HSH, sont plus touchés que les femmes. Le taux de **double résistance** est à **2,6%**.

### Laboratoire GH Saint-Louis : éléments clefs 2023

En 2022, le CNR rapporte une proportion toujours très faible de souches résistantes au céfixime et à la ceftriaxone (0,2%, 1/551). A contrario, en novembre **2023, 4 souches résistantes au céfixime et à la ceftriaxone XDR car également résistantes à haut niveau à l'azithromycine et à la tétracycline** ont fait l'objet d'une alerte conjointe du CNR et de Santé publique France. Ces 4 souches présentent des caractéristiques génotypiques similaires à celles du clone FC428 prévalent en Asie du Sud Est ; elles sont décrites principalement chez des patients **hétérosexuels** avec un contexte de retour de voyage en Asie pour deux d'entre elles. La découverte d'un cas autochtone en région Auvergne-Rhône-Alpes questionne sur une propagation possible en France d'une souche XDR.

En 2022, l'augmentation de la **résistance à l'azithromycine se confirme à 11,6% dont 2,2%** de souches avec un haut niveau de résistance. On observe un taux de **résistance aux fluoroquinolones (FQ<sup>R</sup>) élevé à 69,1%**, une **résistance à la tétracycline (TET<sup>R</sup>) très élevée à 92,2%** avec une diminution des souches à haut niveau de résistance (TET<sup>R-HN</sup>) (17,1%). 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> (47,2%)**, **TET<sup>R</sup> isolement (15,1%)** et **TET<sup>R-HN</sup> / FQ<sup>R</sup> (9,3%)**. Le séquençage de 551 souches confirme l'émergence des clones de ST9362 et ST11706 comme les plus fréquents depuis 2021. Ces clones sont associés à la résistance à la tétracycline et la ciprofloxacine.

### Laboratoire APHP Cochin : éléments clefs 2023

Dans le cadre de l'**étude Anachla** de Bordeaux nous rapportons que 5,5% 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 2023 rapporte une **prévalence de la résistance à l'azithromycine de 71%**, ce chiffre est stable par rapport à l'année précédente.

**Dans le cadre de l'alerte**, nous rapportons 37 alertes pour des infections de neurosyphilis et 11 alertes pour des infections de syphilis congénitale en France métropolitaine en 2023.

### 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. 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.

#### 3.1.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

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 comme le montre la carte de densité géographique cumulée de nos correspondants cliniciens.

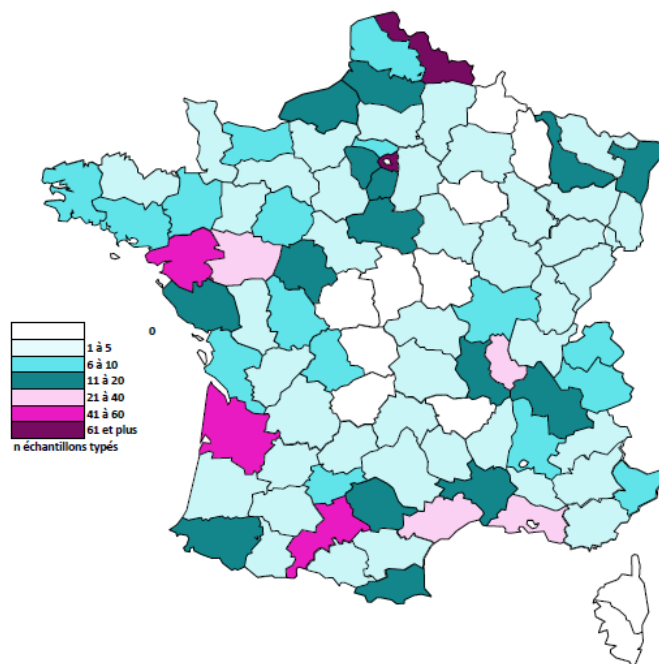


Figure. Implantation territoriale du réseau de cliniciens participants à Anachla en France hexagonale

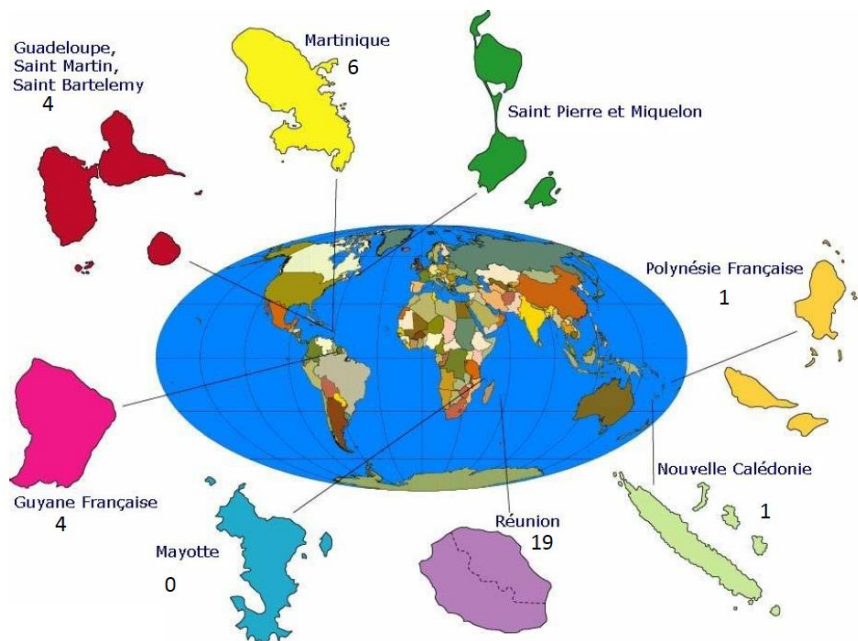


Figure. Implantation territoriale du réseau de cliniciens participants à Anachla en Outre-mer

En 2023, le réseau comporte 1 191 médecins correspondants ayant participé au moins une fois à l'enquête Anachla 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 2023, 575 médecins ont collaboré. Le nombre de cliniciens maintient sa tendance à la hausse. Le nombre de laboratoires, quant à lui, est en légère baisse. Les fusions/acquisitions de laboratoires peuvent expliquer ce phénomène ; certains laboratoires ont aussi mis en place leur propre technique de diagnostic des souches de type LGV.

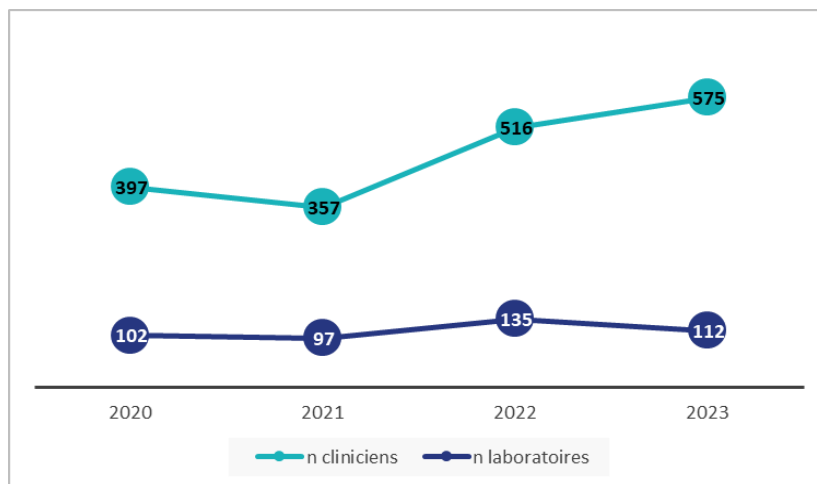


Figure. Évolution du nombre de correspondants actifs lors de l'enquête Anachla.

### 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 d'Outre-mer sur une période allant de septembre à décembre avec un objectif minimal de 400 souches sur la période. Les enquêtes sont ouvertes aux laboratoires publics des CHU/CHG et aux 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 55 laboratoires participants en 2022 et 61 en 2023 (cf. Figure ci-dessous).

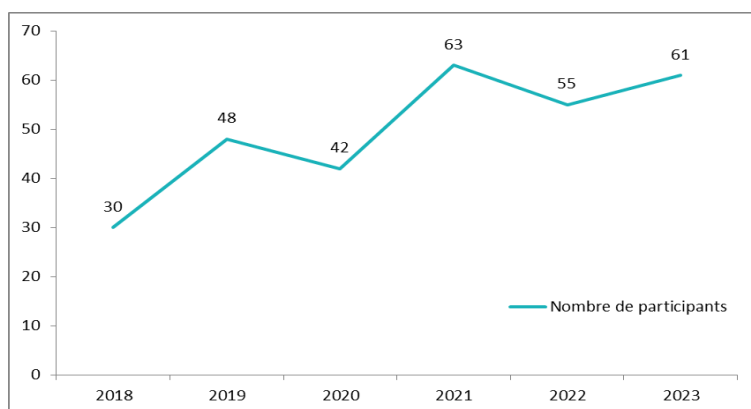


Figure. Évolution du nombre de laboratoires participants aux enquêtes ENGON entre 2018 et 2023.

### 3.1.3 Laboratoire APHP Cochin

#### 3.1.3.1 Dans le cadre du protocole GenoSyph

L'étude GenoSyph 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 des gènes *tp47* et *po1A* de *T. pallidum* par qPCR est réalisée systématiquement avec un rendu de résultat hebdomadaire.

Pour l'année 2023, le CNR a reçu un total de 135 échantillons provenant de 3 centres collecteurs (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 essayer



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

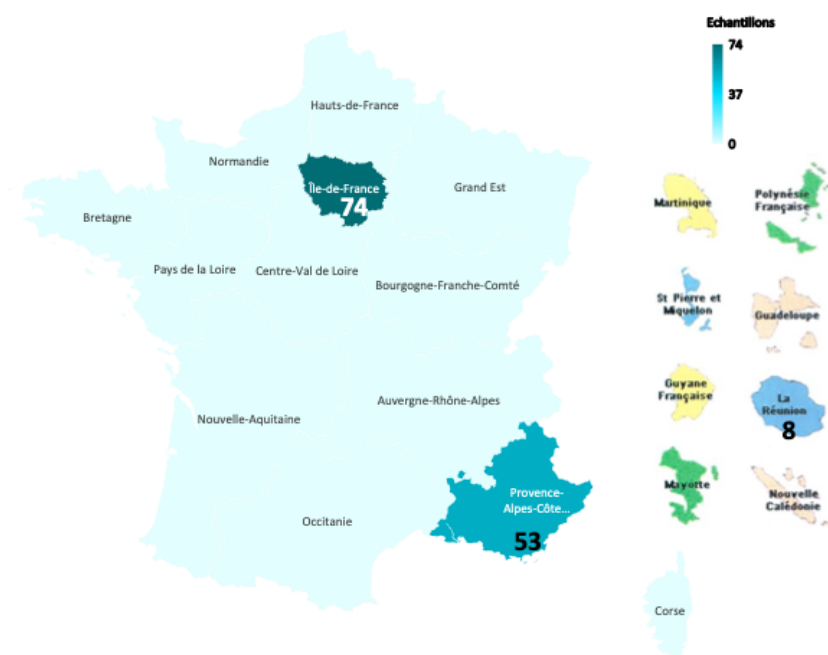


Figure. Provenance des échantillons GenoSyph reçus en 2023.

### 3.1.3.2 Dans le cadre de l'expertise

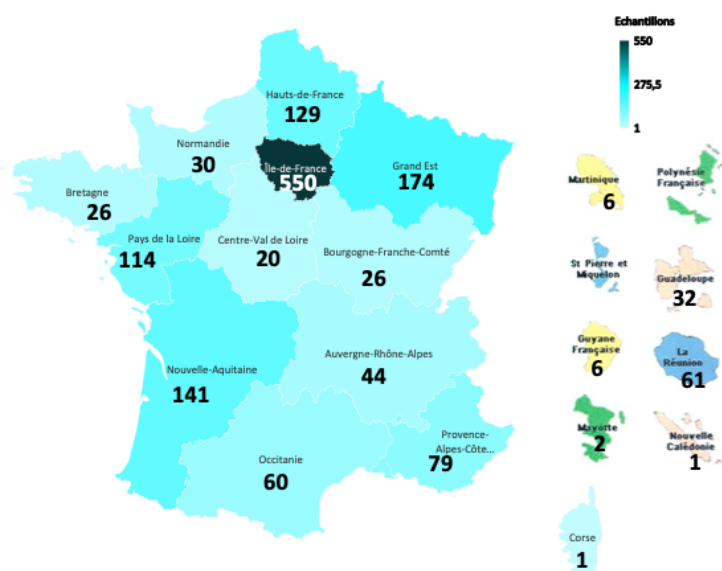


Figure. Nombre et provenance des échantillons envoyés pour expertise en 2023.

Pour l'année 2023, le CNR a reçu 1981 échantillons correspondant à 1516 patients. Les échantillons envoyés proviennent de l'ensemble du territoire avec principalement l'Ile-de-France qui reste fortement représentée (Figure

ci-dessus). Il faut noter l'augmentation des envois d'échantillons provenant d'Outre-mer (DROM-COM) avec une forte participation des départements de La Réunion et de la Guadeloupe.

Le nombre de centres envoyant des échantillons pour expertise est stable depuis 2020. En 2023, il est de **143**.

Tableau. Évolution du nombre de centres participants depuis 2016.

Année	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Nb de centres	86	100	130	129	141	138	131	143

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

### 3.2.1 Anorectites à *C. trachomatis* : enquête Anachla 2023

Entre le 01 mars et le 31 mai 2023, le CNR a reçu 1610 échantillons anorectaux positifs à *C. trachomatis* pour recherche de LGV. Un résultat interprétable a été obtenu pour 1563 (97,0%) échantillons. Le taux de retour des fiches cliniques était de 42,3% (660/1562).

Un total de 1563 échantillons provenant de 1553 patients a été reçu de 111 laboratoires de France métropolitaine et des Outre-mer.

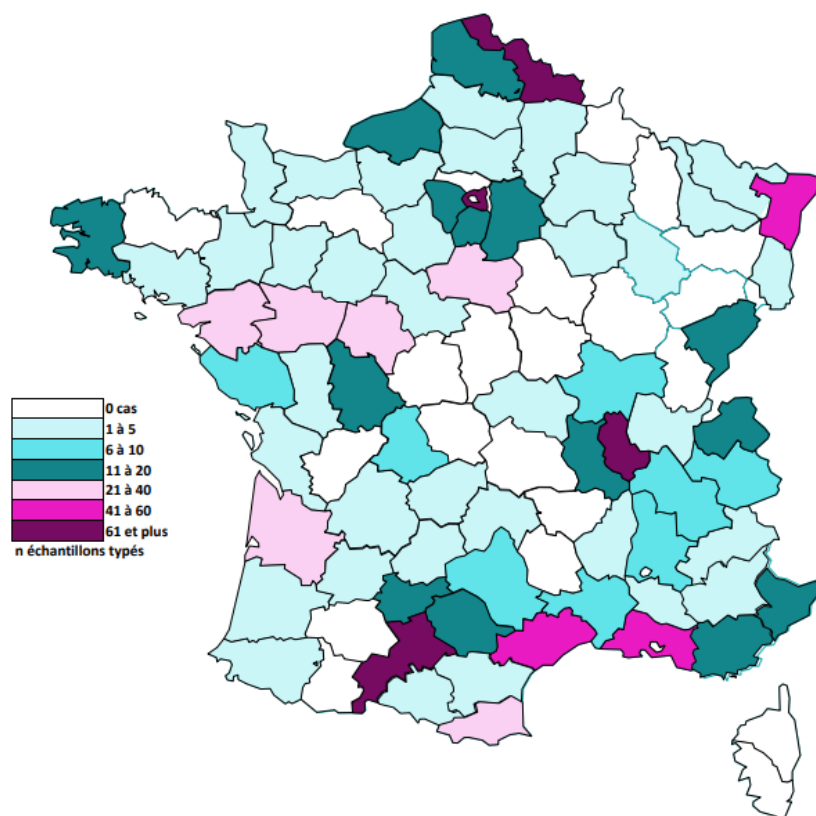
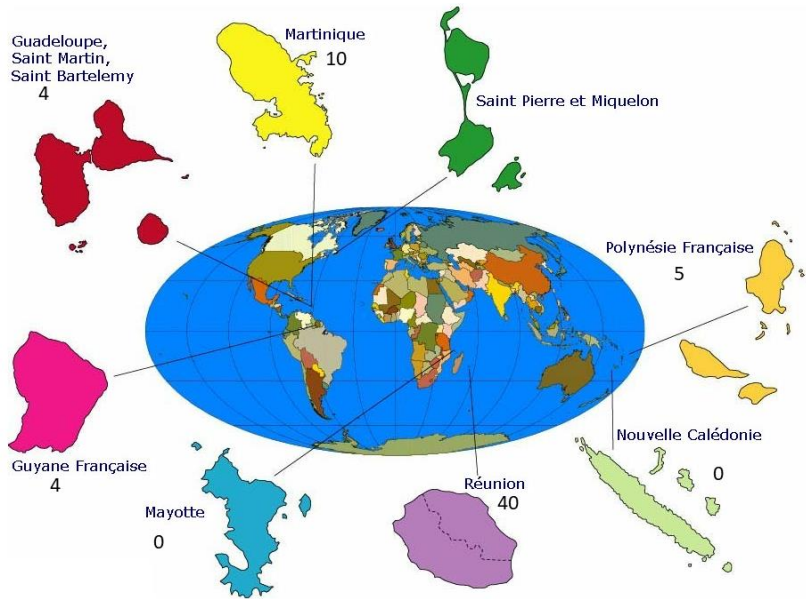


Figure. Echantillons reçus lors de l'enquête Anachla 2023 en France métropolitaine

### Figure. Echantillons reçus lors de l'enquête Anachla 23 en Outre-mer

Les 1563 échantillons amplifiés appartenaient à 1553 patients (1393 hommes (89,7%), 101 femmes (6,5%), 42 transgenres (2,7%) et 17 personnes de sexe inconnu). L'âge médian était de 33,3 ans [16-87] chez les hommes, de 23,3 ans [15-60] chez les femmes et de 36,9 ans [20-55] chez les transgenres.

) étaient p



orteurs d'un géovar L et 1432 (92,2%) d'un géovar non-L. La prévalence de LGV était de 8,4% (117/1393) chez les hommes, de 2,4% (1/42) chez les transgenres et de 1,98 (2/101) chez les femmes. Les résultats sont synthétisés dans le Tableau ci-dessous.

**Tableau. Caractéristiques cliniques et socio-démographiques des patients LGV et non LGV**

	Souche L (n=121) N(%)	Souche non L (n=1432) N(%)	OR [IC 95%]	P-value
<b>Genre</b>				
Homme	117 (96,7)	1276 (89,1)		
Femme	2 (1,7)	99 (6,9)		
Transgenre	1 (0,8)	41 (2,9)		
Non renseigné	1 (0,8)	16 (1,1)		
<b>Age (années)</b>				
Écart	[17-72]	[15-86]		
<b>Moyenne</b>	<b>38,5</b>	<b>35,5</b>		<b>&lt;0,05</b>
Médiane [Q1-Q3]	36,1 [29,8-47,4]	32,7 [25,9-42,7]		
<b>Lieu de résidence</b>				
Paris	45 (37,2)	515 (36,2)	1	NS
Province	68 (56,2)	852 (59,9)	0,91 [0,61-1,35]	NS
Outre-mer	8 (6,6)	55 (3,9)	1,66 [0,74-3,7]	NS
<b>Pratiques sexuelles chez les hommes</b>				
HSH	68 (100,0)	484 (99,6)		
HTX	0	2 (0,4)		
Non renseigné	49 (41,9)	790 (61,9)		
<b>Service prescripteur</b>				
<b>CeGIDD</b>	<b>36 (29,8)</b>	<b>701 (48,9)</b>	<b>0,66 [0,38-0,95]</b>	<b>&lt;0,001</b>
SMIT	43 (35,5)	504 (35,2)	1	NS

	Souche L (n=121) N(%)	Souche non L (n=1432) N(%)	OR [IC 95%]	P-value
<b>Médecine générale</b>	<b>24 (19,8)</b>	<b>185 (12,9)</b>	<b>1,52 [0,90-2,57]</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Gastro-entérologie/proctologie</b>	<b>12 (9,9)</b>	<b>4 (0,28)</b>	<b>35,16 [10,87-113,7]</b>	<b>&lt;0,001</b>
Dermatologie	2 (1,6)	13 (0,9)	1,80 [0,39-8,24]	NS
Autres *	2 (1,6)	15 (1,0)	1,56 [0,35-7,05]	NS
Non renseigné	2 (1,6)	10 (0,7)	2,34 [0,50-11,02]	NS
<b>Motif de consultation</b>				
<b>Symptômes anaux</b>	<b>50 (50,0)</b>	<b>103 (10,4)</b>	<b>8,71 [5,58-13,6]</b>	<b>&lt;0,001</b>
Autres symptômes	2 (2,0)	32 (3,2)	1,12 [0,26-4,81]	NS
<b>Asymptomatique</b>	<b>48 (48)</b>	<b>861 (86,4)</b>	<b>1</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Non renseigné</b>	<b>21 (17,4)</b>	<b>436 (30,4)</b>	<b>0,86 [0,51-1,45]</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>VIH</b>				
<b>Positif</b>	<b>48 (44,4)</b>	<b>294 (24,0)</b>	<b>2,53 [1,69-3,78]</b>	<b>&lt;0,001</b>
Négatif	60 (55,6)	929 (76,0)	1	
Non renseigné	13 (10,7)	209 (14,6)	0,96 [0,52-1,78]	
<b>Co-infection bactérienne</b>				
<b><i>Neisseria gonorrhoeae</i></b>	<b>32 (29,6)</b>	<b>213 (19,6)</b>	<b>1,76 [1,12-2,75]</b>	<b>&lt;0,05</b>
Syphilis active	6 (5,6)	86 (7,9)	0,82 [0,35-1,95]	NS
<i>Mycoplasma genitalium</i>	4 (3,7)	18 (1,7)	2,60 [0,86-7,90]	NS
<b>Aucune</b>	<b>67 (62,0)</b>	<b>785 (72,3)</b>	<b>1</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Non renseigné</b>	<b>13 (11,4)</b>	<b>346 (24,2)</b>	<b>0,44 [0,24-0,81]</b>	<b>&lt;0,001</b>

\*Autres : Centre pénitentiaire, Gynécologie, Médecine légale, Pneumologie, Rhumatologie, Sage-femme, Urgences  
NS : non significatif ; HSH, Hommes ayant des Rapports Sexuels avec des Hommes ; HTX, hétérosexuels.

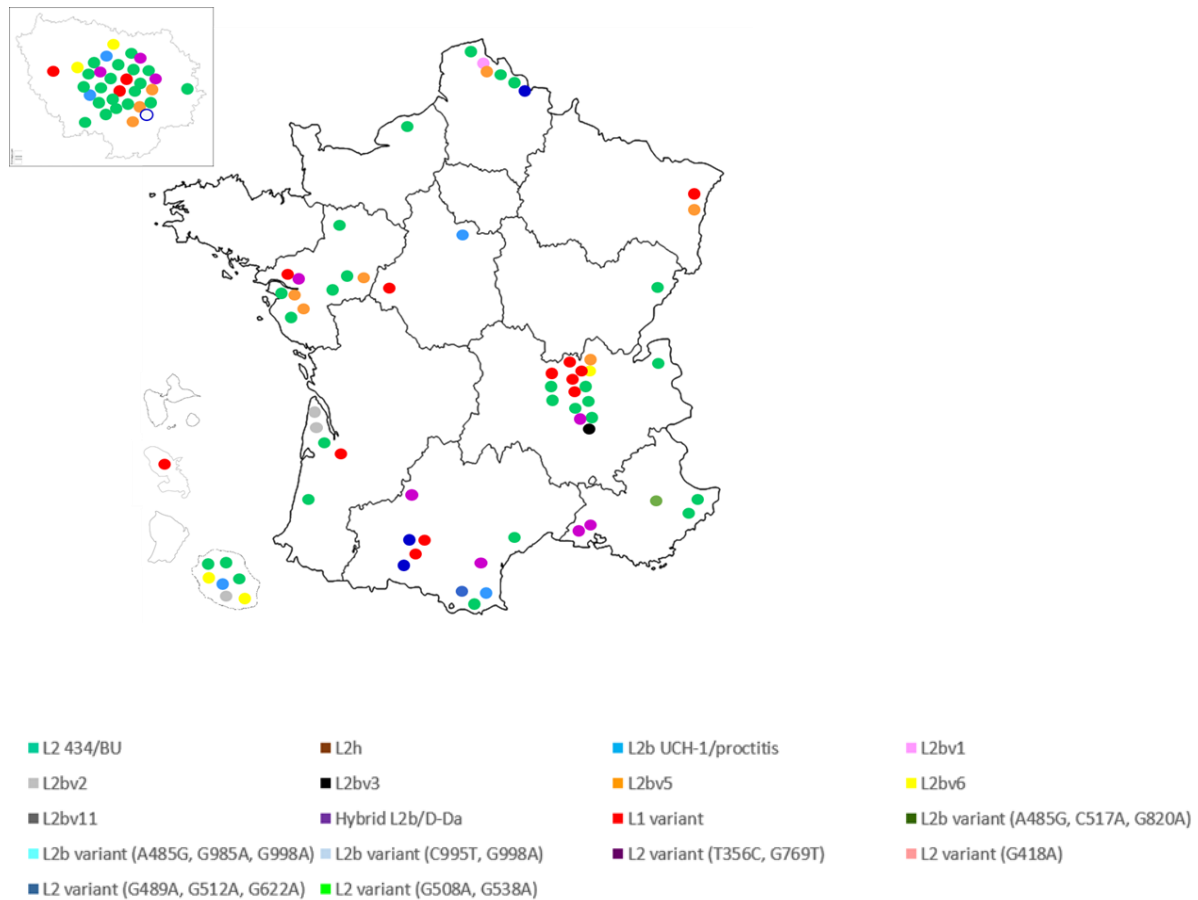
L'amplification et le séquençage du gène *ompA* a été réalisé pour les 121 échantillons positifs en LGV. Un résultat interprétable a été obtenu pour 102 échantillons. Un génotype *ompA* L2/434-Bu a été identifié pour 44 échantillons, suivi par le génotype *ompA* L1v MN563611.1 (15 échantillons) et le variant hybride L2b/D-Da (9 échantillons). A noter que pour 4 échantillons, un génotype *ompA* non-L a été retrouvé.

La répartition des génotypes *ompA* est présentée dans le Tableau ci-dessous.

Tableau. Génotypes *ompA* identifiés.

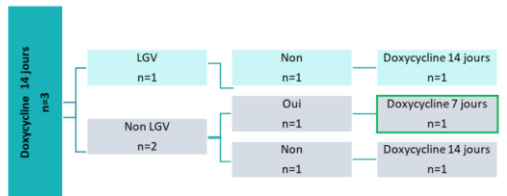
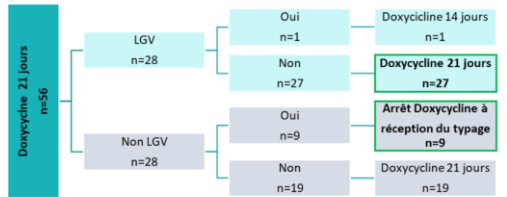
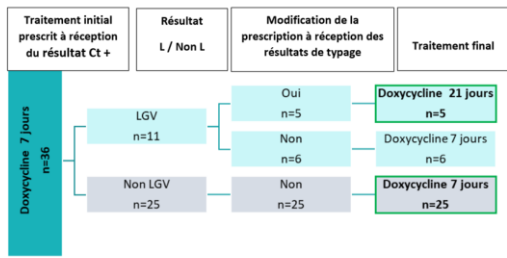
Genotype <i>ompA</i>	Nombre
E	1
G	1
J	2
L1v MN563611.1	14
L1v MN563611.1 + A507C	1
L2 434/Bu	44
L2b/D-Da	9
L2b/UCH-1	5
L2bv1	1
L2bv11	3
L2bv2	3
L2bv3	1
L2bv5	9
L2bv6	5
L2v C287T *	1
L2v C506T+C517A *	1
L2v1	1

On observe une répartition des génotypes sur l'ensemble du territoire.



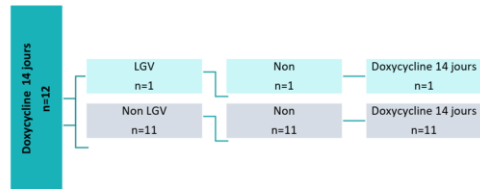
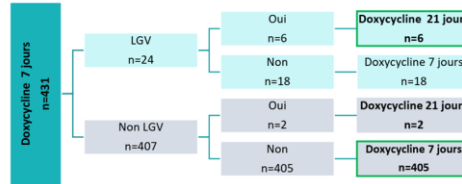
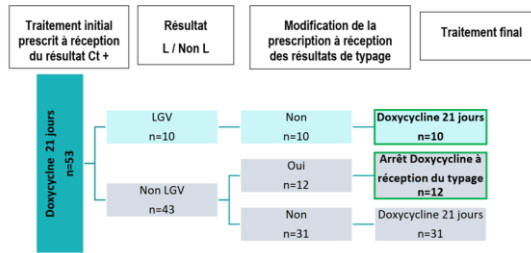
Lors de cette enquête, il été demandé, à posteriori, aux cliniciens quel traitement avait été instauré à réception du résultat de détection de *C. trachomatis*, puis si, à réception du typage (L ou non L), ils avaient modifié leur prescription.

### PATIENTS SYMPTOMATIQUES (n=97)



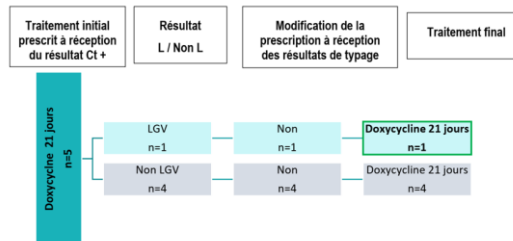
1 patient sans traitement et 1 doxy 6 semaines

### PATIENTS ASYMPTOMATIQUES (n=539)

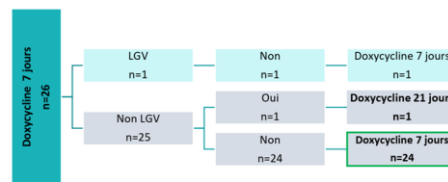
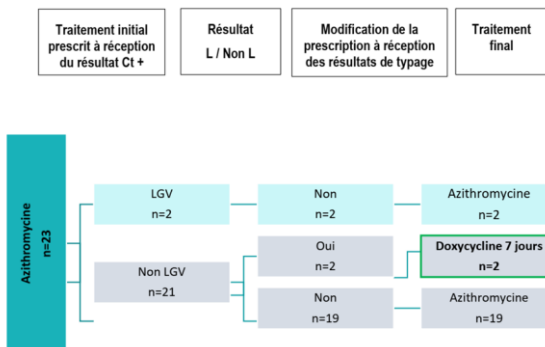


16 patients perdus de vue, 3 sans traitement, 1 doxy 28 jours

### PATIENTS SYMPTOMATIQUES AUTRE QU'ANORECTAL (n=33)



### PATIENTS ASYMPTOMATIQUES



1 patient perdu de vue, 1 doxy 14 jours

Les recommandations européennes préconisent l'utilisation de la doxycycline 100 mg 2 fois par jour pendant 21 jours si le patient est porteur d'une souche L et 7 jours s'il s'agit d'une souche non-L.

Parmi les patients présentant des symptômes anorectaux, 69,1% (67/97) ont reçu un traitement conforme aux recommandations, 9,3% (9/97) ont reçu un traitement moins long que celui recommandé et 21,6% (21/97) ont reçu un traitement plus long que celui recommandé. Parmi les patients asymptomatiques, 80,7% (435/539) ont reçu un traitement conforme aux recommandations, 7,2% (39/539) ont reçu un traitement moins long que celui

recommandé et 8,1% (44/539) ont reçu un traitement plus long que celui recommandé. **D'une manière générale, les recommandations de traitement sont suivies dans 79% des cas (527/667).**

**La prévalence de la LGV est en forte baisse, 7,8% (121/1553) en 2023 vs 13,4% (194/1446) en 2022 ( $p < 0.001$ ).**

Les populations des deux années sont comparables en termes de genre, d'âge, de lieu de résidence, de symptomatologie, d'infection(s) associée(s) et de pratiques sexuelles ; il n'y a pas eu de changement de méthode, de matériel ou de techniciens.

L'enquête Anachla 2023 nous montre que la LGV est principalement diagnostiquée chez les patients HSH, symptomatiques, séropositifs pour le VIH.

**Deux points à noter sur cette enquête :**

- **Deux femmes hétérosexuelles avaient une anorectite à génovar L** ; toutes les deux présentaient des symptômes anorectaux, ont été prélevées sur prescription d'un gastro-entérologue, sans co-infection, l'une de Bordeaux contaminée par un partenaire régulier et une de Paris par un partenaire occasionnel.
- **Une augmentation du nombre de cas de LGV est observée en Outre-mer.** En 2022, seulement 2 patients étaient porteurs d'une souche L sur les 56 échantillons envoyés (3,6%) vs 8 sur 63 en 2023 (12,7%) ( $p > 0.05$ ). L'augmentation n'est pas significative probablement en raison du faible nombre de prélèvements.

Ces travaux ont été présentés en communication orale à la **Réunion de Chimiothérapie anti-infectieuse 2023**.

Les résultats des enquêtes **Anachla 2020-2022** viennent d'être acceptés pour publication dans **Euro Surveillance**.

### 3.2.2 Infections à gonocoque

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

La partie description de la population infectée par le gonocoque qui concerne l'enquête 2022 est décrite au chapitre résistance 3.3.3.3

#### 3.2.2.2 Cas de gonococcies invasives expertisées au CNR en 2023

Le CNR a reçu en 2023, **4 souches invasives** de *N. gonorrhoeae* provenant de 3 patient(e)s responsables de **2 gonococcémies, 1 arthrite septique** et d'**1 abcès cervical**.

**Cas 1 et 2** (région Rhône Alpes) : en février 2023, une souche invasive a été isolée d'un abcès cervical. Le patient a été traité avec 500 mg de ceftriaxone. La souche était sensible aux C3G, résistante aux fluoroquinolones, à l'azithromycine et aux tétracyclines et de MLST7822 / NGSTARnew / NG-MAST20881. La seconde souche était isolée en avril 2023 d'une arthrite de la métacarpo-phalangienne. Le patient a guéri sous 2 g de ceftriaxone par jour pendant 10 jours et 240 mg de gentamicine pendant 3 jours au regard de la multirésistance de la souche aux C3G (CMI céfixime à 1 mg/l, CMI ceftriaxone à 0,25 mg/l) liée à la présence du gène *penA60*. La souche restait

sensible à l'azithromycine mais résistante à la tétracycline et à la ciprofloxacine. La souche avait le MLST11368 / NGSTAR new / NG-MAST new.

**Cas 3** (Ile de France) : en février 2023, une souche invasive est isolée d'hémoculture dans le cadre d'une arthrite du pied gauche et de douleur mandibulaire, le patient guérit sous C3G. La souche était sensible aux C3G, résistante aux fluoroquinolones et tétracyclines, et de MLST11706 / NGSTAR4823 / NG-MAST17972.

**Cas 4** (Cayenne) : en avril 2023, une souche invasive est isolée lors d'un sepsis dans un contexte de polyarthrite traitée par ceftriaxone en IV. La souche était sensible aux C3G, résistante aux fluoroquinolones et tétracyclines et de MLST8143 / NGSTAR426 / NG-MAST5624.

### 3.2.3 Syphilis

#### 3.2.3.1 Dans le cadre du protocole GenoSyph

Pour l'année 2023, le CNR a reçu un total de 135 écouvillons provenant de 135 patients (93% d'hommes, d'âge moyen 36,8 ans) testés par qPCR pour les gènes *tpp47* et *polA*. La majorité des prélèvements réceptionnés sont des écouvillons d'origine génitale (56%), buccale (13%) et anale (24%) alors que les écouvillons d'origine cutanée sont moins représentés à 7%. La détection du génome de *T. pallidum* par qPCR dans l'ensemble des écouvillons est de 23% (31/135) se répartissant à 17% (23/135) d'échantillons positifs pour les écouvillons génitaux, 4% (5/135) pour les écouvillons buccaux et 1% (1/135) pour les écouvillons anaux et cutanés.

#### 3.2.3.2 Dans le cadre de l'expertise

Pour l'année 2023, le laboratoire associé syphilis a reçu 1 981 échantillons (augmentation de 40% par rapport à 2022) correspondant à 1 516 patients (53,6% d'hommes). C'est une population à dominante masculine avec un total de 692 hommes (54%) et de 597 femmes (46%). Le ratio sexe ratio H/F est de 1,16. L'âge moyen est de 44,5 ans avec la tranche d'âge de 21-50 ans majoritaire avec 44,5% des individus.

La détection du génome de *T. pallidum* par qPCR des gènes *tpp47/polA* correspond à 892 analyses dont 5,8% de résultats positifs. Les expertises sérologiques représentent 1 603 analyses dont 45,5% de résultats positifs, portant à un total de 2 495 les analyses réalisées pour expertise par le CNR IST en 2023. La majorité des échantillons sont



du LCR (42%) et des écouvillons (17%). Les prélèvements périnataux représentent 15% des échantillons reçus sur l'année avec une forte proportion de placenta (10%) et d'écouvillons et/ou sécrétions nasopharyngées (15%).

En 2023, nous avons reçu 1089 demandes d'expertise sérologique qui ont été testées par un TNT et par au moins un TT. Ces demandes d'expertise sérologique représentent 64,2% de l'ensemble des analyses réalisées avec une positivité globale de 45,5%.

L'évolution de la nature des échantillons reçus par le laboratoire associé syphilis sur la période 2006-2023 montre une importante diversité avec une proportion forte de sérum (40%) et de LCR (24%) (figure ci-dessous).

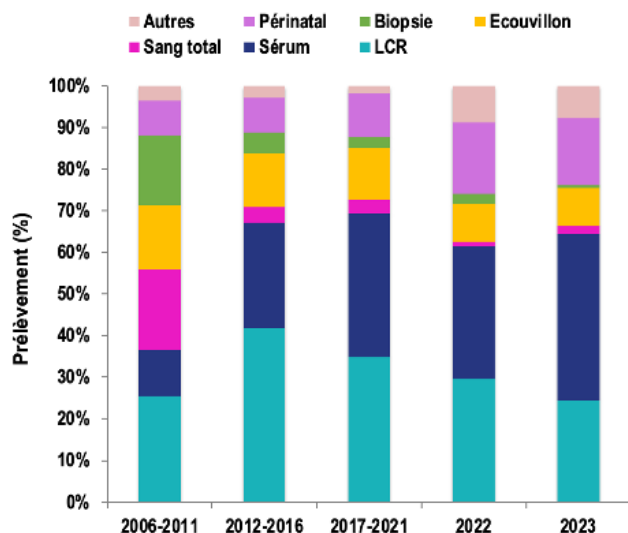


Figure. Nature des échantillons reçus par le CNR sur 2006-2023.

### 3.2.3.3 Dans le cadre du réseau Anachla

Pour l'année 2023, 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 54 échantillons a été testé et 3 (5,5%) présentaient un résultat positif par qPCR. Malgré la faible proportion de patients positifs, 100% sont des HSH, 66% sont des personnes vivant avec le VIH et le diagnostic d'anorectite était retrouvé chez 100% des individus (cf. Tableau ci-dessous). L'analyse de la présence de la

mutation A2058G a été possible sur les 3 échantillons qui présentaient tous la mutation de la résistance à l'azithromycine (Cf. Tableau ci-dessous).

Tableau. Échantillons Anachla 2023 positifs pour *T. pallidum*.

ORIENTATION	Age	MOTIF	DIAG	VIH	PREP	IST VIRALE	IST BACT	Amplification génique			RFLP	
								PCR TP	Ct qPCR polA	Ct qPCR tpp47	PCR 23S	Mutation / Wild type
HSH	48,7	VIH	ANO	pos	neg	NON	Syph	pos	25,7	26,7	pos	A2058G
HSH	32,7	SA	ANO	neg	pos	NON	Syph + Gono	pos	31,0	31,9	pos	A2058G
HSH	63,9	PR	ANO	pos	neg	NON	Syph	pos	36,1	36,5	pos	A2058G

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

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

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

**Objectif** : Détermination de la prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones dans l'héxagone en 2022.

**Matériels et méthodes** : Dans les centres participants, pendant un mois, du 15 septembre au 15 octobre 2022, 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 pré-adressées. 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 identifiée par amplification et séquençage de l'ARNr 23S afin de déterminer la nature de la mutation. Les échantillons non amplifiés ou ininterprétables en séquençage ont été testés avec l'une des deux PCR multiplex commercialisées : ResistancePlus® MG SpeeDx ou Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit, toutes deux capables de détecter les 5 mutations de l'ARNr 23S suivantes : A2058G, A2059G, A2058T, A2058C et A2059C (numérotation *E. coli*). 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 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. Les résultats obtenus ont été envoyés au médecin prescripteur. Celui-ci était invité à remplir un questionnaire comportant des données relatives au patient (sexe, date de naissance, nature de l'échantillon, service demandeur, notion de dépistage, présence de symptômes, statut VIH et des informations sur le comportement sexuel). Ces données ont été colligées de façon anonyme sur un fichier Excel. 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 était  $p < 0,05$ . Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant l'environnement de développement intégré RStudio. R version 4.3.0 (2023-04-21 ucrt).

**Résultats** : Un total de 479 échantillons positifs à *M. genitalium*, issus de 469 patients, a été reçu de 37 centres en France métropolitaine. Le taux de retour des fiches cliniques était de 62% (291/469). La plupart des centres participants nous a fourni le nombre total de PCR de détections réalisées pendant la période d'inclusion ; la **prévalence globale de l'infection à *M. genitalium* dans l'ensemble des centres participants était de 1,52%** (285/18 728) durant la période d'enquête.



Figure. Répartition géographique des centres participants et nombre de patients par ville

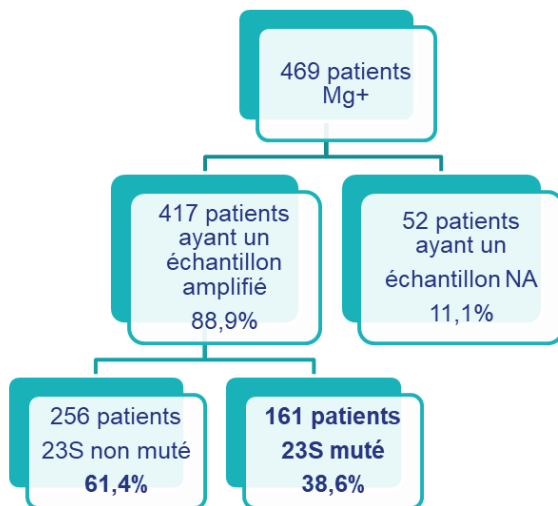


Figure. Diagramme de flux de la détection de la résistance aux macrolides des patients positifs à *M. genitalium*. NA : non amplifié.

Parmi les 417 patients pour lesquels une amplification a été obtenue, 61,4% (256/417) étaient sensibles aux macrolides tandis que **38,6% (161/417) d'entre eux étaient résistants aux macrolides.**

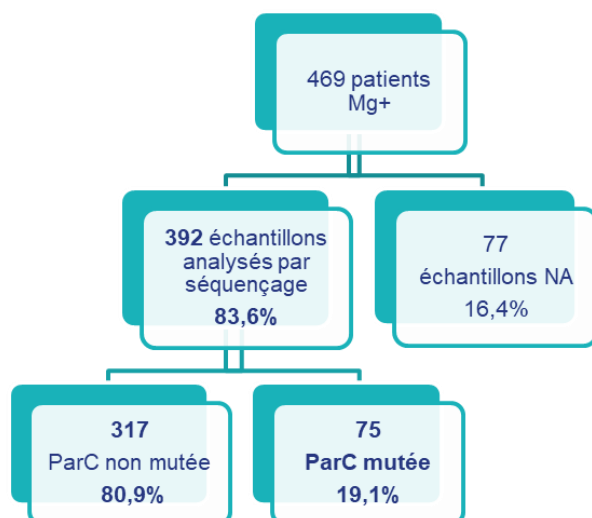
Parmi les 161 patients présentant une mutation associée à la résistance, les mutations A2058G et A2059G étaient les plus fréquentes dans 67,7 % (109/161) des cas (71 A2059G, 38 A2058G), suivi de la substitution A2058T dans 19,9 % (32/161) des cas. Dans 12,4% (20/161) des cas, la position exacte de la mutation n'a pas pu être déterminée.

**La prévalence de la résistance aux macrolides était de 51,5% chez les hommes (88/171) versus 29,4% chez les femmes (72/245) ( $p < 0,001$ ).**

Les pratiques sexuelles des patients n'étaient connues que pour 258 d'entre eux (55%). Parmi les hommes, 70,8% (46/65) des HSH étaient résistants aux macrolides vs 33,3% (13/39) chez les hommes hétérosexuels ( $p < 0,001$ ).

En conclusion, la prévalence de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* a atteint 38,6 %, valeur en hausse non significative ( $p = 0,3$ ), par rapport à 2021 où nous rapportons une prévalence à 35,2 %. Si nous comparons les résultats en laboratoires constants, c'est-à-dire les 14 laboratoires qui ont participé les trois dernières années, nous obtenons un taux de résistance aux macrolides de 37,7% (60/159) en 2020, 35,2% (50/142) en 2021 et 45,5% (76/167) en 2022. Cette hausse n'est pas significative ( $p > 0,05$  sur les 3 années et entre 2021 et 2022). **Nous ne**

constatons donc pas d'augmentation significative ni chez les hommes ni chez les femmes sur les 3 ans ni sur les deux dernières années.



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

Parmi les 469 échantillons analysés par séquençage du gène *parC*, 80,9% (317/392) étaient sauvages tandis que 19,1% (75/392) 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. Dix mutations différentes ont été retrouvées.

Les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones étaient par ordre de fréquence (position entre parenthèse correspondant à celle de *E. coli*) : **Ser83(80)Ile (49)**, Asp87(84)Asn (11), Asp87(84)Tyr (1), Ser83(80)Arg (2), Gly81(78)Cys (2), indéterminées car détectées avec le kit Nytor (2).

**La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones en France métropolitaine était de 17,1% (67/392). La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 25,8% chez les hommes (41/159) versus 10,8 % chez les femmes (25/232) ( $p < 0,001$ ).**

On constate une différence significative de la résistance aux fluoroquinolones chez les patients d'Ile de France (14/50=28,0%) versus les patients de métropole hors Ile de France (53/342=15,5%), ( $p < 0,05$ ). Cette différence peut s'expliquer par un sex-ratio en faveur des hommes 54,4% en IDF vs 38,9% en province.

Si nous comparons les résultats en laboratoires constants, c'est-à-dire dans les 14 laboratoires qui ont participé à 3 années successives, nous obtenons un taux de résistance aux fluoroquinolones de 16,1% (20/124) en 2020, 22,0% (31/141) en 2021 et 18,9% (31/164) en 2022. Cette baisse n'est pas significative ( $p > 0,05$ ).

Si nous comparons les résultats dans les 14 laboratoires constants, nous obtenons **un taux de double résistance macrolides / fluoroquinolones** de 12,2% (14/101) en 2020, 13,7% (18/113) en 2021 et 15,9% (25/132) en 2022. Cette hausse n'est pas significative ( $p > 0,05$ ) quelles que soient les années comparées.

La prévalence de la résistance a été étudiée en fonction d'éventuels traitements antérieurs par macrolides. L'information a été recueillie chez 46,9% (220/469) des patients.

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

Traitements antérieurs par macrolides	% de patients	Résistance aux macrolides			Résistance aux fluoroquinolones		
		Résistant*	Sensible*	NA	Résistant*	Sensible*	NA
Inconnu	53,5% (251/469)	37,6 % (83/221)	62,4 % (138/221)	12,0 % (30/251)	18,4 % (39/212)	81,6 % (173/212)	15,5 % (39/251)
Non	36,7 % (172/469)	<b>36,4 %</b> (56/154)	63,6 % (98/154)	10,5 % (18/172)	<b>14,0 %</b> (20/143)	86,0 % (123/143)	16,9 % (29/172)
Oui	9,8 % (46/469)	<b>52,4 %</b> (22/42)	47,6 % (20/42)	8,7 % (4/46)	<b>21,6 %</b> (8/37)	78,4 % (29/37)	19,6 % (9/46)

\*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, 52,4% (22/42) étaient infectés par une souche résistante aux macrolides tandis que parmi les patients n'ayant pas reçu de traitement préalable par les macrolides, 36,4% (56/154) étaient infectés par une souche résistante ( $p > 0,05$ ). La différence de prévalence de résistance aux fluoroquinolones entre les patients préalablement traités ou non traités par les macrolides (21,6% versus 14,0%) n'était, elle non plus, pas significative.

### 3.3.1.2 Surveillance de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en Outre-mer (étude MGDROM 2022)

**Objectif** : détermination de la prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France d'Outre-mer en 2022.

**Matériels et méthodes** : Similaire à 3.3.3.1

**Résultats** : Un total de 234 échantillons provenant de 230 patients a été reçu de 3 départements ou territoires d'Outre-mer, La Réunion, Nouvelle Calédonie et Polynésie française.

Le taux de retour des fiches cliniques était de 60,4% (139/230).

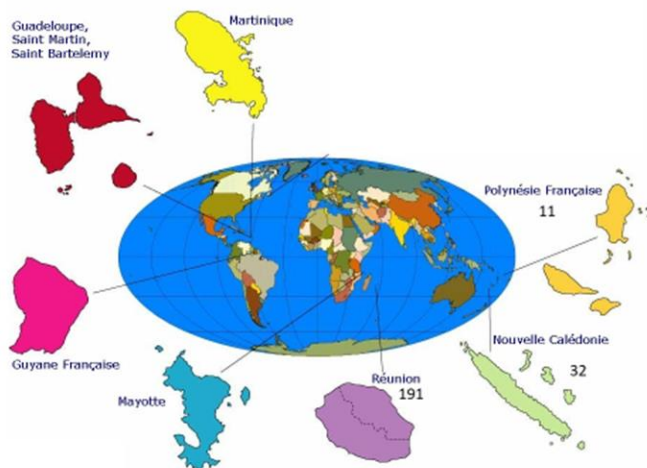


Figure. Répartition géographique des centres participants et nombre de patients par ville

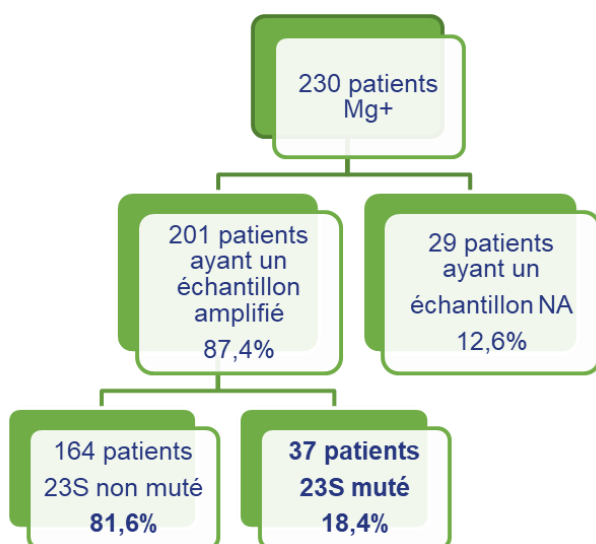


Figure. Diagramme de flux de la détection de la résistance aux macrolides des patients positifs à *M. genitalium*. NA : non amplifié.

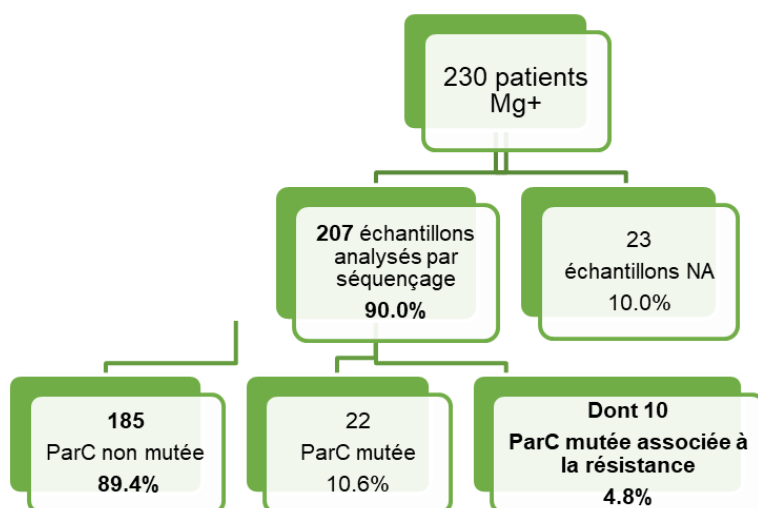
Parmi les 201 échantillons pour lesquels une amplification a été obtenue, 81,6% (164/201) étaient sensibles aux macrolides tandis que 18,4 % (37/201) d'entre eux étaient résistants aux macrolides.

Parmi les 37 échantillons présentant une mutation associée à la résistance, 16 échantillons présentaient une mutation A2059G (numérotation *E. coli*), 8 A2058G, 6 A2058T et une mutation A2059C. Dans 16,2% (6/37) des cas, la position exacte de la mutation n'a pas pu être déterminée.

La prévalence de la résistance par territoire était 34,4% en Nouvelle-Calédonie (11/32), 30,0% en Polynésie (3/10) et 14,5% à La Réunion (23/159).

Chez les femmes le pourcentage de résistance était de 12,5% (15/120), significativement plus faible que chez les hommes, 28,2% (22/78) ( $p < 0,05$ ).

Les pratiques sexuelles des patients étaient connues que pour 86 d'entre eux (37,4%). Parmi les hommes, 68,8% (11/16) des HSH étaient résistants aux macrolides vs 30,0% (6/20) chez les hommes hétérosexuels ( $p < 0,05$ ).



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

Parmi les 230 échantillons analysés par séquençage du gène *parC*, 89,4% (185/207) étaient sauvages tandis que 10,6% (22/207) 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. Les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones étaient par ordre de fréquence (position entre parenthèse correspondant à celle de *E. coli*) : Ser83(80)Ile (5), Asp87(84)Asn (3), indéterminées car détectées avec le kit Nytor (2).

De fait, la **prévalence de la résistance aux fluoroquinolones en Outre-mer était de 4,8%** (10/207).

La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 7,4% (6/81) chez les hommes *versus* 3,3 % (4/123) chez les femmes ( $p>0,05$ ).

Les pratiques sexuelles des patients étaient connues que pour 86 (37,4%) d'entre eux. Parmi les hommes, 22,2% (4/18) des HSH étaient résistants aux fluoroquinolones *vs* 0% (0/21) chez les hommes hétérosexuels.

La prévalence d'une double résistance était de 5,5% chez les hommes (4/73) *versus* 0,9 % chez les femmes (1/117) ( $p>0,05$ ).

**Dans les laboratoires ayant envoyé des prélèvements en 2018 et 2022 (CHU de la Réunion, Réunionlab, CH de Polynésie et CH de Nouvelle-Calédonie), l'augmentation de la résistance globale aux macrolides était significative (7,3% *versus* 18,4%,  $p<0,001$ ). Cette augmentation était significative chez les hommes (8,9% *vs* 28,2%,  $p<0,05$ ) mais pas chez les femmes ( $p>0,05$ ).**

Nous ne constatons pas d'augmentation significative de la résistance aux fluoroquinolones ni dans la population totale ni par genre.

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

Traitements antérieurs par macrolides	% de patients	Résistance aux macrolides			Résistance aux fluoroquinolones		
		Résistant*	Sensible*	NA	Résistant*	Sensible*	NA
Inconnu	59.1% (136/230)	11.2% (13/116)	88.8% (103/116)	14.7% (20/136)	2.5% (3/119)	97.5% (116/119)	12.5% (17/136)
Non	33.1 %	<b>19.1%</b>	80.9%	10.5%	<b>8.6%</b>	91.4%	7.9%

	(70/230)	(13/68)	(55/68)	(8/76)	(6/70)	(64/70)	(6/76)
Oui	7.8 %	<b>64.7%</b>	35.3%	5.6%	<b>5.6%</b>	94.4%	0.0%
	(18/230)	(11/17)	(6/17)	(1/18)	(1/18)	(17/18)	(0/18)

\*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 les macrolides, 64,7% (11/17) étaient infectés par une souche résistante aux macrolides tandis que parmi les patients n'ayant pas reçu de traitement préalable par les macrolides, 19,1% (13/68) des patients étaient infectés par une souche résistante (p<0,001).** La résistance aux fluoroquinolones n'était pas significativement différente entre les patients ayant reçu ou non un traitement antérieur par macrolides (p>0,05).

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

Comme annoncé dans le rapport 2022, il n'y a pas eu d'enquête MYCOMET 2022. En 2023, le recueil des échantillons de l'enquête MYCOMET 2023 a été réalisé. Un total de 104 échantillons a été collecté de 10 centres. La culture et la détermination des CMI seront réalisées en 2024.

Une publication concernant les enquêtes MYCOMET 2020 et 2021 est en cours de révision dans le Journal of Clinical Microbiology.



### 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 2022) : analyse des antibiogrammes

Pour l'enquête ENGON de 2022, le réseau étant maintenant très actif, le CNR a collecté 673 souches isolées du 1 septembre au 31 décembre 2022 dont 551 ont été catégorisées phénotypiquement et génotypiquement. Le recueil des données cliniques de ces 551 souches a été utilisé pour l'analyse démographique.

Les cas cliniques provenaient de 52 centres hospitaliers ou laboratoires privés dont la répartition géographique est localisée sur la carte ci-dessous. Les souches envoyées proviennent de l'ensemble du territoire avec principalement l'Île-de-France qui reste fortement représentée (43% des souches).

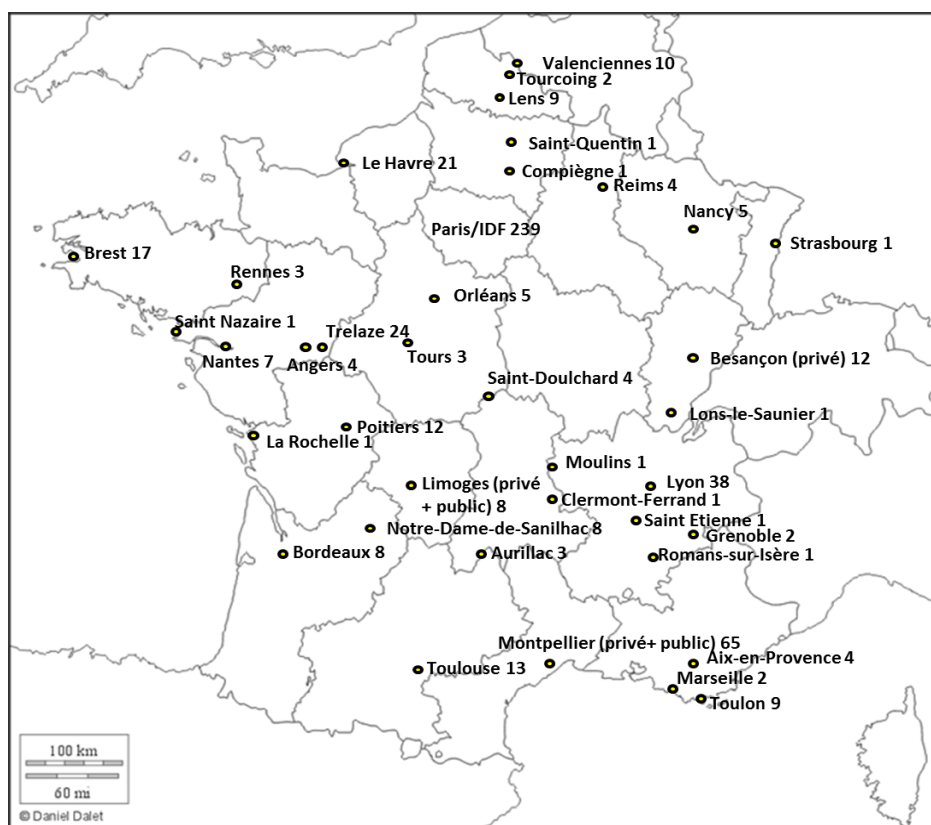


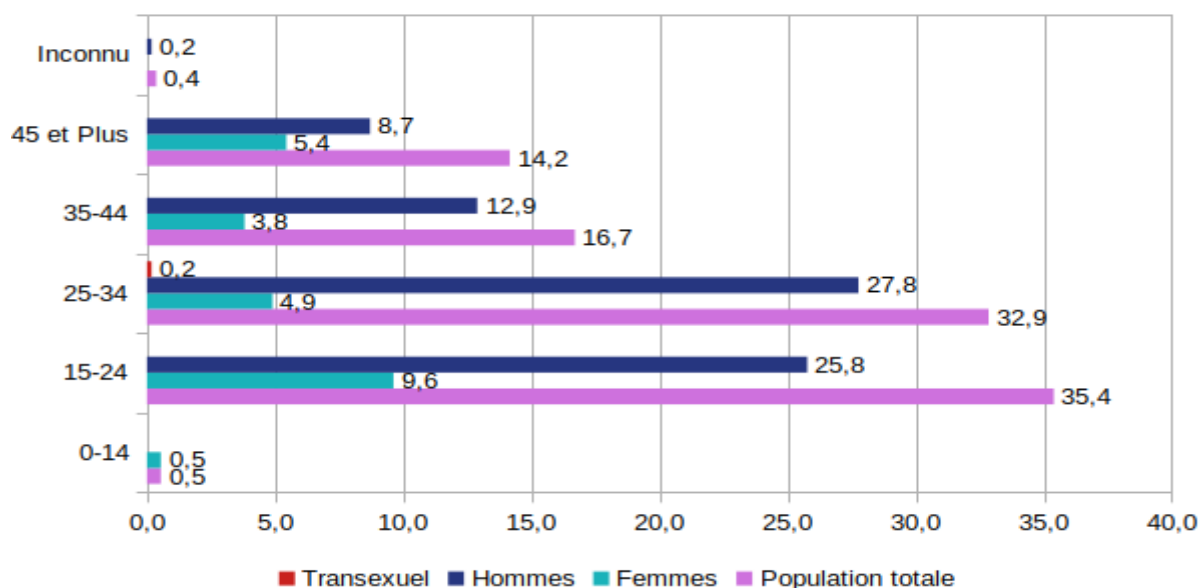
Figure. Répartition géographique des 551 souches analysées dans l'enquête ENGON 2022

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

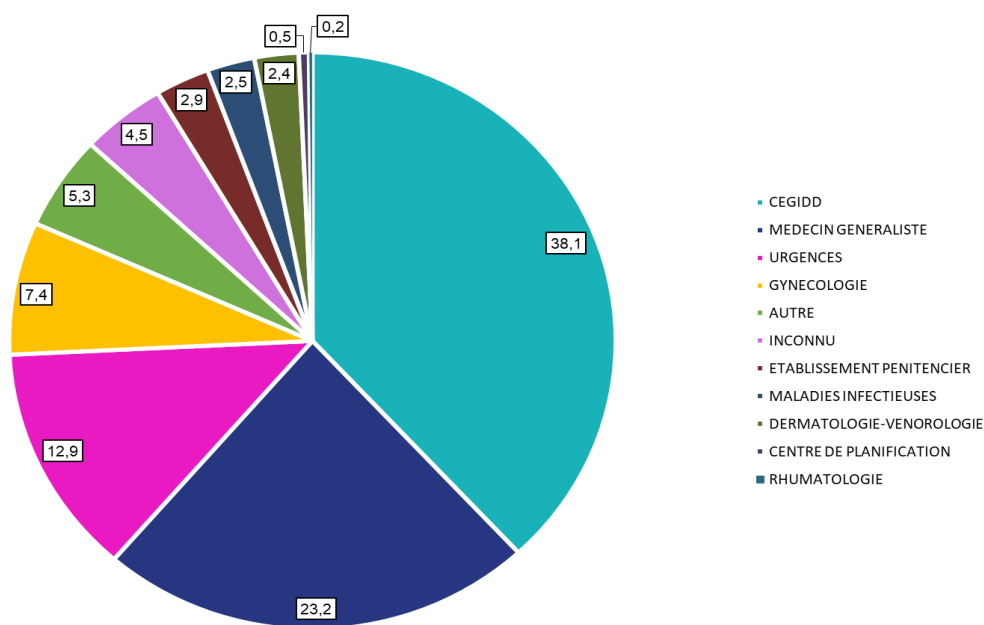
Zones	1-IDF	2-NO	3-NE	4-SE	5-SO	Total général
Nombres de souches (%)	235 (42,6%)	82 (14,9%)	59 (10,7%)	121 (22%)	54 (9,8%)	551 (100%)

Sur les 551 cas de gonocoques déclarés pour lesquels une souche a été isolée, 75,3% (415/551) proviennent d'hommes, 24,3% (134/551) de femmes, 0,2% (1/551) de transgenre et 0,2% (1/551) d'individus de sexe inconnu. Dans 53,9% (297/551) des cas, les informations cliniques étaient renseignées rapportant 75,8% (225/297) de patient(e)s symptomatiques et 13,5% (40/297) patient(e)s asymptomatiques venu(e)s pour un dépistage. L'orientation sexuelle était renseignée dans moins d'un tiers des cas (27,2% ; 150/551) ; 65% des hommes étaient HSH ou bisexuels (71/109) et 100% des femmes étaient hétérosexuelles (51/51). L'âge moyen médian était de 28 ans pour les hommes et les femmes avec une amplitude allant de 0 à 82 ans (0-73 ans pour les femmes et 15-82 ans pour les hommes). La classe d'âge la plus représentée sur l'ensemble de la

population était la classe 15-24 ans (39,2%), suivie de la classe 25-34 ans (29%). Les hommes étaient les plus représentés dans toutes les catégories d'âge excepté la catégorie 0-14 ans (3 filles).



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 (38,1%), suivi par les médecins généralistes (23,2%) et les urgences (12,9%).



Dans cette cohorte de patients, l'information d'une co-infection était disponible dans 77,5% des cas (427/551). Une co-infection avec *C. trachomatis* était fréquemment observée, (18,7% des cas, 80/427) ; on dénombre également 9 cas de syphilis, 6 infections à *M. genitalium* et 2 infections à *T. vaginalis*. Dans cette cohorte, 78,2% des patients (334/427) ne présentaient pas d'autre infection bactérienne. Parmi les prélèvements répertoriés, 88,4% (487/551) sont issus d'un prélèvement urogénital (258 urèthes, 116 prélèvements vaginaux, et 258 urines), 7,1% d'un prélèvement rectal (39/551) et 4,5% d'un autre prélèvement (6 oro-pharyngés, 5 liquides articulaires, 1 hémoculture, 3 prélèvement oculaires et 11 autres).

Tableau. Sensibilité aux antibiotiques des 551 souches de gonocoques isolées en 2022

Antibiotiques	Sensible	Sensibilité Diminuée (*) / Intermédiaire (**)	Résistant	Résistant à haut niveau
Céfixime	528/551 (95,8%)	22/511 (4%) <sup>a</sup>	1/551 (0,2%) <sup>a</sup>	-
Ceftriaxone	549/551 (99,6%)	1/551 (0,2%) <sup>a</sup>	1/551 (0,2%) <sup>a</sup>	-
Tétracycline	43/551 (7,8%)	-	414/511 (75,1%)	94/551 (17,1%) <sup>b</sup>
Ciprofloxacine	170/551 (30,9%)	-	381/551 (69,1%)	-
Gentamicine	551/551 (100%) <sup>c</sup>	-	-	-
Spectinomycine	551/551 (100%)	-	-	-
Azithromycine	487/551 (88,4%)	-	52/551 (9,4%) <sup>d</sup>	12/551 (2,2%) <sup>e</sup>

<sup>a</sup> La sensibilité diminuée au céfixime et à la ceftriaxone est définie par une CMI comprise entre  $0,064 \leq \text{CMI} \leq 0,125 \mu\text{g/mL}$

<sup>b</sup> La résistance de haut niveau à la tétracycline est définie par une CMI  $\geq 16 \mu\text{g/mL}$

<sup>c</sup> La sensibilité à la gentamicine est définie par une CMI  $\leq 16 \mu\text{g/mL}$  (correspondant à l'Ecoff)

<sup>d</sup> Une souche dont la CMI est  $\leq 1 \mu\text{g/mL}$  (la valeur de  $1 \mu\text{g/mL}$  correspond à l'Ecoff) est classée dans la population de souches sauvages

<sup>e</sup> La résistance de haut niveau à l'azithromycine est définie par une CMI  $> 4 \mu\text{g/mL}$  ; 3 souches avaient une CMI  $\geq 256 \mu\text{g/mL}$

Parmi les 551 souches analysées, la production de bêta-lactamase a été observée chez 15,1% des souches (83/551) incluant 95% de TEM-1 et 5% de TEM-135.

Parmi les 551 souches, 22 (4%) étaient de sensibilité diminuée au céfixime, 1 souche (0,2%) était de sensibilité diminuée à la ceftriaxone, et une souche était résistante au céfixime et à la ceftriaxone (0,2%). 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 C3G en France avec une proportion toujours très faible de souches résistantes au céfixime (0,2% en 2020 vs 0,1% en 2021 vs 0,2% en 2022).

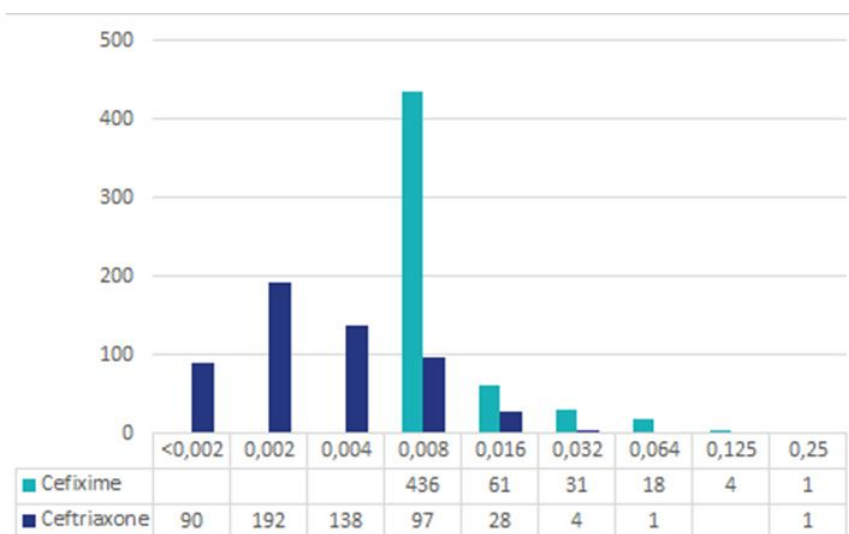


Figure. Répartitions des CMI du céfixime et de la ceftriaxone pour les 551 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2022.

Pour les 6 autres molécules testées, les répartitions des CMI sont présentées dans les Figures ci-dessous. On observe une légère augmentation des résistances aux fluoroquinolones (69,1% en 2022 vs 64,9% en 2021 vs

59,8% en 2020) et à la tétracycline (92,2% en 2022 vs 91,4% en 2021 vs 90,3% en 2020), avec une diminution des souches à haut niveau de résistance à la tétracycline (18,5% en 2022 vs 22,9% en 2021 vs 32,1% en 2020). Pour la tétracycline, les concentrations critiques du CASFM–EUCAST ont été homogénéisées en 2022 avec une disparition de la catégorisation intermédiaire. Ainsi le taux de résistance à la tétracycline est augmenté depuis 2021 car ce taux associe maintenant l'ancienne valeur intermédiaire et la valeur résistante.

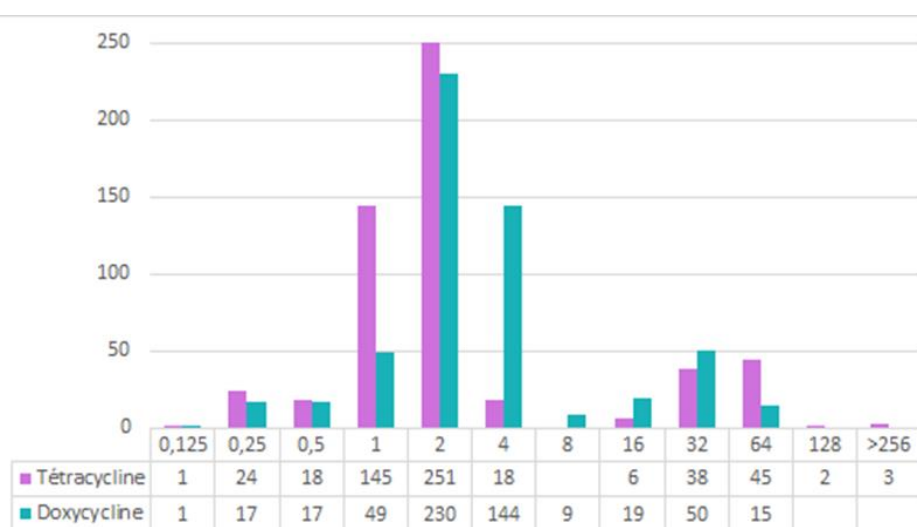


Figure : Répartition des CMI de la doxycycline et de la tétracycline pour les 551 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2022.

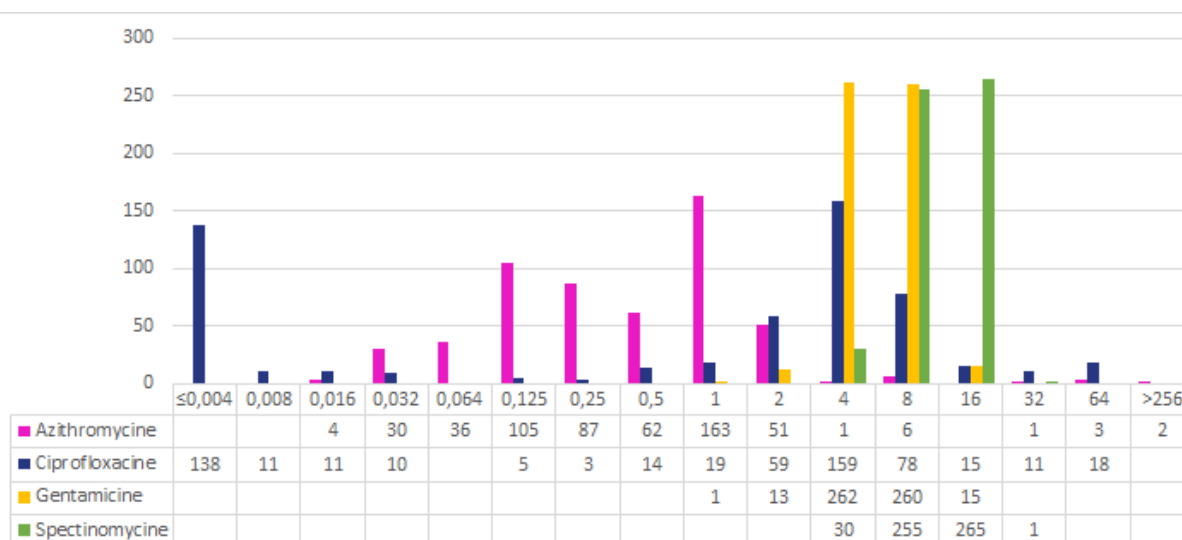


Figure : Répartition des CMI de l'azithromycine, la ciprofloxacine, la gentamicine et de la spectinomycine pour les 551 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2022.

La répartition des CMI de l'azithromycine est comprise entre 0,016 et >256 µg/mL; **11,6% (64/551) des souches étaient résistantes**, dont 2,2% (12/551) présentaient un haut niveau de résistance. Le taux de résistance à l'azithromycine est stable par rapport à ceux de 2020 (9,5%) et 2021 (9,6%). Aucune résistance à la gentamicine ou à la spectinomycine n'a été observée.

En se basant sur les interprétations des CMI aux antibiotiques testés, 16 phénotypes de résistance différents ont été identifiés et sont résumés dans le tableau ci-dessous.

**Les phénotypes les plus fréquents demeurent TET-R + CIP-R (47%) suivi de TET-R seul (15%) et TET-RHN + CIP R (9%),** comme en 2021. Parmi les 40 souches sensibles à tous les antibiotiques testés, aucune ne produisait une β-lactamase.

Tableau. Phénotype de résistance observé parmi les 551 souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans l'enquête ENGON 2022.

Phénotypes de résistance	ENGON 21 n (%)	(n=803)	ENGON 22 n (%)	(n=551)
Sauvage		66 (8,2)		40 (7,3)
CIP R		3 (0,4)		2 (0,4)
TET R		134 (16,7)		83 (15,1)
TET RHN		52 (6,5)		30 (5,4)
<b>TET R - CIP R</b>		<b>345 (43,0)</b>		<b>260 (47,2)</b>
TET R - CIP R - FIX SD		7 (0,9)		7 (1,3)
TET R - CIP R - FIX SD - CRO SD		2 (0,2)		1 (0,2)
TET R - CIP R - FIX R - CRO R		-		1 (0,2)
TET RHN - CIP R		104 (13,0)		51 (9,3)
TET RHN - CIP R - FIX SD		11 (1,4)		12 (2,2)
TET R - AZI R		35 (4,4)		11 (2,0)
TET R - CIP R - AZI R		35 (4,4)		40 (7,3)
TET R - CIP R - AZI R - FIX SD		-		1 (0,2)
TET R - AZI RHN		-		5 (0,9)
TET R - CIP R - AZI RHN		7 (0,9)		6 (1,1)
TET RHN - CIP R - AZI RHN - CRO SD		1 (0,1)		-
TET RHN - CIP R - AZI RHN - FIX R - CRO SD		-		1 (0,2)
TET R - CIP R - FIX R		1 (0,1)		-

R : Résistant; RHN : 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 2022) : analyse NGS comparative

Au total, 551 souches de *N. gonorrhoeae* ont été séquencées et les données de typage MLST, NG-MAST, NG-STAR, Complexe Clonal NG-STAR ont été déterminées *in silico*. Parmi ces 551 souches, 70 ST (MLST) différents ont été identifiés (base de données <https://pubmlst.org>) regroupant 96,0% (529/551) des souches – les autres possédaient une combinaison d'allèles ne correspondant à aucun ST dans la base de données (ST « new »).

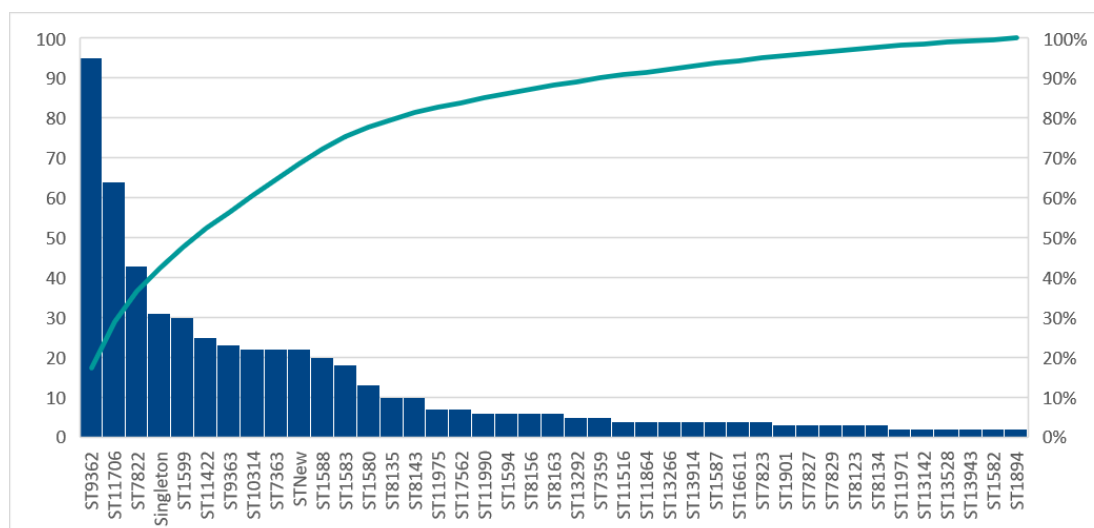


Figure. Histogramme de distribution des ST (MLST) identifiés parmi les souches de l'enquête ENGON 2022.

Les ST inconnus sont regroupés dans ST New. Les ST identifiés dans une seule souche sont regroupés dans Singleton. La courbe représente le dénombrement cumulatif des souches par ST classé de manière décroissante.

Six MLST regroupaient plus de la moitié des souches (50,8% - 280/551) : **ST9362** (17,2% ; n = 95), **ST11706** (11,6% ; n = 64), **ST7822** (7,8% ; n = 43), **ST1599** (5,4% ; n = 30), **ST11422** (4,5% ; n = 25), **ST9363** (4,2% ; n =

23) (voir Figure ci-dessous). Ces résultats confirment l'émergence des ST9362 et ST11706 comme clones les plus fréquents, comme c'était le cas dans l'enquête ENGON 2021 (28,8% en 2022 vs 23,3% en 2021 vs 9,7% entre 2017-2020). Ces clones sont associés à la résistance à la tétracycline et la ciprofloxacine (cf Figure ci-dessous). Les quatre séquences types (ST) principaux circulants entre 2018 et 2020 (ST1583, ST9363, ST7822 et ST1599) sont toujours présents en 2022 et représentent 20,7% des souches. Les ST pouvant être associés à la résistance aux C3G (ST1901, ST7363 et ST7827) ne représentent que 28 souches (5,1%).

Le séquençage et l'alignement des core-génomés des 551 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 2022 avait une grande diversité avec 10 clades identifiés, représentant 84% (463/551) des souches séquencées.

Le clade le plus important (F) comprenait 26,1% (144/551) des isolats correspondant majoritairement aux ST11706 (n=64) et ST7822 (n=43). Les souches étaient toutes résistantes à la tétracycline et ciprofloxacine. La résistance à la ciprofloxacine était liée à la présence de double mutation dans GyrA (S91F et D95A).

Le second clade (B) comprenait 19,1% (105/551) des isolats correspondant majoritairement au ST9362 (n=95). Les souches étaient toutes résistantes à la tétracycline et à la ciprofloxacine. 28 souches de ce clade étaient résistantes à l'azithromycine.

Le troisième clade (A) comprenait 16% (88/551) des isolats correspondant majoritairement au ST11422 (n=25) et ST9363 (n=23). Les souches étaient majoritairement résistantes à la tétracycline. 19 souches étaient résistantes à l'azithromycine dont 21,1% (4/19) des souches résistantes de haut niveau. La résistance à haut niveau à l'azithromycine était liée à la mutation n.C2611T dans l'opéron *rrl*, codant l'ARNr 23S.

L'observation de la Figure ci-dessous met en évidence la **présence de souches de sensibilité diminuée au céfixime associées à un gène *penA* mosaïque *penA34.007*. Ces souches sont sensibles à l'azithromycine, résistantes aux fluoroquinolones et hébergent le gène *tet(M)*. Ce clone sera à surveiller chez les isolats de l'enquête Engon 2023.**

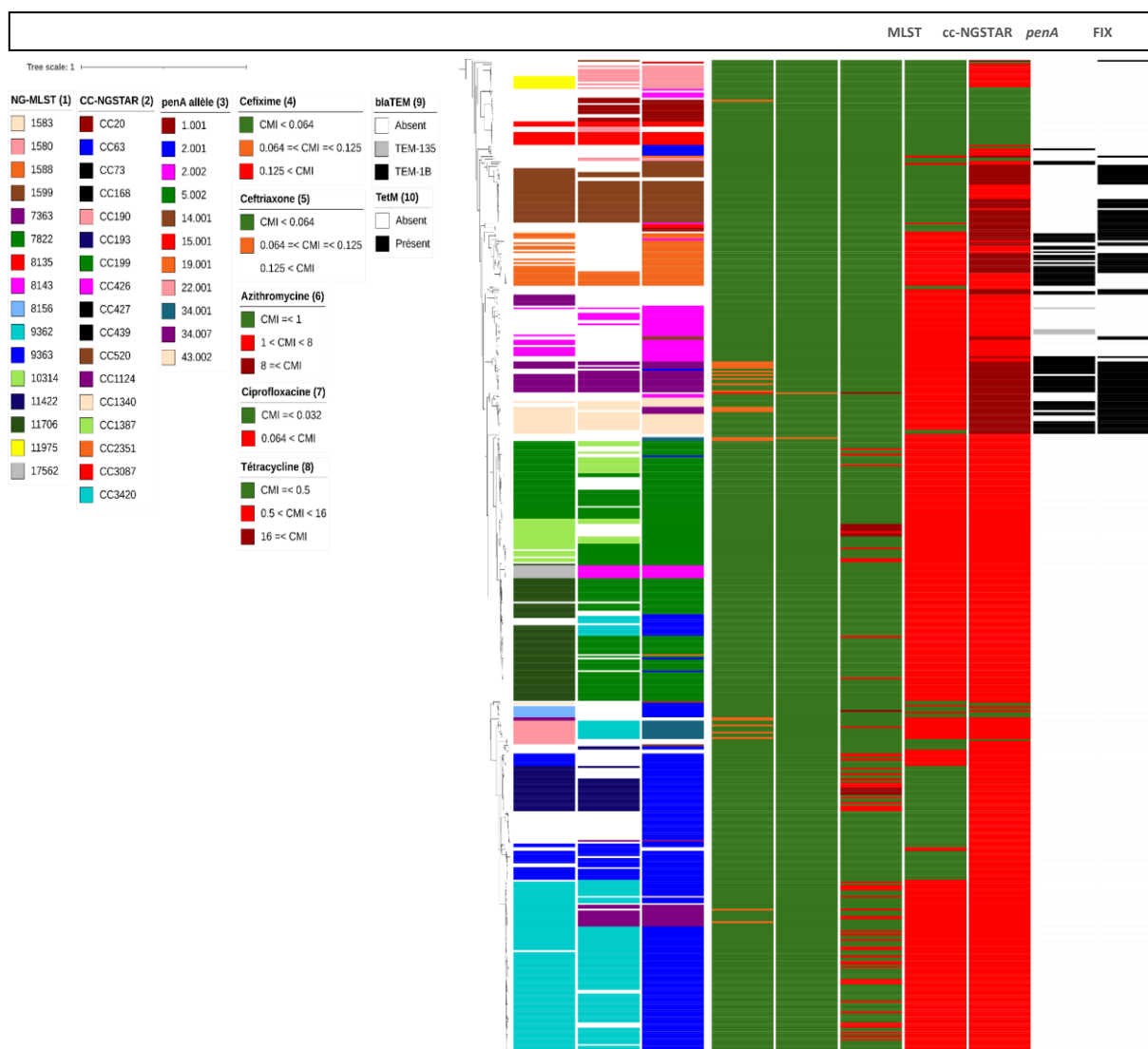


Figure. Arbre phylogénétique basé sur le core-génomme des 551 souches de gonocoques provenant des enquêtes ENGON 2022.

### 3.3.3.3 Surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* en France métropolitaine (enquête ENGON 2023) : résultats préliminaires (CMI uniquement)

Pour l'enquête ENGON 2023, le réseau étant maintenant très actif, le CNR a collecté 705 souches isolées du 1 septembre au 31 décembre 2023 associées à 705 recueils de données cliniques. Le traitement de ces 705 souches est en cours pour la détermination des CMI et le séquençage.

Les cas cliniques provenaient de 59 centres hospitaliers ou laboratoires privés dont la répartition géographique est localisée sur la carte. Les souches envoyées proviennent de l'ensemble du territoire avec une répartition homogène. L'Île-de-France y est fortement représentée (36,9% des souches). L'observation de la carte montre une couverture de plus en plus homogène sur le territoire national.

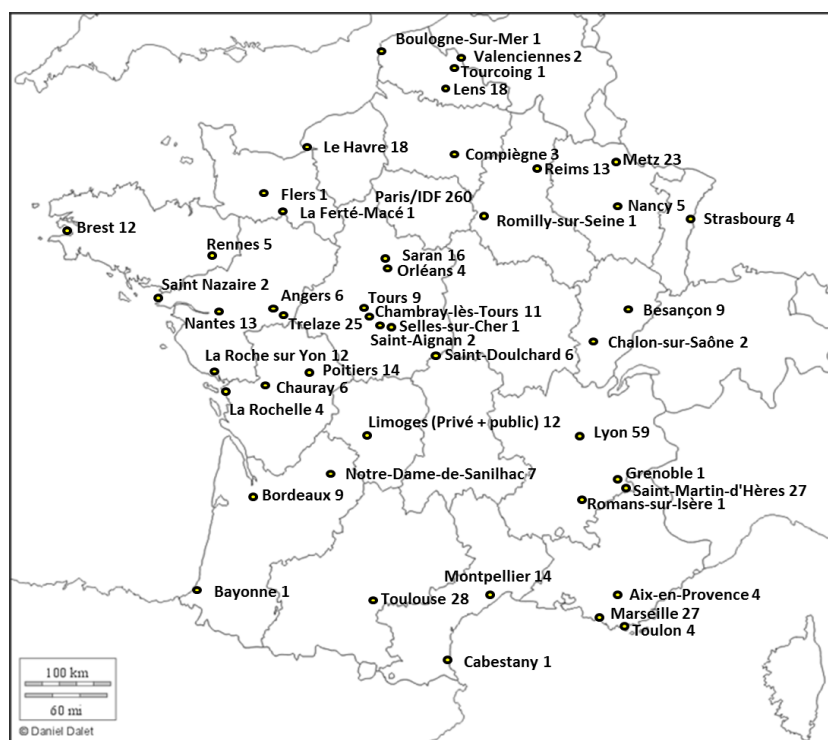


Figure. Répartition géographique des 705 souches envoyées par les participants de l'enquête ENGON 2023

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 335 souches investiguées de 2023 sont compilés dans le Tableau ci-dessous.;

Tableau. Sensibilité aux antibiotiques des 335 souches de gonocoques isolées en 2023

Antibiotiques	Sensible	Sensibilité Diminuée (*) / Intermédiaire (**)	Résistant	Résistant haut niveau
<b>Céfixime</b>	297/335 (88,7%)	37/335 (11%)* <sup>a</sup>	1/335 (0,3%) <sup>b</sup>	-
<b>Ceftriaxone</b>	334/335 (99,7%)	-	1/335 (0,3%) <sup>b</sup>	-
<b>Tétracycline</b>	33/335 (9,8%)	-	233/335 (69,6%)	69/335 (20,6%) <sup>c</sup>
<b>Ciprofloxacine</b>	95/335 (28,4%)	3/335 (0,9%)**	237/335 (70,7%)	-
<b>Gentamicine</b>	335/335 (100%) <sup>d</sup>	-	0	-
<b>Spectinomycine</b>	335/335 (100%)	-	0	-
<b>Azithromycine</b>	331/335 (92,9%)	-	19/335 (5,6%) <sup>e</sup>	5/335 (1,5%) <sup>f</sup>

<sup>a</sup> La sensibilité diminuée au céfixime et à la ceftriaxone est définie par une CMI comprise entre  $0,064 \leq \text{CMI} \leq 0,125 \mu\text{g/mL}$

<sup>b</sup> Durant l'année 2023, le CNR a reçu 3 autres souches résistantes au céfixime et à la ceftriaxone qui ne sont pas compris dans ce pourcentage car hors enquête et qui sont détaillées dans le chapitre 4.2

<sup>c</sup> La résistance de haut niveau à la tétracycline est définie par une CMI  $\geq 16 \mu\text{g/mL}$

<sup>d</sup> La sensibilité à la gentamicine est définie par une CMI  $\leq 16 \mu\text{g/mL}$  (correspondant à l'Ecoff)

<sup>e</sup> Une souche dont la CMI est  $\leq 1 \mu\text{g/mL}$  (la valeur de  $1 \mu\text{g/mL}$  correspond à l'Ecoff) est classée dans la population de souches sauvages

<sup>f</sup> La résistance de haut niveau à l'azithromycine est définie par une CMI  $> 4 \mu\text{g/mL}$  ; 3 souches avaient une CMI  $\geq 256 \mu\text{g/mL}$

Parmi les 335 souches analysées, la production de bêta-lactamase a été observée chez 20,3% des souches (68/335).



### 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*.

Sur l'ensemble des échantillons positifs pour *T. pallidum* issus de l'expertise et du réseau GenoSyph, nous avons analysé 77 échantillons en 2023. Nous avons obtenu une très bonne sensibilité de détection du gène de l'ARNr 23S à 82% et nous montrons que 45 échantillons (71%) possèdent la mutation **A2058G** (cf. Figure ci-dessous).

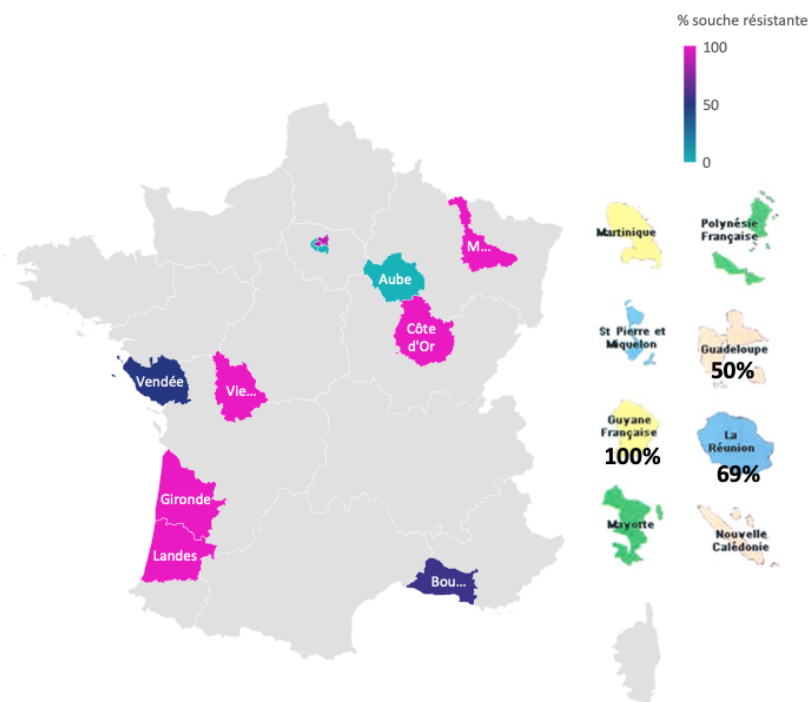


Figure. Prévalence de la résistance à l'azithromycine de *T. pallidum* par centres participants pour 2023.

Le pourcentage de résistance suit le code couleur à l'exception des DROM-COM 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, B. Berçot et N. Dupin ont participé au recueil de données et aux travaux de SpF (Emilie Chazelle) 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. Après l'étude sur les infections à *C. trachomatis* en médecine de ville à partir des données de remboursement des soins, d'autres algorithmes ont été construits et appliqués au SNDS pour identifier les cas de syphilis et les infections à gonocoque. Les analyses sont en cours.

#### 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) : surveillent les **trois IST bactériennes confirmées biologiquement** (chlamydie, gonococcie et syphilis) depuis janvier 2020 pour des patients vus en consultation de médecine générale en France métropolitaine. Le CNR fait partie de ce groupe de travail sur les IST.

En 2022, le taux d'incidence des cas d'infections à Ct était de 102 cas pour 100 000 habitants, soit +16% par rapport à 2020, celui des gonococcies de 44/100 000, soit +91% par rapport à 2020, et celui de la syphilis de 21/100 000, soit +110% par rapport à 2020. La part des dépistages par rapport aux diagnostics de cas symptomatiques a augmenté entre 2020 et 2022 (32,0% vs 50,0% pour la syphilis, 18,4% vs 35,3% pour la gonococcie et 47,0% vs 57,2% pour les infections à Ct).

Ces travaux ont été publiés dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, **BEH 24-25, 12 décembre 2023**. Un manuscrit est en préparation pour soumission à Euro Surveillance.

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

Voir les activités déjà citées paragraphe 5.2 "Conseil et expertise aux autorités sanitaires"

#### Création d'une Action Coordonnée sur les IST no.53 au sein de l'ANRS-MIE

Fin 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 a rendu ses conclusions en 2023 à l'ANRS-MIE.

En fin d'année 2023, une nouvelle **Action Coordonnée sur les IST no.53** a été créée englobant les pathogènes suivants : *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. pallidum*, *M. genitalium*, papillomavirus, herpes simplex virus. Elle est présidée par Cécile Bébéar et Jade Ghosn et est constituée d'un bureau de 12 membres et d'un conseil scientifique de 45 membres (infectiologues, médecins généralistes, microbiologistes, sociologues, épidémiologistes, chercheurs intéressés par les IST) dont font partie les collègues du CNR IST, du CNR HPV, du CNR Herpes virus et de SpF. Une première réunion plénière s'est tenue le 15 mars 2024.

#### d) ECDC-TESSy

**Sur le plan européen**, le CNR IST bactériennes et Santé publique France collaborent avec Benjamin Bluemel dans le cadre de la surveillance des IST bactériennes par l'**ECDC**, Stockholm, Sweden. Le **programme européen de surveillance antimicrobienne gonococcique (Euro-GASP, 27 pays participants)** 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 et E. Chazelle ont participé en présentiel au groupe de travail du réseau des IST de l'ECDC mené par O. Mardh et L. Nerlander à Stockholm en juin 2023. Le CNR envoie ses

données anonymisées sur la sensibilité du gonocoque à SpF à F. Lot et E. Chazelle qui les transmettent à l'ECDC. En 2023, les données épidémiologiques et les CMI de 220 souches ont été transmises à l'ECDC via TESSy.

Le CNR envoie ses données anonymisées sur le **diagnostic de la LGV** (enquête Anachla 2023) à SpF qui le transmet à l'ECDC.

### 3.4.2 Laboratoire CHU de Bordeaux

C. Bébéar a été élue membre du board de l'**International Society for Sexually Transmitted Diseases Research (ISSTD)**, 2023-2028, organisant le STI and HIV world congress tous les 2 ans.

### 3.4.3 Laboratoire APHP Saint-Louis

- 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 depuis 2017 à ce jour.

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

- Magnus Unemo & David Golparian, 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.

### 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 membre du comité scientifique de **IUSTI -Europe**

- N. Dupin est vice-président du **GRIDIST** (fusion section MST-SIDA de la Société Française de Dermatologie avec des dermatologues-infectiologues). La mise en place de webinars à destination des membres de la SFD sont organisés pour aborder des thématiques en rapport avec le GRIDIST : dermatoses infectieuses et IST.

## 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

### 3.5.1 Etude nationale de prévalence des infections sexuellement transmissibles (PréVIST) INSERM - Santé publique France - CNR IST-CNR HPV (annexe 3)

### 3.5.2 Syphilis et grossesse

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 est toujours en cours. 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 depuis 2012,
- 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.

## 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 2023 concernant *C. trachomatis* ou les mycoplasmes urogénitaux.

### 4.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

#### Alerte DGS et publications

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

1. Description de **deux cas d'infections à gonocoque multirésistants aux antibiotiques en région Auvergne-Rhône-Alpes**. Une alerte a été effectuée avec SpF sur le réseau de surveillance de l'ECDC Epipulse et publiée dans la revue **Euro Surveillance** en septembre 2023.

2. Détection de **quatre cas d'infection à gonocoque ultrarésistants aux antibiotiques (XDR) en France en 2022 et 2023**, dont deux cas récents en région Auvergne-Rhône-Alpes. Une alerte a été effectuée à la DGS et une enquête a été mise en place avec SpF de la région (cette alerte est décrite en annexe de ce rapport).

Dans ce contexte de circulation récentes de souches de gonocoque XDR, **des recommandations rappellent** :

- (i) L'utilisation des tests de guérison,
- (ii) La pratique de culture et la réalisation d'antibiogramme,
- (iii) Des actions préventives pour promouvoir l'utilisation de préservatifs
- (iv) Le dépistage en cas de rapports sexuels sans préservatif ou de symptômes reste nécessaire.

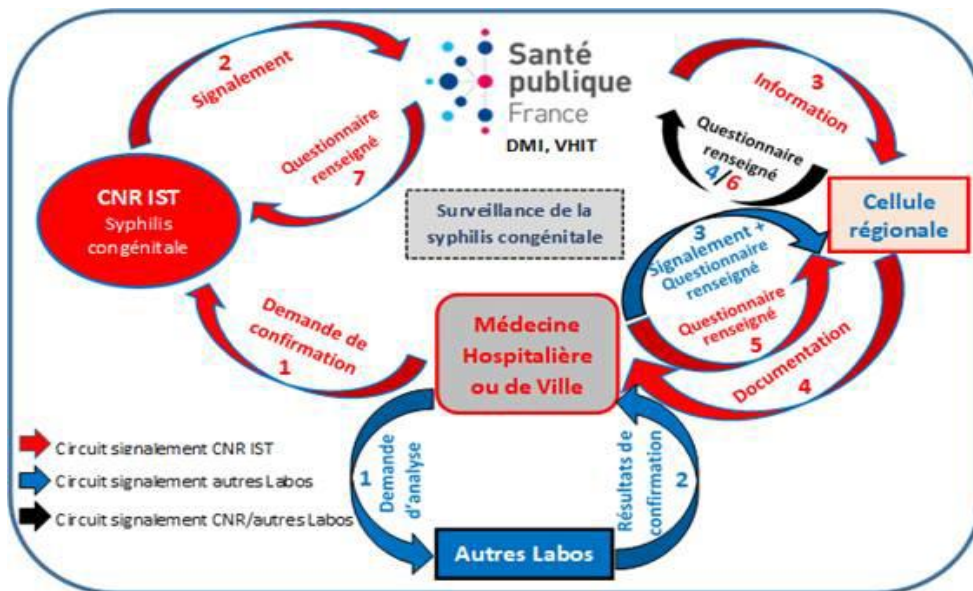
De plus, les personnes qui se rendent en Asie devraient recevoir des informations spécifiques sur la prévention de la part des spécialistes de la médecine des voyages, des cliniques spécialisées dans les IST ou des médecins généralistes.

### 4.3 Laboratoire APHP Cochin

#### La procédure.

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

En ce qui concerne les alertes de syphilis congénitale à partir des échantillons périnataux analysés positifs en qPCR, le dossier est transmis de manière sécurisée par BlueFiles (voir Figure ci-dessous).



### Pour l'année 2023

#### - Alertes de suspicion de syphilis congénitale

Dix 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
032340	Nice	25	F	placenta	04/03/23	pos	09/03/23
042344	Le Kremlin Bicêtre	25	F	liquide amiotique	12/04/23	pos	20/04/23
042379	LA REUNION	37	M	écouvillons interfessier, verge, menton, cutanéomuqueux	11/04/23	pos/pos/pos/pos	27/04/23
062322	Saint Laurent du Maroni	1 j	F	Liquide amiotique	27/05/23	pos	08/06/23
062332	Poitiers	1 j	M	écouvillons buccal et nasal, biopsies hépatique, rate,	23/04/23	pos/pos/pos/pos/pos	15/06/23
062348, 062349	Dijon	10 j	F	LCR, Ecouvillon nasopharyngé	07/06/23	pos/pos	15/06/23
062372	REUNION	1 j	F	liquide d'ascite	12/06/23	pos	22/06/23
072343	Pointe-a-pitre	12 j	M	écouvillons nasal et buccal	11/07/23	pos/neg	20/07/23
072379	Cayenne	18	F	placenta	15/07/23	pos	27/07/23
082332	Vandoeuvre les nancy	22	F	placenta	10/08/23	pos	17/08/23

#### - Alertes de suspicion de neurosyphilis

Trente-sept alertes de suspicion de neurosyphilis ont été déclenchées par le CNR.

# 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 Webinaires du CNR IST

Deux webinaires ont été organisés après introduction par C. Bébéar :

- **22 juin 2024** 17-18h : présentation par S. Pereyre des mécanismes et de l'épidémiologie de l'antibiorésistance de *M. genitalium* et présentation par O. Peuchant de l'épidémiologie de la LGV en France.
- **28 septembre** 17-18h : présentation par B. Berçot des mécanismes et de l'épidémiologie de l'antibiorésistance de *N. gonorrhoeae* et présentation par N. Dupin, Syphilis : du diagnostic au traitement.

Chaque topo était suivi par une séance de questions/réponses. Chaque webinaire a duré un peu plus que l'heure prévue, compte tenu du flux de questions.

Les invitations ont été conjointement envoyées par les trois laboratoires afin de sensibiliser un maximum de correspondants. Lors de chaque session, **environ 200 participants** se sont connectés. Les auditeurs étaient pour moitié biologistes ou cliniciens, le secteur hospitalier et les CeGIDD étaient bien représentés. Lors des interventions, un questionnaire de satisfaction a été proposé dans la messagerie afin de recueillir les impressions et les besoins de l'assistance. Les notes de satisfaction s'échelonnaient de 0 (pas du tout satisfait) à 5 (très satisfait). L'ensemble de l'audience ayant répondu a attribué des notes de 4 et 5. Les commentaires nous ont permis de dégager des pistes d'amélioration : accorder plus de temps à la partie questions/réponses, présenter des cas cliniques, proposer un horaire plus compatible avec la pratique des médecins libéraux.

En plus des réponses obtenues via le formulaire google form, de nombreux mails ont été reçus par l'équipe pour saluer l'initiative, nous féliciter pour la qualité du contenu et demander un accès à un replay. Les vidéos des topos ont donc été **mises en ligne sur le site du CNR**.

Pour 2024, nous prévoyons d'organiser deux webinaires, dont au moins un avec présentation de cas cliniques.

### 5.1.2 Laboratoire CHU de Bordeaux

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

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

- 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. 2023. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In Manual of Clinical Microbiology, 13rd edition, ASM Press, Washington DC.
- C. Bébéar, J. S. Dumler. 2023. Algorithms for identification of *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and obligate intracellular bacteria. In Manual of Clinical Microbiology, 13rd edition, ASM Press, Washington DC.
- M. Colle, O. Peuchant. 2023. Chapter 14 : Lymphogranuloma venereum (LGV). In Laboratory and point-of-care diagnostic testing for sexually transmitted infections, including HIV. Geneva: World Health Organization.
- M. F. Balish, R. Chopra-Dewasthaly, S. Pereyre, A. S. Ramirez, T. Viver, J. Spersger. *Mycoplasma*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. In press.

Pour les conférences, cf. chapitre conférences invitées

- 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 2023** est envoyé 1<sup>er</sup> semestre 2024 aux partenaires participants.

Un poster résumant la **prévalence de la résistance de *M. genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones en France métropolitaine et en Outre-mer en 2022** 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 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 replays des webinaires organisés par le CNR sont également disponibles sur le site.

Les trois graphiques ci-dessous résument l'activité du site en 2023 grâce à l'application google analytics (données pour les 3 laboratoires du CNR). Les données présentées sont sous-évaluées par rapport à l'activité réelle du site car si le visiteur n'accepte pas l'utilisation des cookies, son activité ne sera pas comptabilisée.



Figure. Historique des fréquences de connexion

Tableau. Fréquence des vues par page

1	Accueil - CNR des IST bactériennes	3 339
2	Présentation - CNR des IST bactériennes	2 499
3	Envoyer une souche ou un échantillon - CNR des IST bactériennes	2 021
4	Documents de référence - CNR des IST bactériennes	1 601
5	Actualités - CNR des IST bactériennes	1 018
6	Expertise - CNR des IST bactériennes	756
7	Bilans d'activités - CNR des IST bactériennes	688
8	Publications de l'équipe - CNR des IST bactériennes	618
9	Nos missions - CNR des IST bactériennes	425



**Figure. Origine géographique des connexions**

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

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

### 5.1.3 Laboratoire APHP Saint-Louis

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

B. Berçot. Gonococcies-DU MST, Hôpital de la Croix Saint-Simon, Paris 2023.

Pour les conférences, cf. chapitre conférences invitées

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

- *Rétro-information aux partenaires ;*

La rétro information 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 ENGON 2023, nous avons proposé de réaliser un contrôle de qualité (CQ) des CMI sur la base du panel des 8 antibiotiques utilisé par le CNR à l'ensemble de nos participants et sommes en cours d'élaboration d'une rétro-information personnalisée aux 37 centres qui ont accepté de réaliser ce CQ.

- *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. Au cours de l'année 2023, 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 [www.cnr-ist.fr](http://www.cnr-ist.fr))

- *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.

#### 5.1.4 Laboratoire APHP Cochin

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

Nadjat Benhaddou :

- Staffs de service infectieux et obstétriques des hôpitaux de l'APHP sur la syphilis et la syphilis congénitale
- DU pathologies infectieuses de la femme enceinte, du fœtus et du nouveau-né Syphilis : Aspects cliniques et biologiques (Université Paris-Saclay, Faculté de médecine)

Nicolas Dupin :

- 2023 : 25th World Congress of Dermatology, Singapore 8-10 July 2023, speaker for the STI symposium on Insight on neurosyphilis diagnostic and therapeutic challenges
- 2023 : 36th IUSTI Europe Congress, Malta 26-28 October 2023, lecture : Syphilis and neurosyphilis update

ND assure le cours sur la Neurosyphilis dans le cadre du DIU de neuro-infectiologie coordonné par Dr de Broucker et Pr Martin-Blondel. ND a coordonné le séminaire des IST organisé par le collège des enseignants de dermatologie en France (CEDEF) le 3 Novembre 2023

- *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 2023, 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.

Est résumée, ci-dessous, l'activité de conseil du CNR IST 2022-2023 :

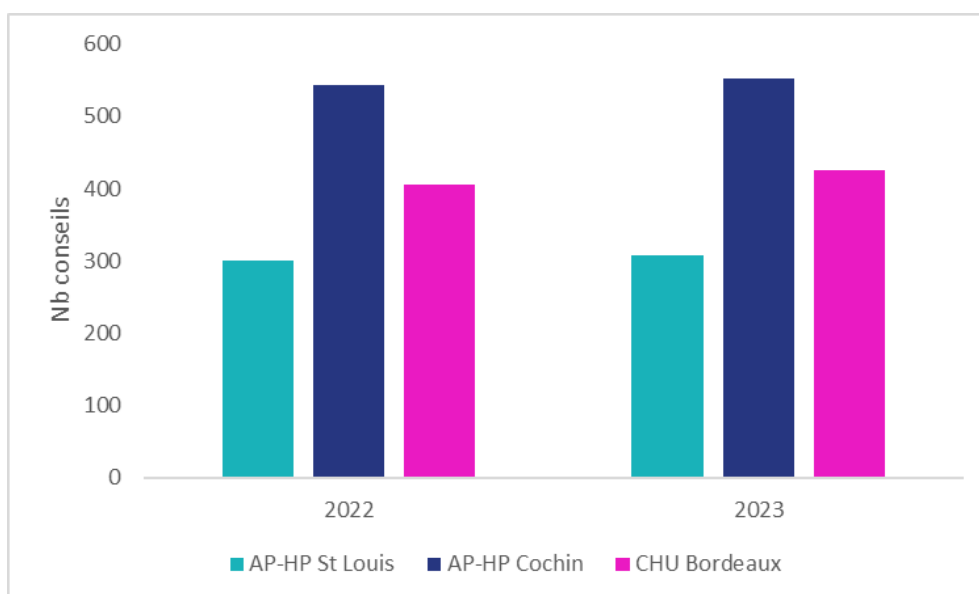


Figure. Évolution de l'activité conseil des 3 laboratoires.

## 5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

### 5.2.1 OMS

En 2023, O. Peuchant a rédigé le chapitre sur Lymphogranuloma venereum (LGV) dans le document « Laboratory and point-of-care diagnostic testing for sexually transmitted infections, including HIV ».

### 5.2.2 HAS-CNS-ANRS

En 2022-23, 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 », coordonné par S. Fouéré, dermatologue à Saint-Louis et responsable du groupe GRIDIST de la Société Française de Dermatologie. **C. Cazanave** a piloté le GT sur les IST bactériennes. **C. Bébéar** a piloté le chapitre « diagnostic biologique des IST » sous l'égide de la DGS pour lequel ont participé les collègues du CNR suivants : S. Pereyre, O. Peuchant, B. Berçot et N. Dupin.

C. Bébéar, B. Berçot et N. Dupin ont participé à la **relecture des recommandations de prise en charge et traitement des infections à C. trachomatis, M. genitalium, N. gonorrhoeae et de la syphilis** qui vont être publiées en 2024 après passage au groupe de relecture.

### 5.2.3 Évaluation des dons de sang avec sérologie syphilis positive

Devant l'augmentation du nombre des dons de sang positif pour les anticorps syphilis, le LA Syphilis a été sollicité par l'Établissement Français du Sang pour **expertiser la sérologie syphilis sur les dons de sang** qui ont été analysés positifs chez eux. Cette demande correspondait à 3 questions : 1) valider la positivité des sérums, 2) déterminer l'impact de la nouvelle méthode de détection des anticorps déployée par l'EFS, 3) déterminer un indicateur permettant de distinguer les syphilis récentes des cicatrices syphilitiques.

En effet, jusqu'en 2021 le test de dépistage utilisé était un test TPHA avec une sensibilité de 55 mU/ml. À partir de 2022, il y a eu un déploiement progressif d'une détection par électrochemiluminescence avec une sensibilité de 6,25 mU/ml.

Dans ce cadre, le CNR a analysé 462 sérums représentant 100% des dons thérapeutiques positifs de 2022. Les sérums ont été analysés par un TT (Architect, Abbott), un TNT (Launch RPR Card ASI, Arlington Scientific Inc) et confirmé si besoin par un ImmunoBlot (Virotek, Ingen). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau ci-dessous.

Cette étude est en cours de finalisation.

Tableau. Sérologie syphilis sur dons de sang thérapeutiques positifs.

Diagnostic sérologique	Résultats CNR		
	Nb sérum testé	Nb total	(%)
Syphilis active	84	462	18
Cicatrice ou Syphilis précoce	229	462	50
Syphilis précoce ou cicatrice ou Tréponématose endémique	115	462	25
Négatif	33	462	7

## 5.2.4 EURO-GASP (ECDC)

La prophylaxie-post exposition des IST à la doxycycline (doxy-PEP) a été récemment publiée comme pouvant réduire à 82% des cas incidents de chlamydia et de syphilis chez les HSH ayant des IST bactériennes fréquentes (Molina et al, CROI 2024). La doxy-PEP est déjà utilisée dans la communauté des HSH. Dans ce contexte, en septembre 2023, le **réseau de surveillance EuroGasp de l'ECDC** a sollicité le CNR des IST bactériennes afin de fournir les **CMI de la tétracycline des souches de gonocoque** isolées en 2022 dans le cadre des enquêtes européennes.

Au total, 4 787 gonocoques provenant de 19 pays isolés en 2022 ont été testés. En France, 220 souches ont été testées, la CMI<sub>90</sub> était de 32 mg/L avec 92,3% de résistance dont plus de 20% de haut niveau à la tétracycline. Sur les 19 pays qui ont répondu à cette enquête, 84,2% (16/19) ont montré une résistance à la tétracycline supérieure 30%, 57,9 % (11/19) supérieure à 50% et 36,8 % (7/19) supérieure à 70 %.

Cette enquête a permis d'observer une résistance élevée des gonocoques à la tétracycline en Europe **de 63,4% [14,3% -93 ,7%]** ce qui pourrait remettre en question l'impact de la doxycycline-PEP contre la gonorrhée en Europe. Les résultats ont été publiés récemment dans le **Lancet Reg Health Eur** en 2024.

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

### 5.3.1 Laboratoire CHU de Bordeaux

C. Bébéar

- Interview Le Monde 9 mars 2024, sujet : augmentation des IST en Europe en 2022.
- Interview 20 minutes, 13 septembre 2023, sujet : IST à *Mycoplasma genitalium*.

### 5.3.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

Participation à l'élaboration du communiqué de presse par le HCSP sur le « Dépistage biologique de la syphilis guérie chez les donneurs de sang » Ref 23-006382 du 5 octobre 2023. Membres participants (Figure ci-dessous).

## Dépistage biologique de la syphilis guérie chez les donneurs de sang

▼ Membres ▼ Déclarations publiques d'intérêt ▼ Publications

### Membres

#### Membres

Nadjet Benhaddou, CNR des IST bactériennes  
Dominique Challine, Hôpital Henri Mondor, Créteil  
Christian Chidiac, infectiologue, hôpital de la Croix-Rouisse, Lyon  
Vanina Corominas, CTSA  
Nicolas Dupin, CNR des IST bactériennes  
Murkel Fromage, ANSM  
Pierre Gallian, EFS  
Edmond-Luc Henry, AFH  
Sabine Henry, Cs-MIME (invitée)  
Bruno Hoen, Cs-MIME, Copilote  
Alexandra Kerleguer, CTSA  
Sylia Laperche, EFS  
Jean-Jacques Lataillade, CTSA  
Bruno Pozzetto, Cs-MIME, pilote  
Claire Sauvage, SpF  
Renaud Verdon, Cs-MIME  
Alléonor Xhaard, hôpital Saint-Louis, Paris

### Déclarations publiques d'intérêt

Déclarations publiques d'intérêt de Dépistage biologique de la syphilis guérie chez les donneurs de sang [PDF](#) (656 ko)

### Publications

Dépistage biologique de la syphilis guérie chez les donneurs de sang  
*Biochemical test in case of cured syphilis in candidates for blood donation*

Outlook



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

---

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

### 6.1.1 Projets de recherche communs

#### 6.1.1.1 Étude ANRS DOXYVAC, résultats finaux

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 Berçot), l'Inserm et l'Institut Pasteur sous la coordination du Pr 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)**. Les 3 laboratoires du CR ont participé à cette étude ANRS sous la coordination de B. Berçot.

L'étude est terminée depuis septembre 2023 et les résultats de l'étude randomisée ont été présentés à la CROI en mars 2024 et soumis pour publication dans le Lancet Infect Dis.

**Contexte** : Des HSH sous PrEP ayant des antécédents d'IST ont été randomisés dans le cadre d'un essai factoriel ouvert ANRS Doxyvac pour recevoir la doxycycline en prophylaxie post-exposition (PEP) (200 mg dans les 72 heures suivant un rapport sexuel sans préservatif) ou pas de PEP (2:1) et 2 injections du vaccin 4CMenB ou pas de vaccin (1:1). Les participants ont été dépistés par TAAN au début de l'étude pour les IST bactériennes puis tous les trois mois et lorsqu'ils étaient symptomatiques pour *N. gonorrhoeae* (GC), *C. trachomatis* (CT) et *M. genitalium* par PCR dans la gorge, l'anus et l'urine, ainsi que par des tests sérologiques pour la syphilis.

Les critères d'évaluation étaient l'incidence du premier épisode de CT ou de syphilis à partir de la baseline pour la doxy-PEP et l'incidence d'un premier épisode de GC à partir de 3 mois pour l'intervention vaccinale, à l'aide d'une analyse en intention de traiter.

**Résultats** : Entre le 19 janvier 2021 et le 19 septembre 2022, 556 HSH ont été randomisés et 545 ont été analysés. L'âge médian des patients est de 40 ans (IQR 34-48), la médiane est de 10 partenaires sexuels au cours des 3 derniers mois et le suivi médian est de 14 mois.

L'incidence d'un premier épisode de CT ou de syphilis était de 8,8 et de 53,2 pour 100 patients/an dans les groupes Doxy PEP vs PEP, respectivement (aHR : 0,17 ; 95%CI : 0,12-0,26),  $p < 0,0001$ ).

L'incidence d'un premier épisode de GC était de 45,5 et 68,4 pour 100 patients/an dans les groupes Doxy PEP et sans PEP, respectivement (aHR : 0,67 ; 95%CI : 0,52-0,87),  $p = 0,003$ ).

L'incidence d'un premier épisode de GC était de 58,3 et de 77,1 pour 100 patients/an dans les groupes vaccin 4CMenB et sans vaccin, respectivement (aHR : 0,78 ; 95%CI : 0,60-1,01) et l'incidence des épisodes cumulés était de 52,6 et 62,4 pour 100 années-personnes, respectivement (aIRR : 0,84 (0,67-1,07),  $p = 0,061$ ).

**Conclusion** : Parmi les HSH sous PrEP, la doxy-PEP a réduit de manière significative l'incidence de CT et de la syphilis et, dans une moindre mesure, de la gonorrhée. Le vaccin 4CMenB n'a pas eu d'impact significatif sur l'incidence de GC.

### 6.1.1.2 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.

Un article est en cours de révision dans Clin Infect Dis dans sur les résultats obtenus à baseline : « High prevalence of HPV, bacterial STI, and anal lesions among MSM in Togo, 2021: a baseline analysis of the ANRS I MIE 12400/DepIST-H cohort », Ferré et al.

## 6.1.2 Laboratoire CHU de Bordeaux

### EPIDEMIOLOGIE

#### 6.1.2.1 Etude prospective, monocentrique, interventionnelle, sur la clairance vaginale spontanée de *M. genitalium* (MYCOCLEAR)

**Contexte** : L'histoire naturelle de l'infection à *M. genitalium* (MG) n'est pas bien documentée chez la femme et aucune étude de clairance n'a été menée en France. L'objectif de cette étude est d'étudier la clairance vaginale spontanée de l'infection à MG chez des patientes consultant au Centre d'Orthogénie du Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux.

**Méthodes** : Il s'agit d'une étude prospective, monocentrique, interventionnelle, menée entre avril 2021 et décembre 2022. Pour chaque patiente consultant pour une IVG, une détection de MG a été réalisée par une technique d'amplification des acides nucléiques (TAAN) sur l'auto-prélèvement vaginal réalisé avant l'IVG (J0). Seules les patientes MG positives à J0 ont été incluses dans l'étude et un nouvel auto-prélèvement vaginal a été réalisé 3 semaines plus tard (S3) pour la recherche de MG. Les données démographiques, cliniques, biologiques et comportementales ont été collectées à chaque visite. Pour chaque échantillon positif à MG, la détermination de la charge bactérienne, la recherche de résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones et le typage du gène *mgpB* ont été effectués

**Résultats** : La recherche de MG a été effectuée pour 1 496 patientes. Parmi elles, 94 était positives à MG dont 70 respectaient les critères d'inclusion et ont été incluses dans l'étude. Seules 45 participantes ont effectué le suivi à S3, et 18 étaient négatives à MG, soit une clairance naturelle de 40% (18/45). Concernant la charge bactérienne, la médiane était de 76 copies/ $\mu$ L [10-373] à l'inclusion et de 39 copies/ $\mu$ L [10-1275] à S3 ( $p=0,6$ , test de Wilcoxon). À l'inclusion, la prévalence de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones était respectivement de 28,6% (12/42) et 6% (3/50). Le typage du gène *mgpB*, réalisé avec succès sur les prélèvements vaginaux MG positifs à l'inclusion et à S3 dans 11 cas, a confirmé, dans chaque cas, la persistance de la même souche à S3. Aucun facteur démographique, clinique, ou comportemental n'a été retrouvé associé à la clairance spontanée de MG en analyse univariée.

**Conclusion** : Le taux de clairance élevé et la forte prévalence de résistance aux macrolides confirment le bien-fondé de l'absence de dépistage systématique de MG chez les patientes asymptomatiques.

Cette étude fait l'objet du travail de thèse d'exercice de Marie Berdoyes, interne en gynécologie, sous la direction d'Olivia Peuchant et a été présenté en **communication orale à la RICAI 2023**. Un manuscrit est en préparation.

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

*M. penetrans* est un mycoplasme génital qui a récemment été associé aux urétrites non gonococciques chez les HSH. Nous avons souhaité évaluer la **prévalence de *M. penetrans* au regard du statut VIH et du comportement sexuel**.

Entre le 1er février et le 31 mai 2021, la prévalence de *M. penetrans* a été évaluée par PCR en temps réel à 2,1% parmi 429 hommes dépistés pour *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* au CHU de Bordeaux. La prévalence était de **3,5% chez les HSH et de 5,3% chez les patients vivant avec le VIH, ce qui était significativement plus élevé que chez les patients séronégatifs (0,4%, p=0,0016)**. Aucune association n'a été trouvée entre la présence de *M. penetrans* et les symptômes urogénitaux.

Cette étude a été présentée sous forme de poster au congrès de **l'ECCMID en avril 2023** à Copenhague, Danemark et au congrès de **l'International Organization for Mycoplasmology en juillet 2023** à Osaka, Japon. Elle a été **publiée dans Open Forum Infectious Diseases en 2023**.

#### 6.1.2.3 Prévalence de *Mycoplasma penetrans* dans les échantillons anaux (étude MYPEGA)

Pour **évaluer la prévalence de *M. penetrans* dans les échantillons anorectaux 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 *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* au CHU de Bordeaux**.

Entre le 1er juillet et le 31 octobre 2022, 400 écouvillonnages anorectaux 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. Les analyses de l'ensemble des résultats sont en cours.

En parallèle, nous évaluerons **la prévalence de *M. penetrans* dans les échantillons anorectaux en relation avec le statut VIH et le comportement sexuel** pour 400 échantillons anorectaux collectés dans le cadre de l'enquête Anachla 2023.

Ce travail fait l'objet du sujet de thèse exercice d'A. Topkassi encadré par Olivia Peuchant.

#### 6.1.2.4 Étude de la viabilité par PCR des principales IST bactériennes chez les HSH (VISTH)- annexe 3

### **MECANISMES D'ÉCHANGE DE GENES ET D'ANTIBIORESISTANCE**

#### 6.1.2.5 ICEs et conjugaison chez *M. hominis*-annexe 3

#### 6.1.2.6 Sélection in vitro de mutants résistants à la pristinamycine chez *M. genitalium*-annexe 3

### 6.1.3 Laboratoire APHP Saint-Louis

#### 6.1.3.1 Étude de la virulence et de l'invasion du gonocoque dans un modèle d'épithélium cellulaire – annexe 3

Une collaboration est en cours de développement avec l'équipe de **Mathieu Coureuil, Pathogénie des infections systémiques, Inserm U1151, CNRS UMR8253, Université Paris-Cité** pour explorer la pathogénicité du gonocoque. Cette équipe a acquis une solide expérience dans la pathogénicité du méningocoque ainsi que des modèles d'épithélium cellulaire qui lui permet de transposer ce qui est connu du méningocoque vers le gonocoque. Ce projet a été financé à l'**APP ANRS 2022** sur un contrat d'initiation obtenu par M. Coureuil (6.1.3.3) et est expliqué dans l'onglet projet.

### 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.

Ce travail a fait l'objet d'une publication, Salle *et al.*, **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2023 Feb;37(2):390-394.

#### 6.1.4.2 Évaluation de la place de la PCR *T. pallidum* sur des ulcérations sérologiquement négatives

**L'objectif** de cette étude était d'évaluer la pertinence du test PCR chez les patients atteints de syphilis primaire par rapport à leur statut sérologique.

**Matériels**. Tous les écouvillons cliniques ont été prélevés sur des patients suspectés d'être atteints d'une syphilis précoce entre septembre 2010 et août 2021 dans huit centres d'IST en France. Les données cliniques ont été



documentées (âge, sexe, orientation sexuelle, séropositivité, signes cliniques, statut sérologie) dans le cadre de l'étude GENOSYPH. Les exsudats des écouvillons cliniques ont été testés par PCR quantitative en temps réel (qPCR). Le diagnostic de syphilis primaire reposait sur la présence d'ulcérations évocatrices (sans lésions cutanées compatibles avec la syphilis secondaire) associées à une qPCR positive. La spécificité à 100% de ce test PCR nous a permis d'exclure les résultats faussement positifs.

**Résultats.** Au total, 174 patients avaient un échantillon positif à la qPCR avec un diagnostic de syphilis primaire. L'âge médian était de 37 ans (IQR : 28-44,3), 97,7% étaient des hommes (170) et 85,6% des patients (149) s'identifiaient comme des hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes. Les patients séropositifs représentaient 17,8% (31). Sur les 174 échantillons, 77% (134) étaient des échantillons génitaux, 14,4% (25) et 8,6% (15) étaient des échantillons anaux et buccaux, respectivement. Les ulcérations étaient multiples dans 38 cas (21,8%). Sur les 174 patients, 37% (65) ont présenté les deux tests sérologiques positifs [TT+TNT+], 24% (41) des patients n'étaient positifs qu'au 3% (5) des patients n'étaient positifs qu'au TNT [TT-TNT+] et pour 36% (63) des patients, les deux tests étaient négatifs [TT-TNT-]. Les patients ayant un TNT négatif présentaient significativement plus de localisations génitales de leurs ulcères ( $p = 0,041$ ) tandis que les patients avec un TNT positif présentaient significativement plus fréquemment des adénopathies satellites ( $p = 0,038$ ) sans différence significative dans les autres données cliniques étudiées. Dans notre étude, l'analyse PCR sur les lésions avait conduit au diagnostic de syphilis primaire lorsque la sérologie était déficiente chez 64% des patients, démontrant son utilité dans la syphilis primaire. En effet, il existe une fenêtre sérologique car le TT et le TNT deviennent majoritairement positifs, respectivement environ 5 à 15 jours et 10 à 15 jours après l'apparition du chancre. De plus, un résultat positif dans un TT ou un TNT peut indiquer des antécédents de syphilis plutôt qu'une syphilis active, car près de 85% des patients restent positifs à vie pour le TT et les patients serofast présentent perpétuellement de faibles titres de TNT, même avec un traitement efficace. Ainsi, chez les patients exposés au risque de réinfections multiples, la sérologie perd de son intérêt, contrairement à la positivité de la PCR. Par conséquent, l'interprétation de la sérologie de la syphilis peut être problématique et souvent obliger le patient à revenir pour un nouveau test.

**En conclusion,** la PCR semble avoir une place essentielle dans la prise en charge de la syphilis primaire pour éviter les diagnostics manqués, en particulier dans les populations qui contractent la syphilis à plusieurs reprises ou dont le suivi n'est pas facile.

Ce travail a fait l'objet d'une publication, Hembert *et al.*, **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2023 Dec 22.

## 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. P. Elegoet, O. Peuchant. Evolution des pratiques professionnelles des sages-femmes libérales sur le dépistage de l'infection à *Chlamydia trachomatis*. Revue des Sages-Femmes, sous presse.
2. D. Niaré, T. Launay, L. Rossignol, F. Lot, O. Steichen N. Dupin, C. Bébéar, B. Berçot, N. Ndeikoundam Ngangro, T. Blanchon, E. Chazelle. 2023. Surveillance des IST bactériennes en Médecine Générale, France métropolitaine, 2020-2022. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire N° 24-25 | 12 décembre 2023 | 515

#### Publications internationales

1. O. Peuchant, C. Laurier-Nadalié, L. Albuher, C. Balcon, A. Dolzy, N. Hénin, A. Touati, C Bébéar, on behalf of the Anachla study group New insights about anorectal Lymphogranuloma venereum among men who have sex with men in France: a 3-year nationwide survey, 2020-2022. Euro Surv, in press.
2. M. F. Balish, R. Chopra-Dewasthaly, S. Pereyre, A. S. Ramirez, T. Viver, J. Spargser. Mycoplasma. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, in press.
3. A. Touati, C. Bébéar, O. Peuchant. Correlating genotypic and phenotypic antimicrobial susceptibility testing in clinical *Chlamydia trachomatis* isolates. Microbiol Spectr. 2023 Nov 15:e0293523. PMID: 37966206.
4. C. Bébéar, S. Pereyre, B. Berçot, C. Cazanave. Managing bacterial sexually transmitted infections (STIs) and preventing HIV/STIs in Europe. Lancet Reg Health Eur 2023 Oct 26;34:100760. PMID: 37927429.

5. C. Maubaret, F. Caméléna, M. Mérimeche, A. Braille, M. Liberge, M. Mainardis, C. Guillaume, F. Noel, C. Bébéar, J.-M. Molina, F. Lot, E. Chazelle, B. Berçot. 2023. Two cases of extensively drug-resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* infection combining ceftriaxone-resistance and high-level azithromycin resistance, France, November 2022 and May 2023. Euro Surveill. 2023 Sep;28(37). PMID: 37707979.
6. J. Guiraud, C Le Roy, F. Rideau, P. Sirand-Pugnet, C. Lartigue, C. Bébéar, Y. Arfi, S. Pereyre. 2023. Improved transformation efficiency in *Mycoplasma hominis* enables disruption of the MIB-MIP system targeting human immunoglobulins. Microbiol Spectr. e0187323. PMID: 37737635.
7. J. Tamarelle, A.C. Thiébaud, B. de Barbeyrac, C. Bébéar, A. Bourret, J. Ravel, E. Delarocque-Astagneau. 2023. Vaginal microbiota stability over 18 months in young student women in France. Clin Microbiol Infect. Apr 24:S1198-743X(23)00193-3. PMID: 37100225.
8. M. Gardette, A. Touati, C. Laurier-Nadalié, C. Bébéar, S. Pereyre. 2023. Prevalence of *Mycoplasma penetrans* in urogenital samples from men screened for bacterial sexually transmitted infections. Open Forum Infect Dis.
9. S. Pereyre, C. Laurier-Nadalié, C. Le Roy, J. Guiraud, A. Dolzy, N. Hénin, M. Gardette, C. Bébéar. Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in metropolitan and overseas France. Sex. Transm. Inf., 2023, 99, 254-260.
10. 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.
11. C. Bébéar, J. S. Dumler. 2023. Algorithms for identification of *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and obligate intracellular bacteria. In Manual of Clinical Microbiology, 13rd edition, ASM Press, Washington DC.
12. K.B. Waites, C. Bébéar. 2023. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In Manual of Clinical Microbiology, 13rd edition, ASM Press, Washington DC.
13. C. Bébéar. 2023. Diagnostic of human mycoplasmas (4 chapters). Clinical Microbiology Procedures Handbook fifth edition, ASM Press.

### Communications nationales

1. O. Peuchant, C. Laurier-Nadalié, L. Albucher, C. Balcon, A. Dolzy, N. Hénin, A. Touati, C. Bébéar. Epidémiologie la lymphogranulomatose vénérienne en France de 2020 à 2022. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris. Décembre 2023. Communication orale.
2. M. Berdoyes, O. Peuchant, C. Balcon, C. Le Roy, G. Verdy, C. Bébéar, D. Baïta, C. Hocké. Clairance vaginale spontanée de *Mycoplasma genitalium* : étude prospective monocentrique interventionnelle. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris. Décembre 2023. Communication orale.
3. A. Gaudin, N. Hénin, M. Gardette, C. Bébéar, S. Pereyre. Evaluation of PCR kits for non-viral sexually transmitted infection detection. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris. Décembre 2023. Communication orale.
4. F. Caméléna, C. Maubaret, M. Mérimeche, A. Braille, M. Liberge, M. Mainardis, C. Guillaume, F. Noel, C. Bébéar, J.-M. Molina, F. Lot, E. Chazelle, B. Berçot. Émergence de gonocoques XDR résistants à haut niveau à l'azithromycine. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris. Décembre 2023. Communication orale.
5. A. Touati, C. Bébéar, O. Peuchant. Sensibilité aux antibiotiques de *Chlamydia trachomatis*: du phénotype au génotype. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris. Décembre 2023. Poster
6. T. Lutz, R. Chautard, M. Lafontaine, M. Genc, A. Touati, S. Pereyre, O. Peuchant, C. Bébéar, F. Garnier, S. Hantz. Evaluation du kit APTIMA-Combo2™ pour la détection de *Chlamydia trachomatis* et de *Neisseria gonorrhoeae* sur sperme congelé. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris. Décembre 2023. Poster

### Communications internationales

1. J.-M. Molina, B. Berçot, L. Assoumou, M. Algarté-Génin, E. Rubenstein, G. Pialoux, C. Katlama, L. Surgers, C. Bébéar, N. Dupin, J.-P. Viard, J. Pavie, C. Duvivier, J. Ghosn, D. Costagliola. ANRS 174 DOXYVAC, an open-label Rrandomized trial to Prevent STIs in MSM on PrEP. 30th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 19-22 February 2023, Seattle USA. Communication orale.
2. V. Ferré V, A Sadio, F Gbeasor-Komlanvi, M Salou, B Berçot, C Bébéar, L Abramowitz, M Zaidi, A P Amenyah-Ehlan, E Mensah, A Claver Dagnra, J Ghosn, D Descamps, C Charpentier, D K. Ekouevi. 2023. High prevalence of HPV, other STI and anal lesions among MSM in Togo. 30th Conference on retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 19-22 fevrier 2023 Seattle, USA. Poster.
3. V. Ferré, A. Sadio, F. Gbeasor-Komlanvi, M. Salou, B. Berçot, 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. Eurogin 8-11 February 2023, Bilbao Spain. Communication orale.
4. S. Pereyre, C. Laurier-Nadalié, N. Hénin, A. Dolzy, M. Gardette, C. Bébéar. Surveillance of macrolide and fluoroquinolone resistance in *Mycoplasma genitalium* in metropolitan and overseas France in 2021. 33<sup>rd</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, 15-18 avril 2023. Poster.
5. C. Maubaret, A. Braille, M. Mainardis, C. Sbaa, C. Bébéar, M. Mérimèche, B. Berçot 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 Copenhagen, Danemark, Poster
6. S. Pereyre, C. Laurier-Nadalié, N. Hénin, A. Dolzy, M. Gardette, C. Bébéar. Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance in *Mycoplasma genitalium* in metropolitan and overseas France in 2021. 24<sup>th</sup> Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Osaka, Japon, 16-20 juillet 2023. Communication orale.
7. M. Gardette, A. Touati, C. Laurier-Nadalié, C. Bébéar, S. Pereyre. *Mycoplasma penetrans*, a possible urogenital bystander more frequent in HIV-positive men and men who have sex with men. 33<sup>rd</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, 15-18 avril 2023. Poster.
8. C. Le Roy, O. Byambaa, C. Balcon, C. Bébéar, S. Pereyre. In vitro selection and characterization of resistance to josamycin and pristinamycin in *Mycoplasma genitalium*. 24<sup>th</sup> Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Osaka, Japon, 16-20 juillet 2023. Poster.
9. S. Pereyre, N. Hénin, A. Dolzy, J. Guiraud, M. Gardette, C. Bébéar. Evaluation of commercial customized plates for *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* antimicrobial susceptibility testing and determination of resistance prevalence in France in 2020. 24<sup>th</sup> Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Osaka, Japon, 16-20 juillet 2023. Poster
10. J. Guiraud, C. Le Roy, F. Rideau, P. Sirand-Pugnet, C. Lartigue, C. Bébéar, Y. Arfi, S. Pereyre. Improved transformation efficiency in *Mycoplasma hominis* allows disruption of the MIB-MIP system targeting human immunoglobulins. 24<sup>th</sup> Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Osaka, Japon, 16-20 juillet 2023. Communication orale.
11. M. Gardette, A. Touati, C. Laurier-Nadalié, C. Bébéar, S. Pereyre. *Mycoplasma penetrans*, a possible urogenital bystander more frequent in HIV-positive men and men who have sex with men. 24<sup>th</sup> Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Osaka, Japon, 16-20 juillet 2023. Poster
12. O. Mardh, B. Bluemel, T. Noori, A. Pharris and the EU/EEA STI Surveillance Network. 2023. STI epidemiology in the time of COVID-19 pandemic in European Union/European Economic Area countries– data artifact or real impact of the pandemic? STI and HIV world Congress, Chicago, Il, USA, 24-27 July. Communication orale.
13. O. Peuchant, A. Touati, C. Balcon, L. Madras, C. Laurier, C. Bébéar. Prevalence and epidemiology of Lymphogranuloma venereum in France, 2020-2022 STI and HIV world congress, 24-27 July 2023, Chicago, USA. Communication orale.

### Conférences sur invitation

1. C. Bébéar. 2023. Diagnostic of urogenital mycoplasmas. Webinar of the ESCMID Study Group on Molecular

Diagnostics (ESGMD), 3 March, online.

2. C. Bébéar. 2023. Molecular diagnostic of sexual transmitted infections. ESCMID Postgraduate Technical Workshop Diagnostic Microbiology: MALDI-TOF, Genomics, Metagenomics, Automation and Molecular Microbiology, 2nd course, 12-16 June Lausanne, Switzerland.

3. C. Bébéar. 2023. *Mycoplasma genitalium*, de plus en plus résistant. Journée scientifique d'automne de la SFMTSI 9 novembre 2023 « IST tropicales », Val de Grace, Paris.

4. C. Bébéar. 2023. STI: What's the latest on antimicrobial resistance? 43ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 18-19 décembre, Paris, France. CB : journée SFMT, RICAI

5. S. Pereyre. 2023. Cas cliniques sur *M. genitalium* multirésistant. Journées Thématiques IST, PrEP, Santé sexuelle 2023, Paris, 31 mai 2023.

## 6.2.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

### Publications nationales

1. D. Niaré, T. Launay, L. Rossignol, F. Lot, O. Steichen N. Dupin, C. Bébéar, B. Berçot, N. Ndeikoundam Ngangro, T. Blanchon, E. Chazelle. 2023. Surveillance des IST bactériennes en Médecine Générale, France métropolitaine, 2020-2022. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire N° 24-25 | 12 décembre 2023 | 515

### Publications internationales

1. Unemo M, Cole MJ, Kodmon C, Day M, Jacobsson S; European Gonococcal Tetracycline-Resistance Study Group (B Berçot). High tetracycline resistance percentages in *Neisseria gonorrhoeae* in Europe: is doxycycline post-exposure prophylaxis unlikely to reduce the incident gonorrhoea cases? Lancet Reg Health Eur. 2024 Feb 13;38:100871. PMID: 38476738.

2. Caméléna F, Mérimèche M, Liberge M, Maubaret C, Donay JL, Taha MK, Fouere S, Berçot B. Detection of CTX-M-15 ESBL in XDR *Haemophilus parainfluenzae* from a urethral swab. J Antimicrob Chemother 2024 March 1;79 (3): 539-45, PMID: 38197448.

3. C. Bébéar, S. Pereyre, B. Berçot, C. Cazanave. Managing bacterial sexually transmitted infections (STIs) and preventing HIV/STIs in Europe. Lancet Reg Health Eur. 2023 Oct 26;34:100760. PMID: 37927429

4. JL. Prétet, A. Baraquin, AS. Barret, B. Berçot, D. Rahib, N. Lydié, L. Pépin-Puget, Q. Lepiller. Anal and oropharyngeal HPV distribution in HIV-negative multipartner MSM using self-sampling kits for HIV and sexually transmitted infection screening. J Med Virol. 2023 Sep;95(9):e29068. PMID: 37654019.

5. C. Maubaret, F. Caméléna, M. Mérimèche, A. Braille, M. Liberge, M. Mainardis, C. Guillaume, F. Noel, C. Bébéar, JM. Molina, F. Lot, E. Chazelle, B. Berçot. Two cases of extensively drug-resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* infection combining ceftriaxone-resistance and high-level azithromycin resistance, France, November 2022 and May 2023. Euro Surveill. 2023 Sep;28(37). PMID: 37707979.

6. F. Kakooza, D. Golparian, M. Matoga, V. Maseko, M. Lamorde, R. Krysiak, YC. Manabe, JS. Chen, R. Kularatne, S. Jacobsson, S. Godreuil, I. Hoffman, B. Berçot, T. Wi, M. Unemo. Genomic surveillance and antimicrobial resistance determinants in *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Uganda, Malawi and South Africa, 2015-20. J Antimicrob Chemother. 2023 Aug 2;78(8):1982-1991. PMID: 37352017.

7. S. Pereyre, C. Laurier-Nadalié, C. Le Roy, J. Guiraud, A. Dolzy, N. Hénin, M. Gardette, C. Bébéar; investigator group (B Berçot). Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in metropolitan and overseas France. Sex Transm Infect. 2023 Jun;99(4):254-260. PMID: 36413349.

### Conférences sur invitation

1. B Berçot. DoxyPEP: Implications for antimicrobial resistance? 31<sup>th</sup> Conference on retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 3-7 mars 2024 Denver, USA. Round table Communication orale.

2. B Berçot. DoxyPEP. 36th IUSTI Europe Congress, 26-28 Octobre, La Valette, Malte. Communication orale

3. B Berçot. Résistance du Gonocoque aux antibiotiques dans le Monde. Journée scientifique de la SFMTSI, 9 novembre 2023, Paris.

### Communications nationales

1. F. Caméléna, C. Maubaret, M. Mérimèche, A. Braille, M. Liberge, M. Mainardis, C. Guillaume, F. Noel, C. Bébéar, JM. Molina, F. Lot, E. Chazelle, B. Berçot. Emergence de clones de gonocoques XDR résistants à haut-niveau à l'azithromycine. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, 18-19 décembre 2023. Paris. CO 026.

2. Caméléna F, Mérimèche M, Liberge M, Maubaret C, Donay JL, Taha MK, Fouere S, Berçot B. *Haemophilus parainfluenzae* producteur de CTX-M-15 isolé dans un prélèvement urétral. 43<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, 18-19 décembre 2023. Paris, CO-135.

### Communications internationales

1. J.-M. Molina, B Berçot, 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. Final results of ANRS 174 DoxyVAC: a randomized trial to prevent STI in MSM on PrEP. 31<sup>th</sup> Conference on retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 3-7 mars 2024 Denver, USA. Communication orale.

2. C. Maubaret, A. Braille, M. Mainardis, C. Sbaa, C. Bébéar, M. Mérimèche, B. Berçot and Biologists involved in ENGON surveys. Molecular investigation of azithromycin-resistant gonococcal in France. 33<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 14-18 avril, 2023 Copenhagen, Danemark, Poster.

3. V. Ferré V, A Sadio, F Gbeasor-Komlanvi, M Salou, B Berçot, 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.

4. J.-M. Molina, B. Berçot, 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 février 2023 Seattle, USA. Communication orale

5. V. Ferré V, A Sadio, F Gbeasor-Komlanvi, M Salou, B Berçot, 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 février 2023 Seattle, USA. Poster.

### 6.2.3 Laboratoire APHP Cochin

#### Publications nationales

1. D. Niaré, T. Launay, L. Rossignol, F. Lot, O. Steichen N. Dupin, C. Bébéar, B. Berçot, N. Ndeikoundam Ngangro, T. Blanchon, E. Chazelle. 2023. Surveillance des IST bactériennes en Médecine Générale, France métropolitaine, 2020-2022. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire N° 24-25 | 12 décembre 2023 | 515

#### Publications internationales

1. *Treponema pallidum* resistance to azithromycin in France: A nationwide retrospective study from 2010 to 2022. (2024) Salle R, Grange PA, Ollagnier G, Hembert R, Benhaddou N, Heller U, Dupin N. J Eur Acad Dermatol Venereol. Jan;38(1):e20-e21. doi: 10.1111/jdv.19399.
2. 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.
3. 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. Feb;37(2):390-394. doi: 10.1111/jdv.18604.
4. Evaluation of the usefulness of routine molecular biology for the diagnosis of primary syphilis by assessing the serological status of patients with PCR-confirmed syphilitic ulcers. (2023) Hembert R, Salle R, Grange PA, Ollagnier G, Benhaddou N, Heller U, Saule J, Del Giudice P, Fouéré S, Bertolotti A, Dupin N. J Eur Acad Dermatol Venereol. Dec 22. doi: 10.1111/jdv.19761.

### Communications internationales et conférences sur invitation

1. J.-M. Molina, B Berçot, 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. Final results of ANRS 174 DoxyVAC: a randomized trial to prevent STI in MSM on PreP. 31<sup>th</sup> Conference on retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 3-7 mars 2024 Denver, USA. Communication orale.
2. N. Dupin. Insight on neurosyphilis diagnostic and therapeutic challenges (2023) 25<sup>th</sup> World Congress of Dermatology, Singapore 8-10 July 2023
3. N. Dupin. Syphilis and neurosyphilis update (2023) 36<sup>th</sup> IUSTI Europe Congress, Malta 26-28

## 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 génovars 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 05.57.57.16.29 - 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) - directrice CNR	ETP 0,20
--	----------

---

#### 1. Secteur *C. trachomatis*, responsable O. Peuchant

- Olivia Peuchant (MCU-PH)	ETP 0,15
----------------------------	----------

- Jennifer Guiraud (PHC)	ETP 0,1
--------------------------	---------

#### 2. Secteur Mycoplasmes urogénitaux, responsable S. Pereyre

- Sabine Pereyre (PU-PH)	ETP 0,15
--------------------------	----------

- Jennifer Guiraud (PHC)	ETP 0,7
--------------------------	---------

- 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*
-------------------------------------	--------

- Léo Gillet, ingénieur bioinformaticien	ETP 0,5*
--	----------



- Carla Balcon, technicienne	ETP 1*
- Amandine Dolzy, technicienne	ETP 1*
- Laurie Madras, technicienne	ETP 1**
- Marie Taymont, technicienne qualité	ETP 0,5*
- Marie Gardette, ingénieur CHU	ETP 0,25
- Nadège Hénin, technicienne Univ Bordeaux	ETP 0,8
- Frédérique de Carvahlo, secrétaire	ETP 0,1
- Vanessa Duprat, cadre de santé CHU	ETP 0,1

\*Personnel rémunéré par la subvention SpF, M. Taymont et L. Gillet recrutés 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.

## 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

#### Personnel médical

Béatrice Berçot (PU-PH, MD, PhD) , Directrice du laboratoire associé au CNR des IST bactériennes pour l'expertise gonocoque .....	ETP 0,35
François Caméléna, directeur associé (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 *

Bénédicte Condamine, 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

\*Personnel rémunéré par la subvention SpF.

\*\*Personnel rémunéré par l'étude ANRS174 Doxyvac.

Jean-Michel Molina, infectiologue, est le coordinateur 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 Nadjet Benhaddou  
Tél. : +33 (0) 1 58 41 27 88  
Fax : +33 (0) 1 58 41 15 48  
Email : nadjet.benhaddou@cch.aphp.fr

**Responsable administratif** :

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 BENHADDOU (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 bibliothèques NGS
- Plateforme automatisée de préparation de bibliothèque NGS Magnis NGS Prep System (Agilent), mutualisée
- 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.)
- - Accès payant à la plateforme de séquençage d'Eurofins pour séquençage NGS de génomes bactériens

#### Locaux (160 m<sup>2</sup>) 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 CO<sub>2</sub> (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 m<sup>2</sup>) 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'héberge.

#### Techniques culturelles en Bactériologie (plateau de 500 m<sup>2</sup>) :

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 CO<sub>2</sub>
- 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 m<sup>2</sup> 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 m<sup>2</sup> 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 cyclor (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.

#### Équipements 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.

#### Équipements 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 2022-2023 par projet est détaillée dans le tableau ci-dessous.

Tableau. Collection de matériel biologique, CNR IST Bordeaux 2022-23

Projet	Nombre d'échantillons
<b>Diagnostic de la LGV</b>	
LGV 2022*	2 268
<b>Recherche de la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones chez <i>M. genitalium</i></b>	
2023	895
<b>Enquêtes</b>	
MGMET 2022	479
MGDROM 2022	234
<b>Souches <i>C. trachomatis</i> isolées en routine</b>	
Souches <i>C. trachomatis</i> 2023	10
<b>Souches UuUpMh isolées en routine</b>	
Souches UuUpMh 2023	104
TOTAL	3 990

\*Incluant les enquêtes ANACHLA; MG : *M. genitalium*; CT : *C. trachomatis*; UuUpMh: *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis*; MGMET : MG en métropole, MGDROM : MG en Outre-mer.

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 1 500 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 7 000 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 12 000 cultures lyophilisées de mollicutes, représentant 200 espèces et 1 500 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 depuis 2017 une collection de 15 877 souches (comprenant la récupération de la collection Renago), 9 119 prélèvements et 1 615 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 2022	551
ENGON 2023	705
ANRS DOXYVAC 2021-2023 DoxyPEP	101
<b>Surveillance de la résistance sur prélèvements</b>	
ANRS DOXYVAC 2021-2023 DoxyPEP	685
Enquête cadre alarme SFP/CNR grenoble	26
Prelevements pour expertise	15
<b>Autres souches d'intérêt</b>	
Souches invasives	4
Souches du Contrôle de Qualité européen 2023	10
Cas judiciaires ou expertise CNR	53
<b>TOTAL 2022-2023</b>	<b>2127</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 plus de 3000 séquences NGS de gonocoque, cf. chapitres 2.6, activités de séquençage à l'hôpital Saint-Louis.

### 1.4.3 Laboratoire APHP Cochin

L'impossibilité de cultiver en milieu synthétique *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) est stocké dans un congélateur sous report d'alarme et contrôle de température dédiée pour le CNR et entreposé dans la salle des congélateurs -80°C au 4<sup>ème</sup> étage du bâtiment Faculté de Médecine. 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'Étude 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 2006-2023.**

Nombre	Type de prélèvement							
	LCR	Placenta	Liq. Amniotique	Cordon / Sang de cordon	de	Écouvillon	Biopsie	Sang total
<b>Total</b>	143	23	11	12		930	65	23

Nous disposons de **1 207 échantillons positifs par amplification et de 440 immun-sérums.**

Tableau. Collection du matériel biologique sur la période 2017-2023.

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	0
2023	417	4	85	3	13	2	38	0	421	51	14	2	673	0	30	0	12	1
<b>Total</b>	<b>2314</b>	<b>50</b>	<b>373</b>	<b>18</b>	<b>61</b>	<b>9</b>	<b>273</b>	<b>4</b>	<b>1845</b>	<b>343</b>	<b>172</b>	<b>33</b>	<b>2664</b>	<b>1</b>	<b>197</b>	<b>3</b>	<b>114</b>	<b>4</b>

Sur la période 2017-2023, nous avons reçu un total de 8 013 échantillons pour expertise moléculaire et/ou sérologique dont 465 sont positifs pour *T. pallidum* après amplification.

#### - Bases de données de séquences

Pas de données de séquences pour *T. pallidum* hormis celles citées en 2.6.

## 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.

Le laboratoire est accrédité pour le diagnostic moléculaire de la LGV à *C. trachomatis* par PCR en temps réel qualitative, code portée BM BA02, en portée B depuis le 08/02/2024. Il a également été accrédité pour le diagnostic de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* et *T. vaginalis* sur l'automate Cobas 6800 de Roche, code portée BM BA02, en portée A.

Une demande d'ajout d'analyse pour le diagnostic moléculaire de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* en portée A a été déposée pour la prochaine visite 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***. À propos du **diagnostic de la LGV**, une comparaison inter-laboratoire annuelle a été mise en place entre notre centre au CHU de Bordeaux et le laboratoire associé gonocoque du CNR, APHP Saint Louis, Paris depuis 2021. Les échanges réalisés en 2023 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 2023 et a inclus un contrôle qualité pour la résistance aux macrolides.

### 1.5.2 Laboratoire APHP Saint-Louis

#### Accréditation selon la norme ISO 15189

cf. rapport année précédente

En 2022, nous avons démarré deux nouveaux processus qui sont opérationnels depuis 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 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.

### Conservation des données de séquençage NGS

cf. rapport année précédente

### Contrôles de qualité intra-laboratoire et inter-laboratoire

cf. rapport année précédente

### Contrôles de qualité externes européens

Le laboratoire associé gonocoque participe à un contrôle de qualité externe (CQE) quadriannuel, 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.

#### 3- En 2023, 10 souches de gonocoque correspondant au contrôle de qualité européen ont été reçues au CNR.

Ces souches sont sélectionnées par PHE et distribuées par le National External Quality Assessment Service du Royaume-Uni (UK-NEQAS) aux participants du réseau Euro-GASP qui souhaitent y participer. Ainsi, ce CQ évalue les laboratoires du réseau pour la détermination des CMI d'un panel d'antibiotiques (spectinomycine, ciprofloxacine, azithromycine, céfixime, ceftriaxone, gentamicine) et un test céfinase ( $\beta$ -lacta test). Ce CQ comprend aussi une évaluation de la qualité du séquençage NGS de ces souches, sur la base des données générées. Les isolats choisis par PHE sont représentatifs d'une gamme de différents profils de sensibilité aux antimicrobiens et se composent de souches de référence de l'OMS. Les résultats sont ensuite soumis directement à l'UK-NEQAS qui publie des rapports de laboratoire individuels et le PHE qui décode et analyse les résultats.

### 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. 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 (ASI) 20%
- VDRL pour LCR (Biosynex) + (Nadal) 20%
- Immunoblot (IgG/IgM Eurobio- Ingen) 20%

Nous avons été **audités par le COFRAC (audit de surveillance) pour les analyses des tests non tréponémiques RPR pour sérum (ASI) et VDRL pour LCR (Nadal) et le test de confirmation ImmunoBlot (IgG/IgM Ingen) du 26 au 29 février 2024. Notification de la compétence dans l'expertise du diagnostic sérologique de la syphilis.**

L'accréditation du diagnostic moléculaire de la Syphilis à *T. pallidum* pour la validation en portée B sera ajoutée aux lignes de portée correspondantes à la ligne de l'extension du diagnostic moléculaire déjà accrédité. Elle intégrera le processus en cours accrédité à travers le DMU Biologie médicale, Médecine Génomique et physiologie comme un laboratoire unique.

Dans le cadre du pré-analytique, la prise en charge initiale des échantillons a été basculée sur le Service de Microbiologie du LBM (Laboratoire de Biologie Médicale) avec enregistrement dans le logiciel GLIMS. Les non-conformités mises en évidence à la réception des échantillons sont tracées avec un appel vers les laboratoires concernés.

Le personnel technique G. Ollagnier et P. Grange du CNR sont habilités en tant que correspondants assurance qualité (CAQ). Les modes opératoires, les procédures techniques et les dossiers de validation de méthodes sont en cours de rédaction pour être enregistrés dans le logiciel KALILAB permettant de gérer les documents Qualité.

Un contrôle de qualité externe EEQ « **Syphilis PAST PANEL** » Control Molecular Diagnostics (QCMD) sur écouvillon commercialisé par la société RANDOX est mis en place

Un audit interne de la biologie moléculaire est programmé courant 2024 pour un dépôt du dossier de validation de méthode fin de l'année 2024.

## 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 géovars 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) / $\mu$ l grâce à un plasmide de calibration pGEMT+insert (cible) préparé au CNR.

- Un test de PCR en temps réel maison détectant les souches de géovar 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).

##### Évaluation 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 géovar 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-géovar 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) issues 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 (Peyre et al. 2002, Antimicrob Agents Chemother 46:3142-3150; Chriment 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):2273-227).

##### 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, complexe clonal CC-NG-STAR 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)
- Étude 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 A2058T, 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 plus de 3000 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 (ASI, Launch)

Tests tréponémiques : Tp ELISA Ig totaux (Architect)

Immunoblot (IgG/IgM Eurobio-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

### Actualités des résistances de *Mycoplasma genitalium* en France - Année 2022 -



Cécile Laurier-Nadalié<sup>1</sup>, Marie Gardette<sup>1</sup>, Amandine Dolzy<sup>1</sup>, Nadège Hémin<sup>1-2</sup>, Laurie Madras<sup>1</sup>, Carla Balcon<sup>1</sup>, Jennifer Guiraud<sup>1-2</sup>, Cécile Bébéar<sup>1-2</sup>, Sabine Pereyre<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Bactériologie, Centre National de Référence des IST bactériennes, CHU de Bordeaux, France, <https://www.cnr-ist.fr/>

<sup>2</sup> Université de Bordeaux, CNRS, UMR 5234 Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité, Bordeaux.

#### Introduction

Le centre national de référence des infections sexuellement transmissibles bactériennes surveille l'évolution de la résistance de *Mycoplasma genitalium* (MG) en France depuis 2017. Macrolides et fluoroquinolones sont les traitements 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 et d'Outre-mer en 2022.

#### Matériels et Méthodes

Tous les échantillons positifs à MG ont été collectés entre le 15/09/2022 et le 15/10/2022 dans 37 centres métropolitains et entre le 01/09/2022 et le 30/11/2022 en Outre-mer. 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 identifiée par amplification et séquençage de l'ARNr 23S. 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 ininterprétables en séquençage pour la résistance au macrolides et aux fluoroquinolones ont été testés avec des PCR multiplex commercialisées (ResistancePlus® MG SpeedX, MGMO qPCR NYTOR).

#### Résultats France métropolitaine

Au total, 479 échantillons provenant de 469 patients ont été collectés entre le 15 septembre et le 15 octobre 2022. La répartition par genre était : 277 femmes cis-genre (59,1%), 191 hommes cis-genre (40,7%) et 1 homme trans-genre (0,2%).

La prévalence de la résistance aux macrolides était de 38,6% (161/417), avec 51,5% (88/171) chez les hommes vs 29,4% (72/245) chez les femmes ( $p < 0,001$ ). Parmi les hommes, la résistance aux macrolides était de 70,8% chez les HSH vs 33,3% chez les hommes hétérosexuels ( $p < 0,001$ ). La mutation A2059G (numérotation *Escherichia coli*) était la plus fréquente (44,1%) suivi par A2058G (23,6%) et A2058T (19,9%).

La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones était de 17,1% (67/392), avec 25,8% chez les hommes (41/159) vs 10,8% chez les femmes (25/232) ( $p < 0,001$ ). Les mutations Ser83Ile, Asp87Tyr, Asp87Asn, Ser83Arg et Gly81Cys ont été retrouvées (numérotation *M. genitalium*).



#### Résultats France d'Outre-mer



Un total de 234 échantillons provenant de 230 patients a été reçu de 3 départements ou territoires d'Outre-mer, La Réunion, Nouvelle Calédonie et Polynésie française. Les 234 échantillons provenaient de 230 patients (59,1% femmes cis-genre, 38,7% d'hommes cis-genre, 3,0% de femmes trans-genres et 0,9% non renseigné).

La prévalence de la résistance aux macrolides était de 18,1% (37/201), avec 28,2% chez les hommes (22/78) vs 12,5% chez les femmes (15/120)  $p < 0,05$ . Parmi les hommes, la résistance aux macrolides était de 68,8% (11/16) chez les hommes ayant des relations sexuelles avec les hommes (HSH) vs 30,0% (6/20) chez les hommes hétérosexuels ( $p < 0,05$ ). La mutation A2059G était la plus fréquente (43,2%) suivi par A2058G (21,6%) et A2058T (16,2%).

La prévalence de la résistance aux fluoroquinolones en Outre-mer était de 4,8% (10/207), avec 7,4% (6/81) chez les hommes vs 3,3% (4/123) chez les femmes ( $p > 0,05$ ). Seules les mutations Ser83Ile et Asp87Asn ont été retrouvées.

### Comparaison France métropolitaine et d'Outre-mer en 2022

Le tableau ci-dessous reprend les pourcentages de résistance et permet une comparaison entre la métropole et l'Outre-mer.

	Résistance aux macrolides			Résistance aux fluoroquinolones		
	France métropolitaine	France d'outre-mer	P	France métropolitaine	France d'outre-mer	P
Population totale	38,6	18,4	<0,001	17,1	4,8	<0,001
Hommes	51,5*	28,2*	<0,001	25,8*	7,4	<0,001
Femmes	29,4*	12,5*	<0,001	10,8*	3,3	<0,05
Symptomatiques	44,3	22,4	<0,05	20,2	6,4	<0,05
Hommes						
HSH	70,8*	68,8	NS	39,3	22,2	NS
HSF	33,3*	30	NS	22,5	0	NS
VIH+	66,6	30	NS	42,9	25	NS
VIH-	54,1	34,5	<0,05	27,8	6,6	<0,05

La p-value (test du khi2) compare les données sur une même ligne. L'astérisque indique une différence statistiquement significative sur la colonne, entre hommes et femmes ou entre HSH et HSF. NS, non significatif.

Les taux de résistance sont plus élevés en métropole qu'en Outre-mer, pour les deux familles d'antibiotique chez les hommes et les femmes.

### Evolution sur 5 ans dans les laboratoires constants

**En métropole**, sont considérés comme laboratoires constants, les 10 laboratoires qui ont participé en 2018 et en 2022 (APHM Marseille, Biorylis, CHU Antoine Béclère, CHU Bordeaux, CHU Dijon, CHU Louis Mourier, CHU Lyon, CHU Poitiers, CHU Toulouse, CHU Tours).

Chez les hommes, nous ne constatons pas d'augmentation significative de la prévalence de la résistance entre 2018 et 2022, ni aux macrolides (40,0% en 2018 vs 57,9% en 2022,  $p=0,06$ ), ni aux fluoroquinolones (12,3% en 2018 vs 25,8% en 2022,  $p>0,05$ ).

Chez les femmes, la prévalence de la résistance aux macrolides est en augmentation, passant de 13,8% en 2018 à 33,3% en 2022 ( $p<0,05$ ). La résistance aux fluoroquinolones est, quant à elle, stable (12,1% en 2018 vs 12,5% en 2022 ( $p>0,05$ )).

**En Outre-mer**, quatre laboratoires ont envoyé des prélèvements en 2018 et en 2022 (CHU de La Réunion, Réunionlab, CH de Polynésie et CH de Nouvelle-Calédonie). Une augmentation significative de la résistance aux macrolides est observée entre 2018 et 2022 (7,3% en 2018 versus 18,4% en 2022,  $p<0,001$ ). Cette augmentation est significative chez les hommes (8,9% vs 28,2%,  $p<0,05$ ) mais pas chez les femmes (6,5% vs 12,5%,  $p>0,05$ ).

Nous ne constatons pas d'augmentation significative de la résistance aux fluoroquinolones entre 2018 et 2022, ni dans la population totale (1,7% vs 4,8%,  $p>0,05$ ) ni par genre.

### Remerciements aux collègues biologistes

Corentine Alauzet (Nancy), Gabriel Auger (Rennes), Julien Bador (Dijon), Guilène Barnaud (Colombes), Agnès Beby-Defaux (Poitiers), Céline Bencimon (Saint-Denis de la Réunion), Anne Bianchi (Bondy), Pierre-Alain Billy (Saint-Denis), Antoine Biron (Nouméa), Nadège Bourgeois-Nicolaos (Clamart), Laure Breit (Colmar), Pascal Coudene (Cahors), Sophie Daure (Montluçon), Claire Duployez (Lille), Anne Ebel (Ivry-sur-Seine), Sophie Edouard (Marseille), Franck Ennouchi (Montreuil), Pauline Floch (Toulouse), Jenny Gallou (Aix en Provence), Sophie Gibaud Papin (Nantes), Sylvie Gonzalo (Saint-Etienne), Clémence Guillaume (Orléans), Christelle Koebel (Strasbourg), Philippe Lanotte (Tours), Stéphane Lastère (Papeete), Pascal Maroye (Castillon la bataille), Stéphanie Marque-Juillet (Versailles), Lucile Mendes (Cahors), Florence Micas (Limoges), Sylvain Millet (Lons le Saunier), Pierre Patoz (Tourcoing), Grégoire Potiron (La Roche sur Yon), Emilie Rondinaud (Paris), Frédérique Roumanet (Dédines), Hélène Salord (Lyon), Anne-Lise Toyer (Toulon), Nicolas Traversier (Saint-Denis de la Réunion), Xavier Vuillemin (Besançon), Charlie Zins (Montpellier), Fatma Zouak (Dijon) ainsi que leurs équipes techniques.

# Identification de souches de gonocoque ultrarésistantes aux antibiotiques (XDR)

## Surveillance de la résistance du gonocoque

La surveillance de la résistance du gonocoque aux antibiotiques, réalisée par le Centre national de référence (CNR) des infections sexuellement transmissibles (IST) bactériennes dans le cadre d'enquêtes annuelles auprès d'un réseau de laboratoires, retrouve un taux de résistance du gonocoque aux céphalosporines de 3ème génération faible et relativement stable sur les dernières années. Ainsi, en 2022, seules 0,2% des souches étaient résistantes à la ceftriaxone, première ligne thérapeutique pour les infections anogénitales non compliquées à *Neisseria gonorrhoeae*. En revanche, cette surveillance rapporte une fréquence plus importante de souches résistantes à l'azithromycine, traitement associé à la ceftriaxone pour les infections pharyngées (en cas de souche sensible à l'antibiogramme) égale à 12% en 2022.

## Quatre souches de gonocoque XDR identifiées en un an

En parallèle à cette surveillance, le CNR a identifié sur une période de 15 mois, entre juin 2022 et septembre 2023, cinq souches de gonocoque résistantes à la ceftriaxone, dont quatre ultrarésistantes (XDR) car également résistantes à haut niveau à l'azithromycine. Ces quatre souches présentent des caractéristiques génotypiques similaires à celles du clone FC428 qui est prévalent en Asie du Sud-Est et un contexte de voyage en Asie du Sud-Est a pu être établi pour deux cas. Entre 2017 et 2021, le CNR avait identifié seulement trois souches XDR : une souche en 2017 et deux en 2019.

## Une possible circulation d'une souche XDR en France

La découverte en septembre 2023 d'un cas autochtone diagnostiqué en région Auvergne-Rhône-Alpes questionne sur une propagation possible en France d'une souche XDR. En effet, la souche identifiée chez ce cas s'est avérée identique à celle mise en évidence chez un autre cas dans cette région 2 mois auparavant sans qu'aucun lien direct n'ait été établi entre ces deux cas et sans notion de voyage pour le second cas.

**Pour mémoire : Les souches de gonocoque XDR échappent aux premières lignes de traitement et contenir leur propagation est primordial.**

Nous souhaitons ainsi rappeler l'importance que **toute suspicion de souche de gonocoque résistante à la ceftriaxone, et a fortiori XDR, soit signalée et confirmée par l'envoi de la souche au CNR des IST bactériennes** (laboratoire associé pour l'expertise gonocoque, AP-HP, hôpital Saint-Louis).

Il convient par ailleurs de :

- **Délivrer des conseils de prévention aux personnes exposées aux IST** : utilisation du préservatif, rappeler le risque d'acquisition de gonocoque résistant pour les personnes voyageant en Asie.

Pratiquer un dépistage en cas de rapport sexuel non protégé par un préservatif ou en cas de symptômes d'IST.

- **Rechercher d'emblée la bactérie en culture, avec antibiogramme, notamment en présence de symptômes ou lors d'une infection au décours d'un voyage** à l'étranger et notamment en Asie.

**Vérifier la guérison du patient** par l'utilisation de tests PCR de contrôle sur les trois sites (génital, oral, anal) en cas de souche résistante.

Pour information, dans l'attente de la mise à jour prochaine des recommandations thérapeutiques et de prévention des IST, un avis du CNR, de la SPILF et de la SFD sur le traitement de la gonococcie, publié en 2021, est disponible ([cliquer ici](#)).

### Pour en savoir plus

SpF ([cliquer ici](#))

Envoi de souche au CNR ([cliquer ici](#))

### Contacts :

**Emilie CHAZELLE**  
[dmi-ist@santepubliquefrance.fr](mailto:dmi-ist@santepubliquefrance.fr)

**Béatrice BERCOU (CNR IST bactériennes)**  
[beatrice.bercot@aphp.fr](mailto:beatrice.bercot@aphp.fr)