



Nouveaux outils de dépistage et épidémiologie de la résistance des IST bactériennes

Cécile Bébéar

Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux
USC EA 3671, Université de Bordeaux - INRA



CHU
Hôpitaux de
Bordeaux

université
de **BORDEAUX**

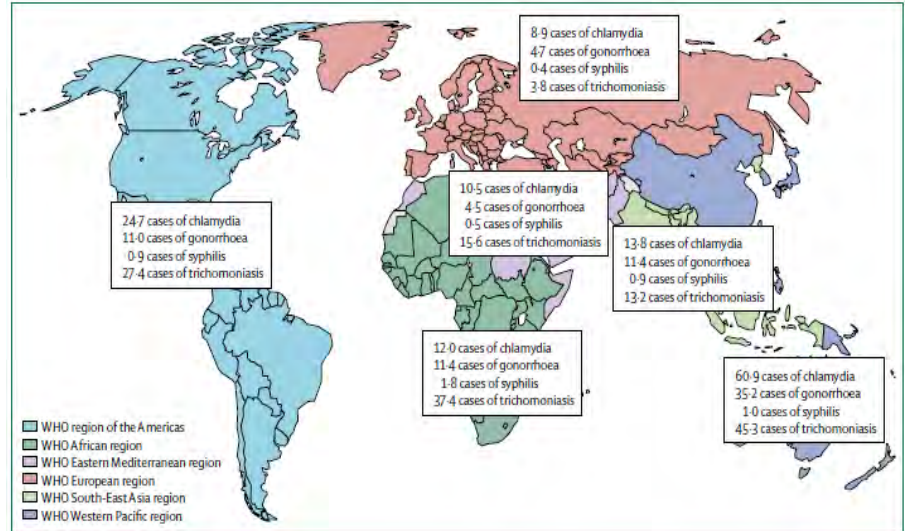


INTRODUCTION

WHO 2012: 357 millions nouveaux cas d'IST curables

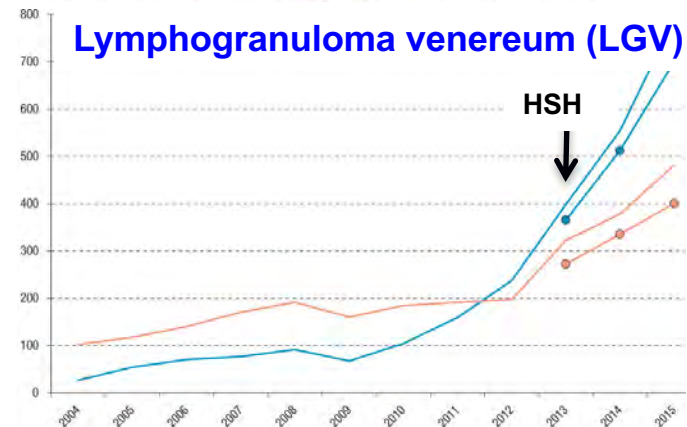
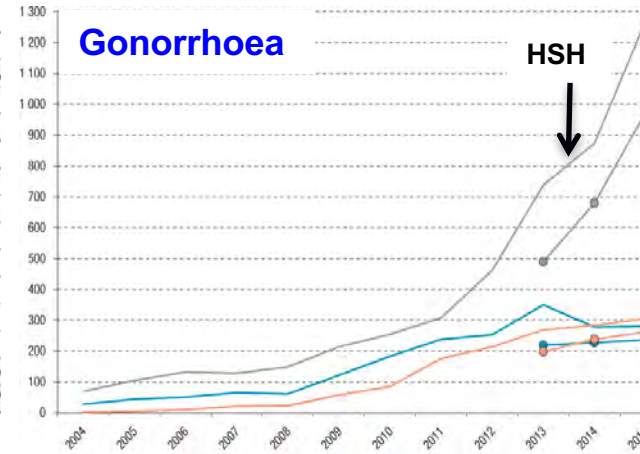
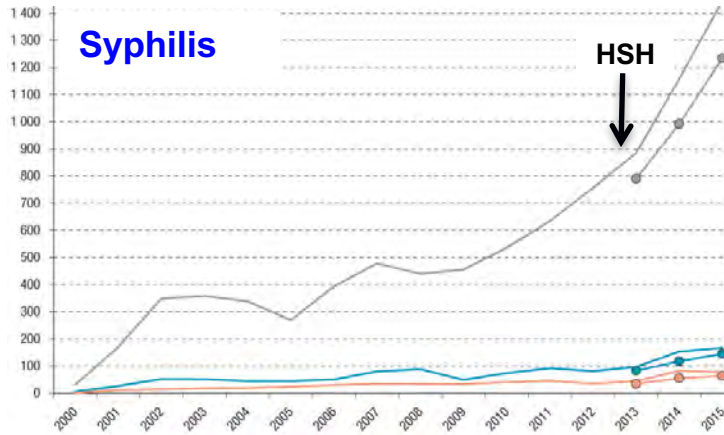
- **Chlamydia** 131 millions
- **Gonorrhée** 78 millions
- **Syphilis** 5,6 millions

Newman et al PLoS One 2015;
Unemo, Bradshaw et al, *Lancet Infect Dis*, 2017



- IST émergente : ***Mycoplasma genitalium***, en augmentation
- Améliorer leur diagnostic : **nouveaux outils**
- Emergence de la **résistance aux antibiotiques** pour ces IST bactériennes
→ impact sur leur traitement et leur contrôle

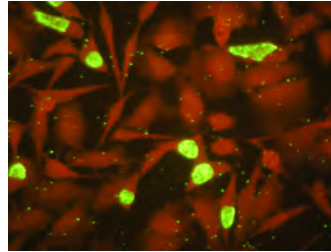
Prévalence des IST bactériennes en France



Syphilis précoce, gonorrhée et LGV en augmentation en France, particulièrement chez les HSH depuis 2013

Chlamydia trachomatis : diagnostic

- Intracellulaire obligatoire
- Avancées technologiques



- Diagnostic direct

Tests amplification d'acides nucléiques, TAAN (PCR temps réel, TMA)

Les seuls remboursés en France, sensibilité >95%

Plateformes automatisées à haut débit (Roche, Hologic, Abbott, BD, Cepheid, etc.)

Double test *C. trachomatis*-*N. gonorrhoeae* (nomenclature modifiée 8 juin 2018)

Tests antigéniques, non recommandés et pas adaptés au dépistage

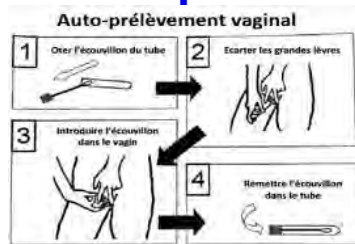
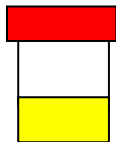
Culture cellulaire (peu sensible, fastidieuse, pas adaptée à tous les échantillons)

- **Sérologie (EIA, IF)** pour infections génitales hautes et LGV



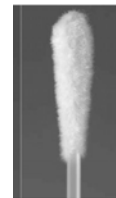
Chlamydia trachomatis : diagnostic

- Echantillons non invasifs++ pour TAAN



Urines 1er jet (hommes) Auto-prélèvement vaginal (femmes)

- Echantillons urogénitaux et autres
 - Ecouvillons cervical, urétral, anal et pharyngé
 - Milieux de transport



Flocked swab

- Si échantillon anal positif ➤ génotypage
 - Souche L = traitement prolongé
 - Génotypage au CNR : symptomatique ou VIH+ ou sous PrEP



Bordeaux

PCR CT/NG: combien de sites analyser?

Un seul site est à analyser sauf dans les cas suivants :

- **Selon le comportement sexuel** : en cas de rapport sexuel anal et/ou pharyngé : rechercher *C.trachomatis* et *N. gonorrhoeae* dans les deux ou trois sites : association prélèvements génital, rectal et/ou pharyngé
- Si **arthrite réactionnelle** : rechercher *C. trachomatis* dans deux ou trois sites : génital, conjonctival, articulaire
- dans **l'exploration d'une infection haute**, rechercher les deux bactéries au niveau du col et/ou du haut appareil génital (endomètre, liquide de Douglas, biopsie des trompes, par exemple) : un ou deux sites
- dans **l'exploration d'une épididymite, d'une prostatite, d'une infertilité d'origine masculine** : rechercher les bactéries dans le premier jet d'urine et dans le sperme
- dans **l'exploration de la lymphogranulomatose vénérienne (LGV)**, rechercher *C. trachomatis* dans le ganglion satellite et les éventuelles ulcérations.

Une seule cotation 5301 (B85) par patient

Traitement des IST à *C. trachomatis*

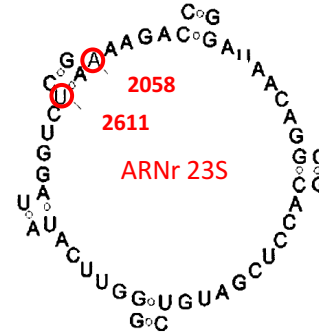
- **Recommended treatment** (WHO guidelines 2016, IUSTI Europe 2015, MMWR Recommend Rep 2015)
 - ✓ **Uncomplicated urogenital infections**
1st-line: **azithromycin** 1g orally in a single dose
 or **doxycycline** 100 mg orally twice daily for 7 days
Alternative regimens: tetracycline or erythromycin or fluoroquinolone
 (ofloxacin or levofloxacin)
 - ✓ **Rectal infections**
doxycycline 100 mg orally twice daily for 7 days
 - ✓ **Lymphogranuloma venereum (LGV)**
doxycycline 100 mg twice daily for 21 days

C. trachomatis: résistance acquise

Résistance acquise clinique : très rare

- **Macrolides**
 - **Resistance** décrite pour 4 souches cliniques
 - > **mutations** au niveau de la cible ribosomique

Misyurina et al, Antimicrob Agents Chemother, 2004;
Binet et al, Antimicrob Agents Chemother, 2007; Zhu et al, Andrologia, 2010



- **Tétracyclines**
 - **Pas de résistance** clinique
 - **In vitro** : transfert horizontal de gène de résistance entre *C. trachomatis* et *C. suis* (espèce animale)

Dugan et al., Antimicrob Agents Chemother, 2004; Suchland et al., Antimicrob Agents Chemother 2009; Jeffrey et al., BMC Microbiol 2013

C. trachomatis: résistance acquise

- **Fluoroquinolones**

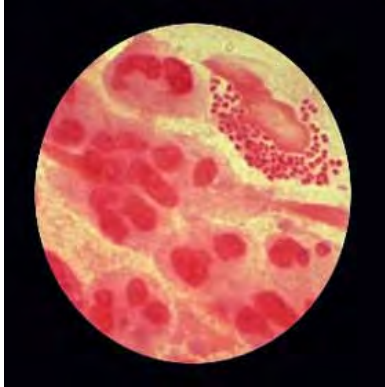
- **Pas de résistance** clinique
- **Mutants résistants sélectionnés *in vitro***
 - > mutations au niveau de l'enzyme cible (ADN gyrase)

TABLE 2. Antibiotic susceptibilities of the reference strain and fluoroquinolone-resistant mutants of *C. trachomatis* L2

Strain	Selecting agents	MIC (μg/ml) ^a						
		OFX	SPX	PFX	CFX	NFX	ERY	DOX
Reference	None	1	0.03	2	1	12	0.4	0.05
L2-OFXR	Ofloxacin	64	32	32	32	96	0.4	0.05
L2-SPXR	Sparfloxacin	32	32	32	16	48	0.4	0.05

^a OFX, ofloxacin; SPX, sparfloxacin; PFX, pefloxacin; CFX, ciprofloxacin; NFX, norfloxacin; ERY, erythromycin; DOX, doxycycline.

Neisseria gonorrhoeae : diagnostic direct uniquement



Examen direct

Rapide
Sensible pour les urétrites
Peu sensible pour les PV



Culture

> 2 jours
Peu sensible (50-70%)
Antibiogramme
Patients symptomatiques



TAAN

Très sensible (>95%) et spécifique,
Duplex CT/NG (nomenclature 8 juin 2018)

Sujets asymptomatiques, anal, oral

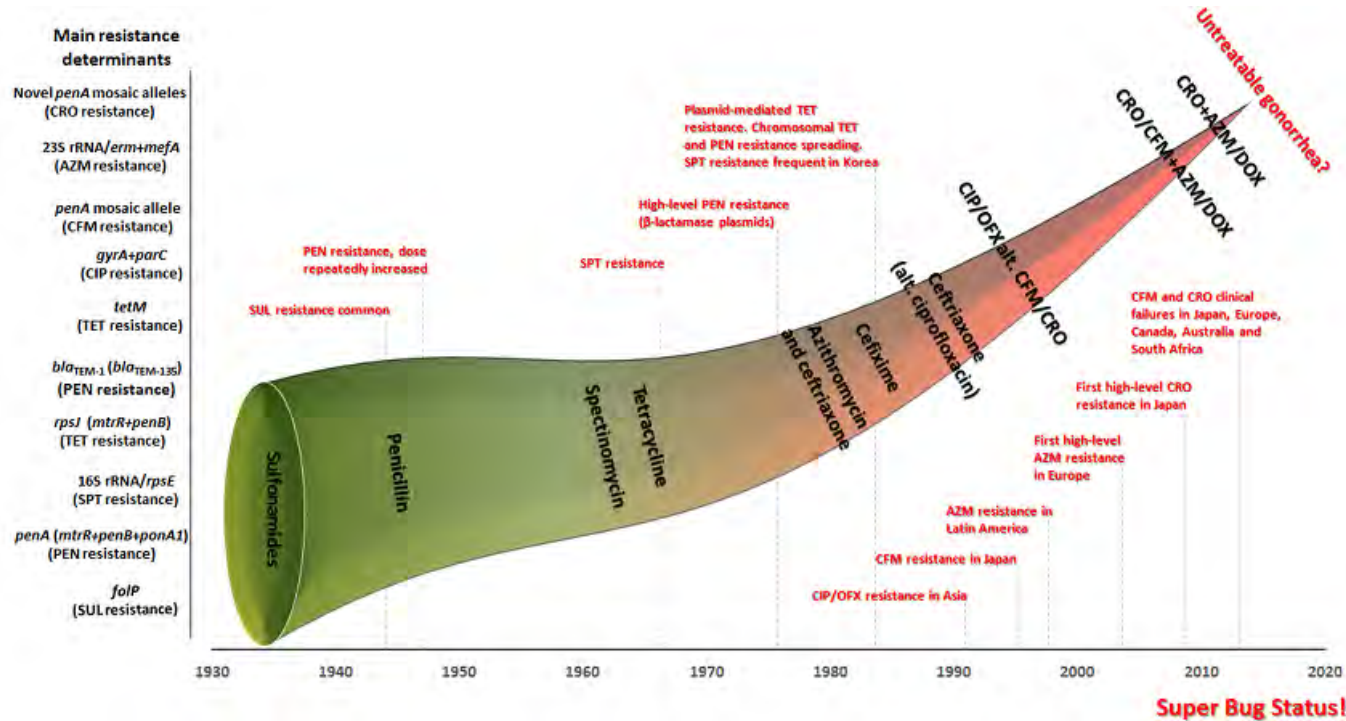
Tests immunologiques rapides peu sensibles, non recommandés.

Dépistage de *N. gonorrhoeae* : outils

- **Population ciblée** : autres IST, atc d'IST, HSH, VIH(+), comportement sexuel à risque, CeGIDD, CPEF, orthogénie, santé sexuelle
- **Patients symptomatiques** : culture + TAAN
Homme : urine 1^{er} jet ou urétral Femme : PV
- **Patients asymptomatiques** : TAAN
Homme : urine 1^{er} jet Femme : autoprélèvement vaginal
- **Localisation anale, gorge** : TAAN

N. gonorrhoeae : résistance aux antibiotiques

History of discovery and recommended antimicrobials,
evolution of resistance in *N.gonorrhoeae* since 1930



N. gonorrhoeae : résistance aux antibiotiques

- **Super bug status**
XDR isolates with high-level resistance to all ESCs and other antimicrobials available : 3 isolates described in Japan, France and Spain



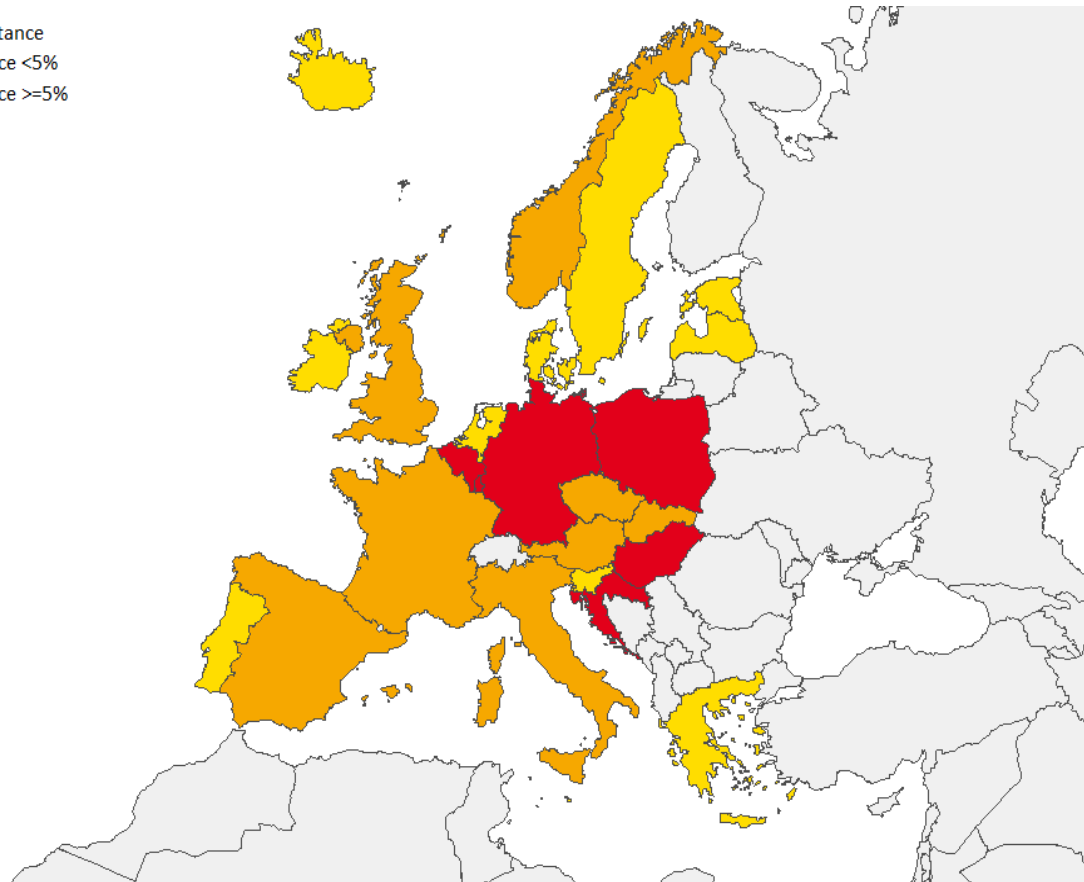
ECDC, 2012

- **Empirical 1st-line treatment**
for uncomplicated gonorrhoea (WHO, Europe, USA)
Dual antimicrobial therapy : **ceftriaxone 250-500 mg + azithromycin 1–2 g**

% of isolates with decreased susceptibility or resistance to cefixime in 2016 (Euro-GASP-ECDC)

- No cefixime resistance
- Cefixime resistance <5%
- Cefixime resistance $\geq 5\%$

- Liechtenstein
- Luxembourg
- Malta



N. gonorrhoeae : résistance aux antibiotiques

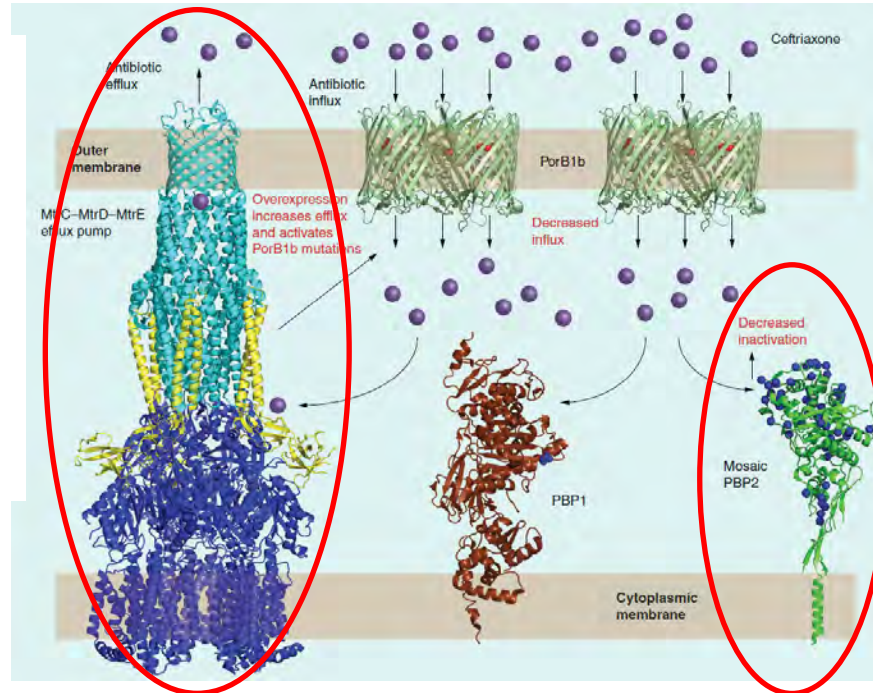
- **Résistance aux céphalosporines 3^{ème} génération** : 0,7% de souches I+R cefixime, pas de souche ceftriaxone-R en France en 2017

Mosaic *penA* gene

Alteration of PBP2, the lethal target for ESCs

Hyperexpression of the MtrCDE efflux pump

Enhanced efflux & decreased influx of ESCs



N. gonorrhoeae : résistance aux antibiotiques

- **Résistance à l'azithomycine : 2% - 8%**

Europ EURO-GASP 2016 (n=22659) 25 countries	Australia 2015 n=5411	United States GISP 2014 (n=5093), 27 sites
7.5%	2.6%	2.5%

- **5,5% en France en 2017**
- Haut niveau de résistance, mutations ribosomiques (ARNr 23S)

- **Résistance aux fluoroquinolones : 30 % – 50 %**

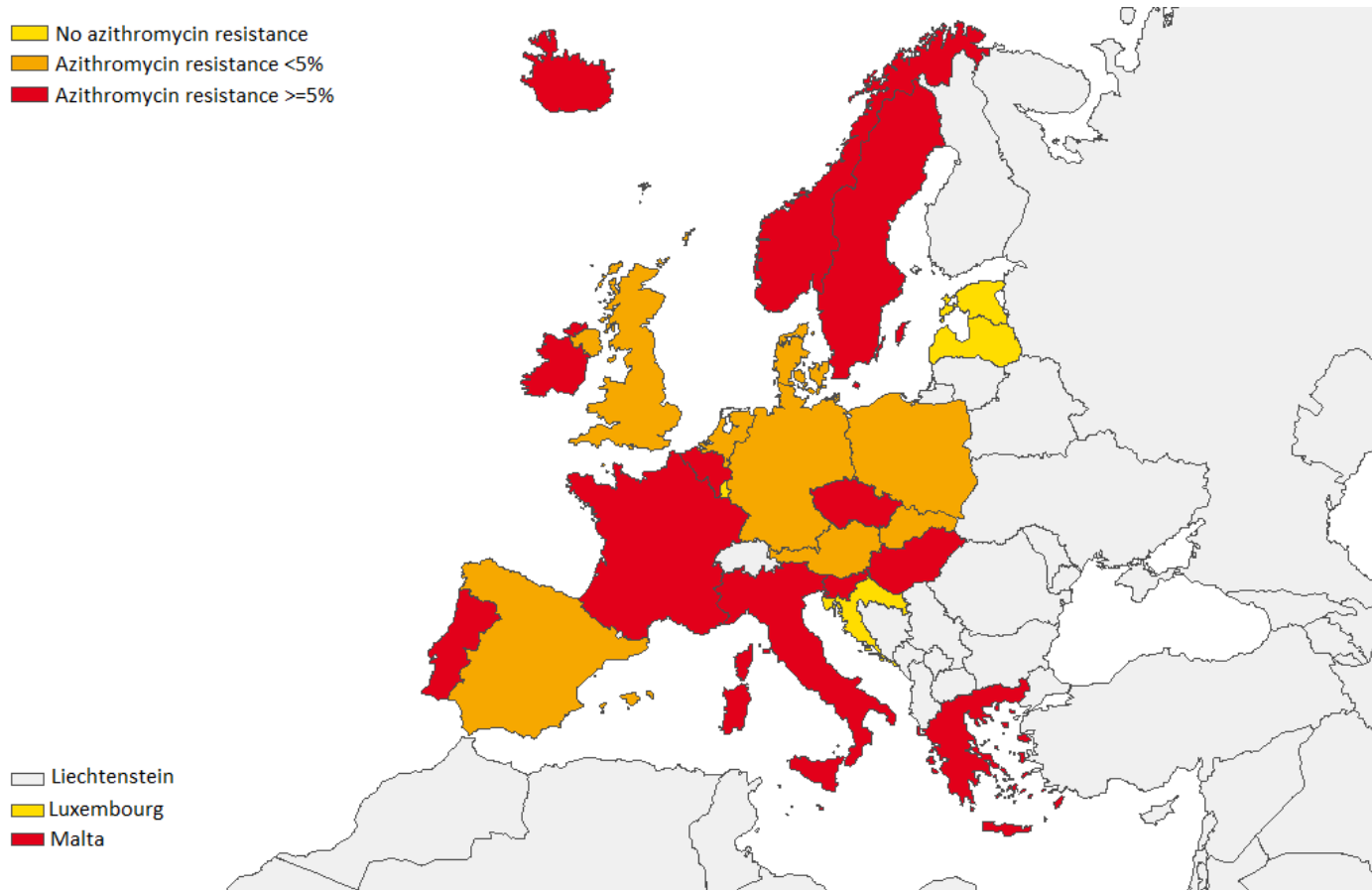
- **37% en France en 2017**
- Haut niveau de résistance, mutations enzymes cibles (gyrase)



- **Résistance aux tétracyclines: > 50%**

- **65% en France en 2017**
- Haut niveau de résistance (gène *tet*(M), élément mobile)

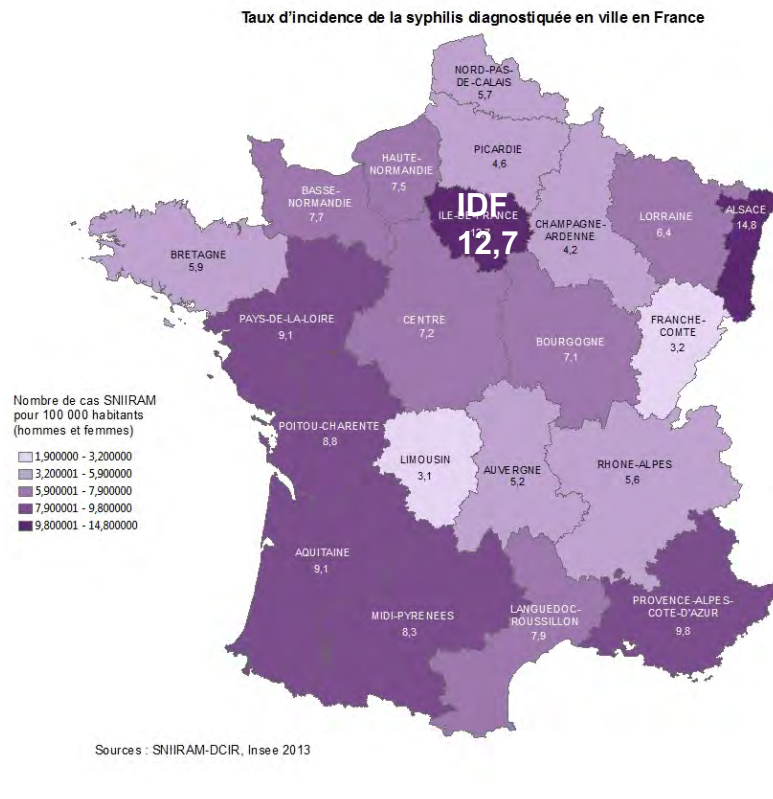
% of isolates with decreased susceptibility or resistance to azithromycin in 2016 (Euro-GASP-ECDC)



Syphilis (*Treponema pallidum*)

- France

- 10 000-20 000 cas/an
- Incidence Médecine de ville IDF 2013 : 12,7 cas /100 000 hab



Syphilis (*Treponema pallidum*)

- **Hommes+++**

HSH: 86% des cas en 2013

- **Femmes :**

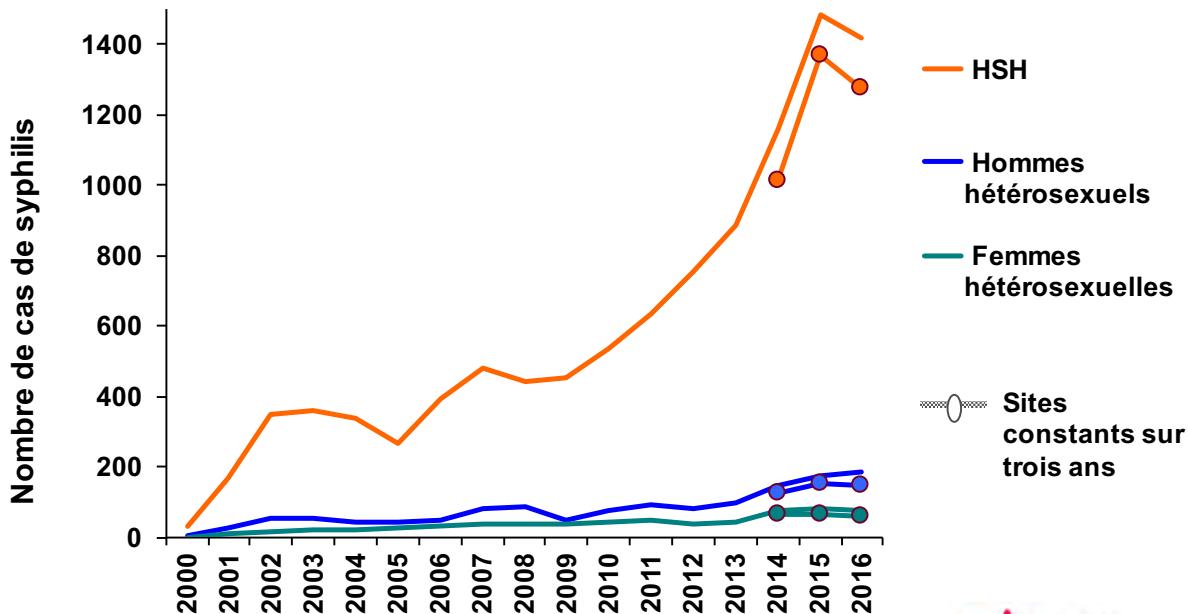
Faible prévalence

Infection sous-diagnostiquée

- **Non cultivable**

- **Sérologie +++**

TROD



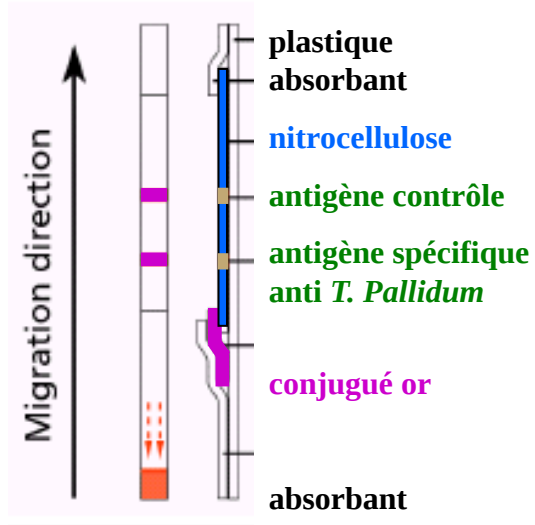
Source: Santé publique France, réseau RésIST, 2000-2016

Stratégies de dépistage

- **HAS 2007 : Test Tréponémique (TT) : TPHA, EIA, FTA**
+ **Test Non Tréponémique (TNT) : VDRL, RPR...**
- **HAS 2015 : TT Ig totales, par EIA (B20)**
 - Si positif : **TNT** (VDRL ou RPR) avec titrage (B20)



Syphilis : TROD



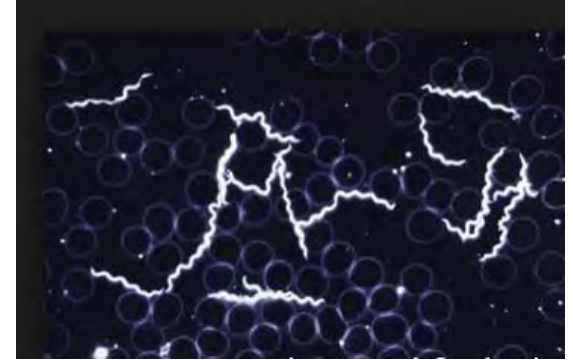
TROD syphilis= Sérologie rapide

- Anticorps dirigés (IgG+/- IgM ou IgA) contre *T. pallidum*
- Sang total ou plasma
- Performances (ANSM janvier 2016)
 - Sensibilité : 95% à 100%
 - Spécificité : 94,7% à 100%
 - VPP : 99,5% & VPN : 99.9%
- Place à trouver dans le schéma diagnostique

Syphilis : diagnostic direct

- **Microscope à fond noir**

- Bactéries spiralées de mobilité caractéristique
- Dans les 15 min
- Lecture subjective, manque de sensibilité, de spécificité (spirochètes commensaux anaux ou buccaux)



http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours_dcem1/diagnostic.htm

- **PCR**

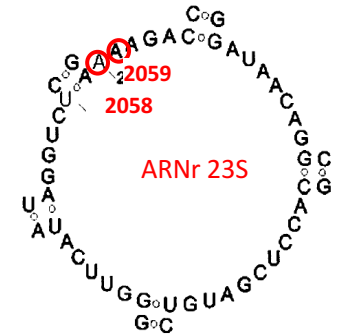
- Rentable dans les lésions primaires et secondaires érosives
- Mauvaise sensibilité dans le sang et le LCR
- Bonne sensibilité sur les pvts biopsiques et de naissance (syphilis congénitale)

Treponema pallidum : résistance aux antibiotiques

- **Pas de résistance au traitement de 1ère intention: Benzathine penicillin G (WHO 2016, IUSTI Europe 2014, MMWR 2015)**



- **Alternatives:** doxycycline ou azithromycine
 - Pas de résistance clinique aux tétracyclines
 - **Résistance très fréquente à l'azithromycine**
 - Mutations ribosomiques (ARNr 23S)
 - **France (82% en 2017)**, UK (66%), Australia (84%), USA (80%) China (100%)



Dépistage coordonné des IST par population et infections à risque

- **Population générale**

- TAAN pour *C. trachomatis* par auto-prélèvement vaginal chez les femmes <25 ans et 1^{er} jet urines les hommes <30 ans, renouvelé tous les ans en cas de rapports sexuels non protégés avec un nouveau partenaire
- PCR duplex CT/NG ->dépistage gonocoque

- **Travailleurs du sexe**

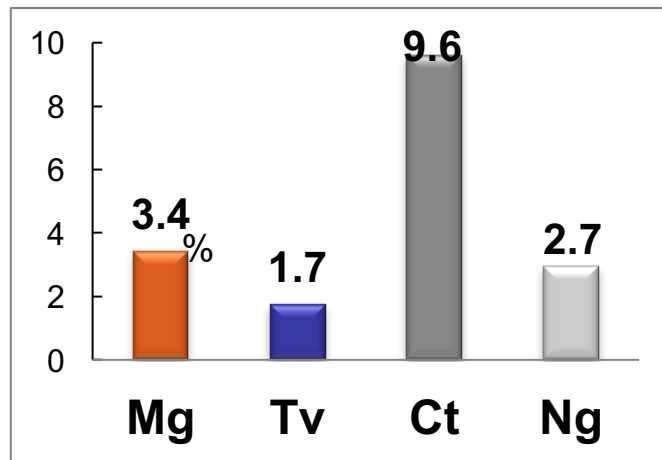
- En complément des recos ci-dessus : dépistage de la syphilis tous les ans

- **HSH et transgenre à risque élevé**

- Dépistage de la syphilis au moins 1 fois par an
- Recherche de gonocoque, chlamydia par prélèvement urinaire, anal et pharyngé tous les 3 mois

Mycoplasma genitalium

- **Bactérie responsable d'IST :**
 - 15-20% des UNG
 - 10-30% cervicites
 - 2-20% salpingites
- **Prévalence en France 2014-2015**
- **Diagnostic par TAAN uniquement**
- **Trousses commercialisées sur plateformes haut-débit**
(Hologic, Roche, Abbott)
- **Diagnostic moléculaire de la résistance aux macrolides**
Tests commercialisés (TAAN)



Urogenital specimens submitted for *C. trachomatis* (Ct) and *N. gonorrhoeae* (Ng) detection (2594 patients)

Pereyre Clin. Microbiol. Infect. 2016

Diagnostic de *M. genitalium*



- Diagnostic non inscrit à la nomenclature

➤ Pas de remboursement
BHN 250 = 67,5 euros



REVIEW ARTICLE

2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections

J.S. Jensen,^{1*} M. Cusini,² M. Gombert,³ H. Moi^{4,†}

¹Microbiology and Infection Control, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark

²Fondazione IROCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy

³Moscow Scientific and Practical Centre of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

⁴Oslo Clinic, Oslo University Hospital, Institute of Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway



- **All *M. genitalium*-positive test should be followed up with an assay capable of detecting macrolide resistance-associated mutations**

Detection of macrolide resistance-associated mutations

- **Amplification and sequencing of 23S rRNA**
 - Time-consuming, not adapted to routine
- **Published in-house methods**
 - **Ex : FRET real-time PCR** (Touati *et al.* J. Clin. Microbiol. 2014)
- **Commercial kits**
 - **ResistancePlus™ MG kit** (Speedx, Australia) : **multiplex real-time PCR**
 - **Detection of Mg and 5 mutations** (Le Roy, J. Clin. Microbiol. 2017)
 - **S-DiaMGRes kit** (Diagenode, Belgium)
 - **Real accurate TVMG^{RES}** (Pathofinder)
 - **Others expected**



M. genitalium : résistance aux antibiotiques

- **Tetracyclines: low eradication rate for *M. genitalium* clinically (30-40%)**
 - No acquired resistance described
- **Recommended treatment for uncomplicated *M. genitalium* infections**
 - Azithromycin 500 mg (day 1), then 250 mg (days 2-5)

DOI: 10.1111/jdv.13849

JEADV

REVIEW ARTICLE

2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections

J.S. Jensen,^{1,*} M. Cusini,² M. Gombert,³ H. Moi^{4,†}

¹Microbiology and Infection Control, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark

²Fondazione IRCOS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy

³Moscow Scientific and Practical Centre of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

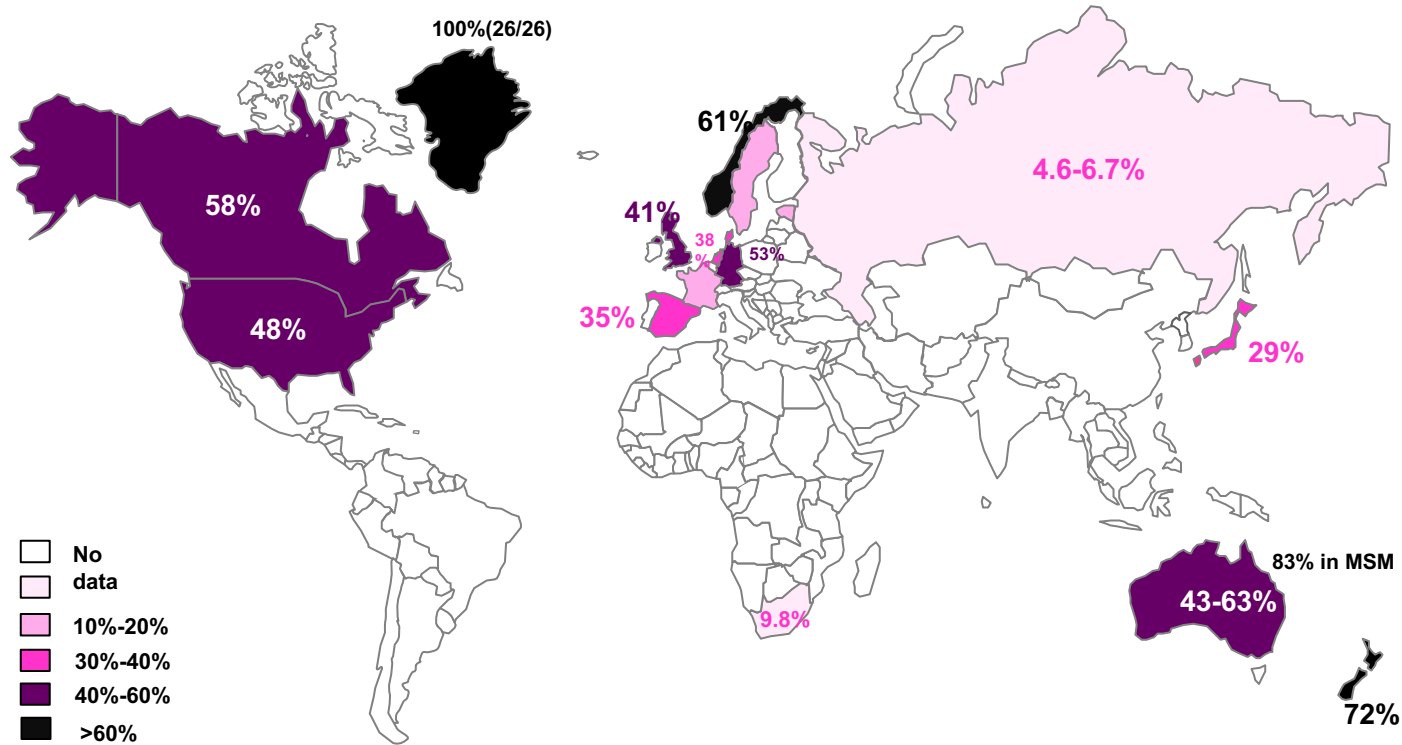
⁴Olafia Clinic, Oslo University Hospital, Institute of Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway



- **Clinical acquired resistance to macrolides**
 - By mutations in the macrolide target (23S rRNA)
 - Most likely caused by azithromycin 1g single dose



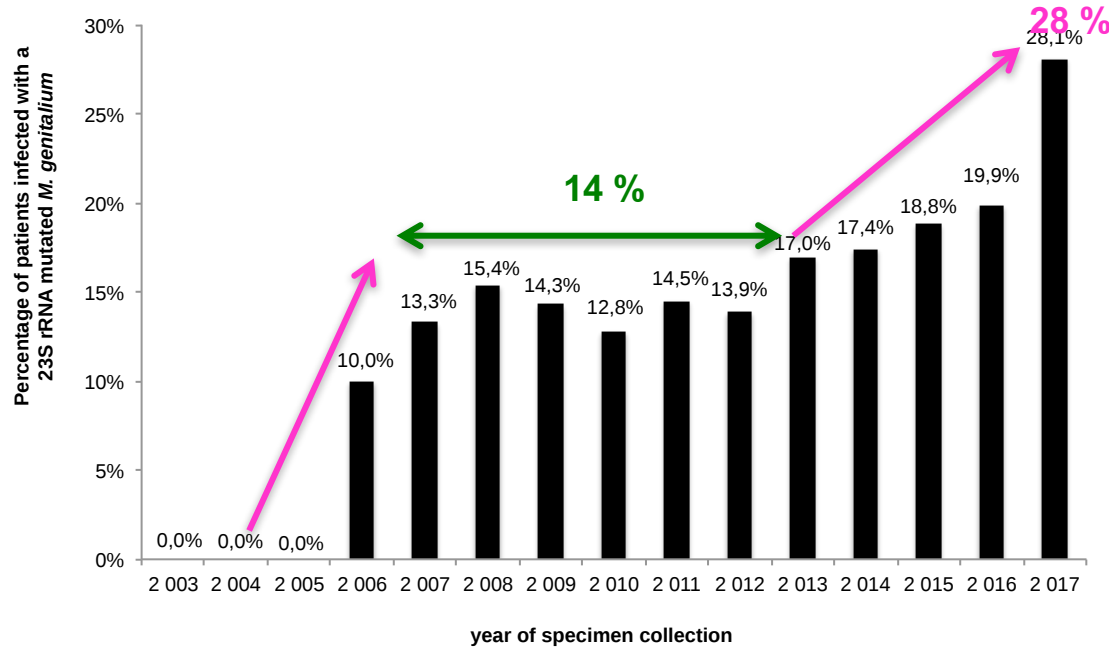
Prevalence of macrolide resistance in *M. genitalium*



Anagrus, PLoS one 2013; Tagg, J. Clin. Microbiol. 2013; Pond, Clin. Inf. Dis. 2014; Salado-Rasmussen, Clin. Inf. Dis. 2014; Kikuchi, J. Antimicrob. Chemother. 2014; Hay, Sex. Transm. Dis. 2015; Gushin, BMC Infect. Dis. 2015; Nijhuis, J. Antimicrob. Chemother. 2015; Gesink, Can. Fam. Physician, 2016; Getman, J. Clin. Microbiol. 2016; Gossé, J. Clin. Microbiol. 2016; Shipitsina, Plos One, 2017; Basu, J. Clin. Microbiol. 2017; Tabrizi, J. Clin. Microbiol. 2017; Barbera, Sex. Transm. Dis. 2017; Dumke, Diagn Microbiol infect Dis, 2016.

Macrolide resistance in *M. genitalium*

Bordeaux, France



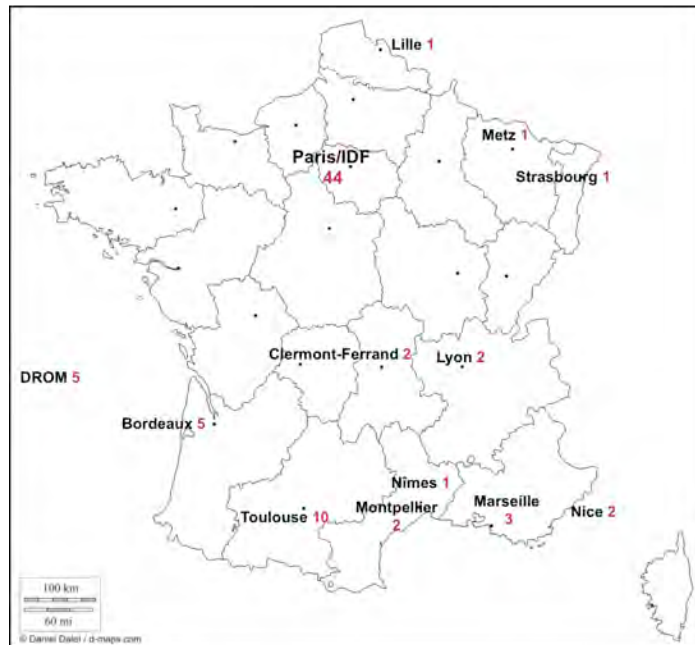
Macrolide resistance in France

November 13-19, 2017



Bordeaux

- 73 patients from 22 centers
- Prevalence of resistance : 42.6%
 - No difference between Ile de France and out of Ile de France centers
 - A2059G > A2058G >> A2058T/C, A2059C



👉 To be confirmed in 2018 in a larger population

M. genitalium : résistance aux antibiotiques

- **Recommended treatment for complicated and macrolide-resistant *M. genitalium* infections**
 - Moxifloxacin 400 mg od 7-10 days
(Jensen et al. JEADV 2016)



- **Emergence of clinical acquired resistance to MXF**
 - by mutations in the FQ target (topoisomerase IV)
 - both *in vitro* and clinical resistance
 - ranging from 4.5% (UK) to 47% (Japan)
 - **7.5%** in France in 2017



Bordeaux

NEWS

[Home](#)[Video](#)[World](#)[UK](#)[Business](#)[Tech](#)[Science](#)[Stories](#)[Entertainment & Arts](#)[Health](#)Health

Emerging sex disease MG 'could become next superbug'

By Michelle Roberts

Health editor, BBC News online

🕒 11 July 2018



Share

Conclusion

- Importance des TAAN : CT, NG, MG
- Biologie à venir
 - PCR multiplexes, syndromiques
 - Place des TROD et de la PCR délocalisée dans les CeGIDD
- Dépistage coordonné des IST, en fonction des populations et des risques +++
- IST bactériennes (gonocoque, *M. genitalium*) intraitables ?

Remerciements

CNR des IST bactériennes



- ST Louis Hospital and University Paris VII, **B. Berçot**



- Cochin Hospital, **N. Dupin**



- Bordeaux University hospital and University of Bordeaux,
B. de Barbeyrac, O. Peuchant
S. Pereyre

