



Dépistage et diagnostic 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**



INRA
SCIENCE & IMPACT

Epidémiologie des IST dans le monde

OMS 2012 : 357 millions nouveaux cas d'IST curables

- **Chlamydia** 131 millions
- **Gonorrhée** 78 millions
- **Syphilis** 5,6 millions
- Plus d'un million d'IST acquises chaque jour

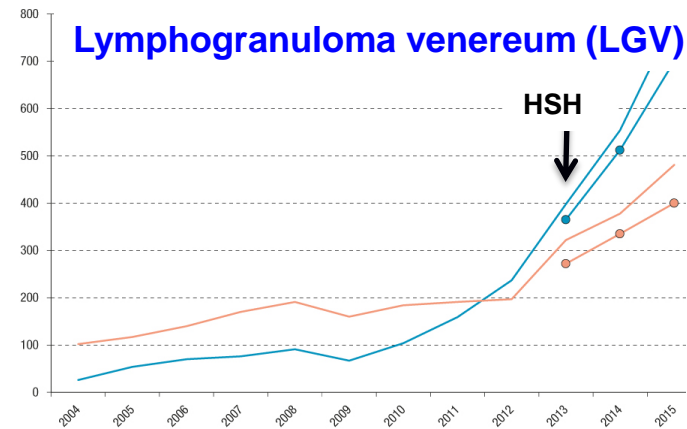
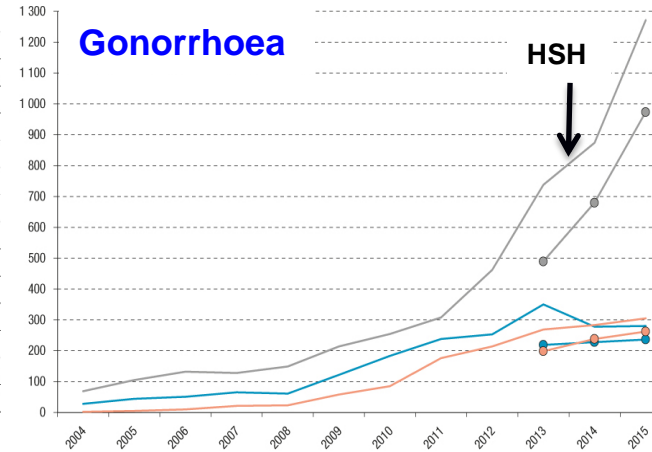
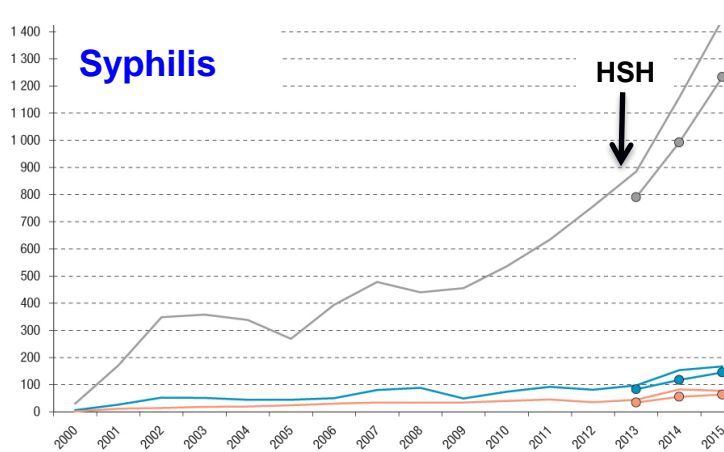
- IST émergente : ***Mycoplasma genitalium***, en augmentation

- ☞ Améliorer leur diagnostic : **nouveaux outils**
- ☞ **Résistance aux antibiotiques** pour le gonocoque et *M. genitalium*
 - impact sur leur traitement et leur contrôle



Newman et al PLoS One 2015

Prévalence des IST bactériennes en France



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

Incidence de l'infection à *C. trachomatis* et à *N. gonorrhoeae* en 2016

DONNÉES DE SURVEILLANCE



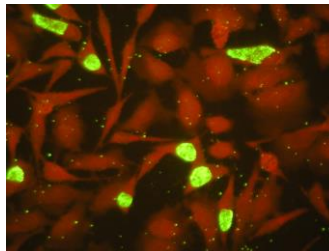
ESTIMATIONS NATIONALES ET RÉGIONALES
DU NOMBRE DE DIAGNOSTICS D'INFECTIONS
À CHLAMYDIA ET À GONOCOQUE EN FRANCE EN 2016

X 3 en 4 ans

- **267 097 cas *C. trachomatis* soit 491/100 000 hab de + 15 ans**
- **49 628 cas gonocoque soit 91/100 000 de + 15 ans**

Chlamydia trachomatis : diagnostic

- Intracellulaire obligatoire



- 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)

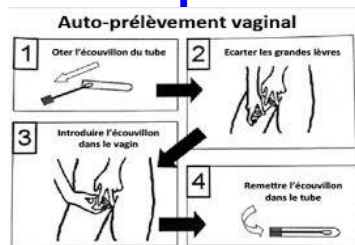
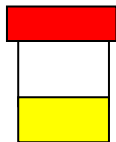
- **Sérologie (EIA, IF)**

- pour séquelles d'infection génitale haute et LGV



Chlamydia trachomatis : diagnostic

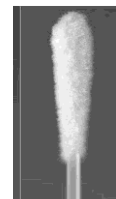
- **Echantillons non invasifs++ pour TAAN**



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+



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

Neisseria gonorrhoeae : diagnostic direct uniquement



Examen direct

Rapide
Sensible pour les urétrites
Peu sensible pour les PV



Culture

> 2 jours
Peu sensible (50-70%)
Urines 1^{er} jet ou PU
Prel cervico-vaginal
Antibiogramme ++
Sujets symptomatiques



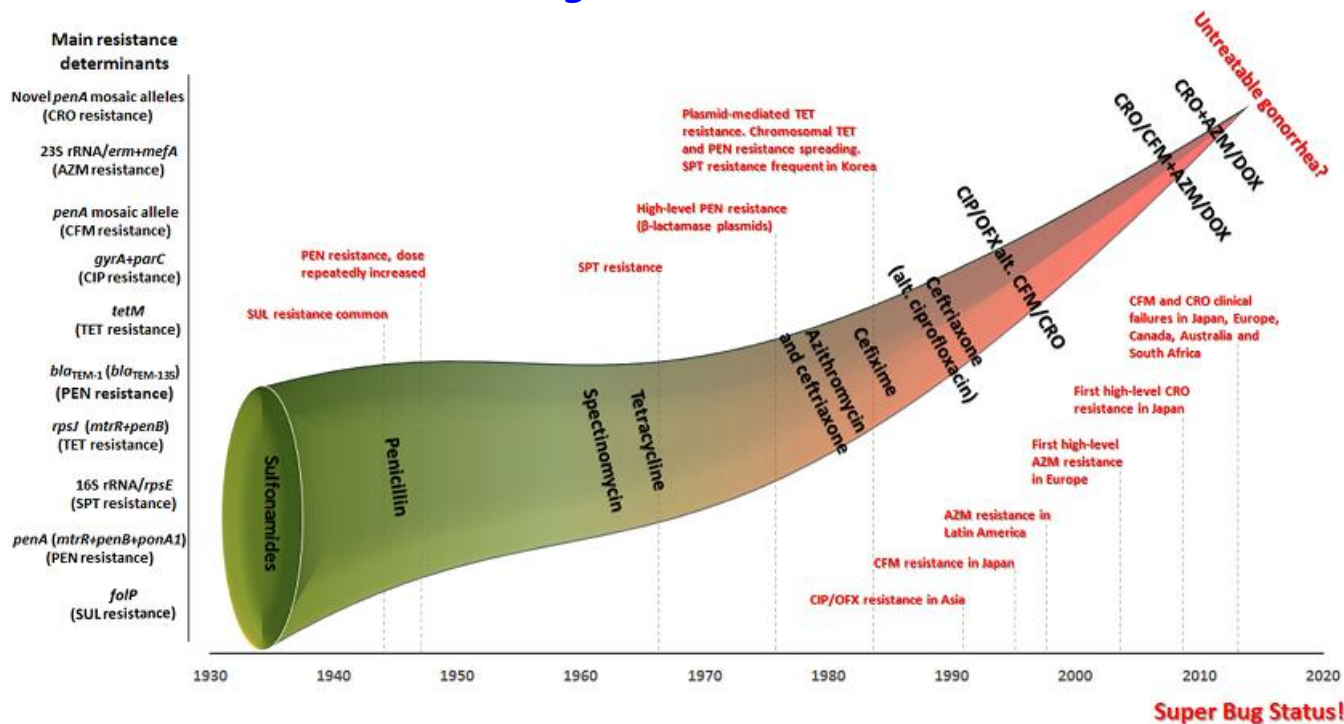
TAAN

Très sensible (>95%) et spécifique,
Duplex CT/NG (nomenclature 8 juin 2018)
Urines 1^{er} jet
Auto-prélèvement vaginal
Ecouillons anal, pharyngé
Sujets asymptomatiques

Tests immunologiques rapides peu sensibles, non recommandés.

N. gonorrhoeae : résistance aux antibiotiques

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



N. gonorrhoeae : résistance aux antibiotiques

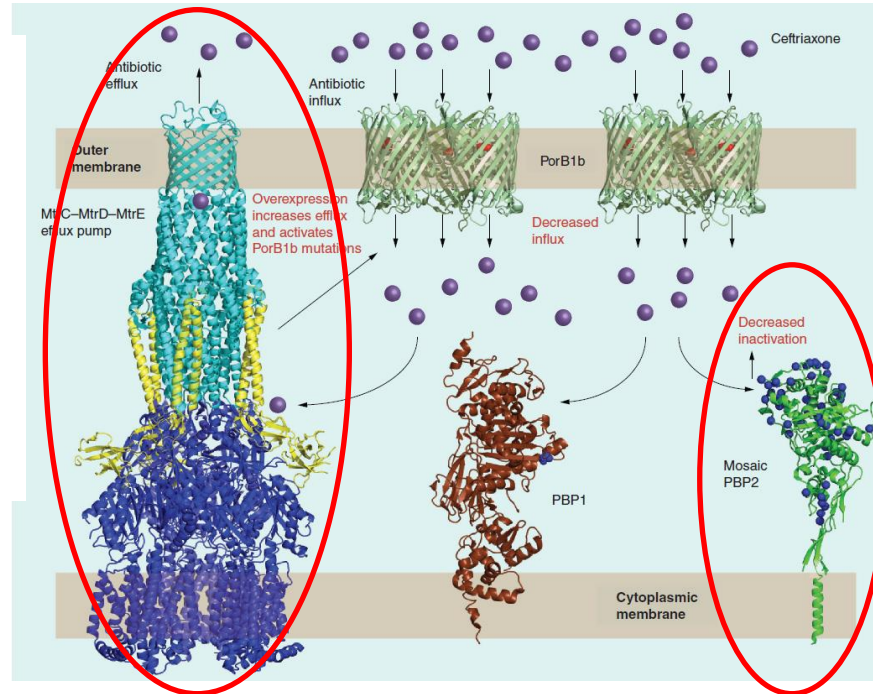
- **Résistance aux céphalosporines 3^{ème} génération : 0,7% de souches I+R cefixime, une souche ceftriaxone-R en France en 2017**

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**

- Bas et plus rarement 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)

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)

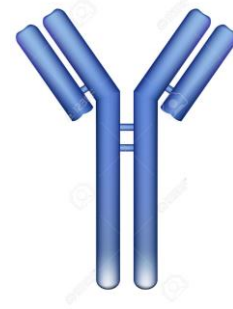


http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours_dcem1/diagnostic.htm

- **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)

Sérologie



- **Apparition des anticorps 30 à 40 j après la contamination**
 - Retardé si traitement antibiotique
- **Distinction impossible avec les anticorps des tréponématoses non vénériennes (Pian, Bejel, Pinta)**
- **Deux groupes selon l'antigène utilisé**
 - **Tests non tréponémiques (TNT) : (Ag cardiolipidique ubiquitaire)**
 - ✓ VDRL (Pb de spécificité : faux positifs, suivi thérapeutique+++)
 - **Tests à antigènes tréponémiques (TT)**
 - ✓ TPHA
 - ✓ ELISARestent le plus souvent positifs chez un patient guéri
 - ✓ **Western blot**

Syphilis : sérologie

- **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)

HAS

HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

Modification de la Nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de recherche du *Treponema pallidum* (bactérie responsable de la syphilis)

Mai 2015

8 juin 2018

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Texte 17 sur 127

Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

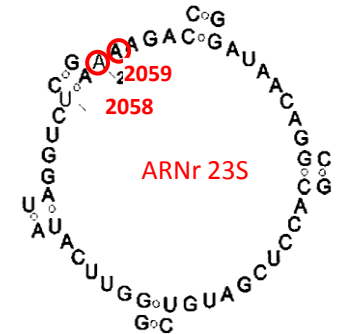
MINISTÈRE DES SOLIDARITÉS ET DE LA SANTÉ

Décision du 24 janvier 2018 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie

Modification nomenclature : JO du 8 juin 2018

Treponema pallidum : traitement et 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%)



Stamm, LV, Microbial Cell, 2016; Stamm LV, et al. Antimicrob Agents Chemother 2000; Read P et al, J Clin Microbiol. 2014; Grimes M, et al Sex. Transm. Dis. 2012; Lukehart SA, N. Engl. J. Med. et al. 2004; Tipple C, et al. Sex. Transm. Infect 2011; Chen XS, et al Clin. Microbiol. Infect. 2013; Dupin N, French National Center for syphilis report, 2017.

Mycoplasma genitalium

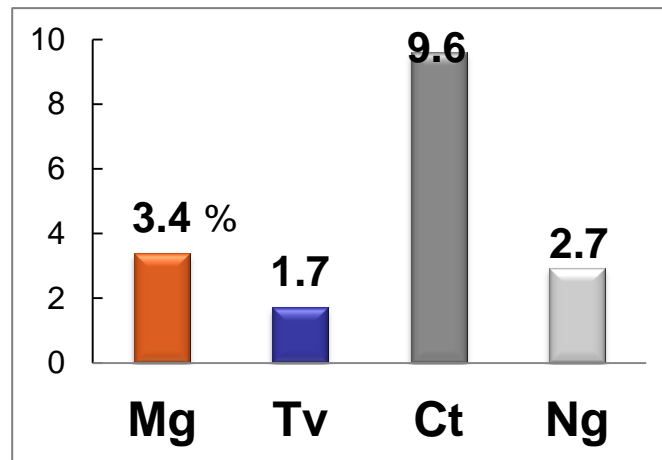
- **Bactérie responsable d'IST :**

- 15-20% des UNG
- 10-30% cervicites
- 2-20% salpingites

- **Prévalence en France 2014-2015**

- **Diagnostic par amplification d'acides nucléiques**

- **Traitement 1^{ère} intention par les macrolides (azithromycine)**



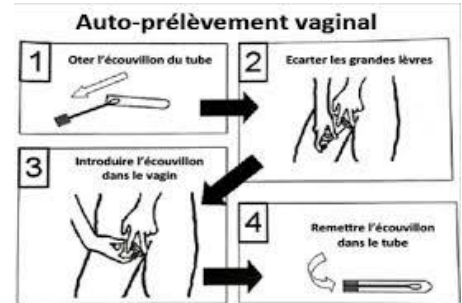
Urogenital specimens submitted for *C. trachomatis* (Ct) and *N. gonorrhoeae* (Ng) detection (2594 patients)

Pereyre Clin. Microbiol. Infect. 2016



Que prélever?

- **Homme** : 1er jet d'urine > écouvillonnage urétral
- **Femme**: Ecouvillonnage vaginal > col > 1^{er} jet d'urine
- **Ecouvillonnage anal** : HSH, femme à risque
 - ✓ Non validé par certains kits



Diagnostic de *M. genitalium*

- Pas de sérologie
- Culture extrêmement fastidieuse
 - Pas d'antibiogrammes, pas de CMI
- Tests d'amplification génique: PCR, TMA
 - Trousses commercialisées sur plateformes haut-débit (Hologic, Roche, Abbott)
 - Monoplex et multiplex
- 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. Gomberg,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

⁴Olafia 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**



Antibiotic resistance in *M. genitalium*

- **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. Gomberg,³ H. Moi^{4†}

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

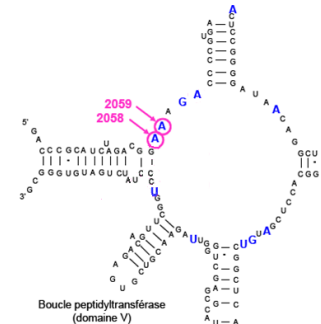
²Fondazione IRCOS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy

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

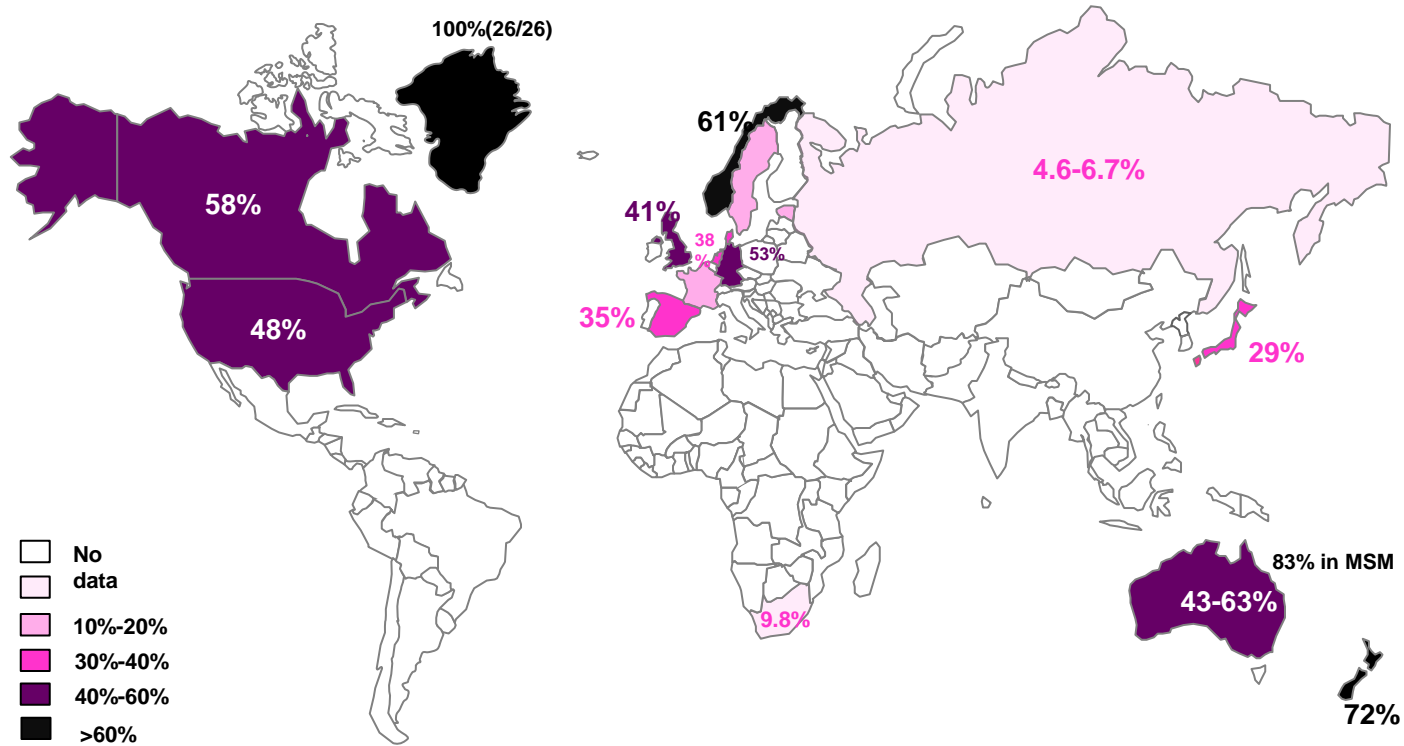
⁴Olafta Clinic, Oslo University Hospital, Institute of Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway



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

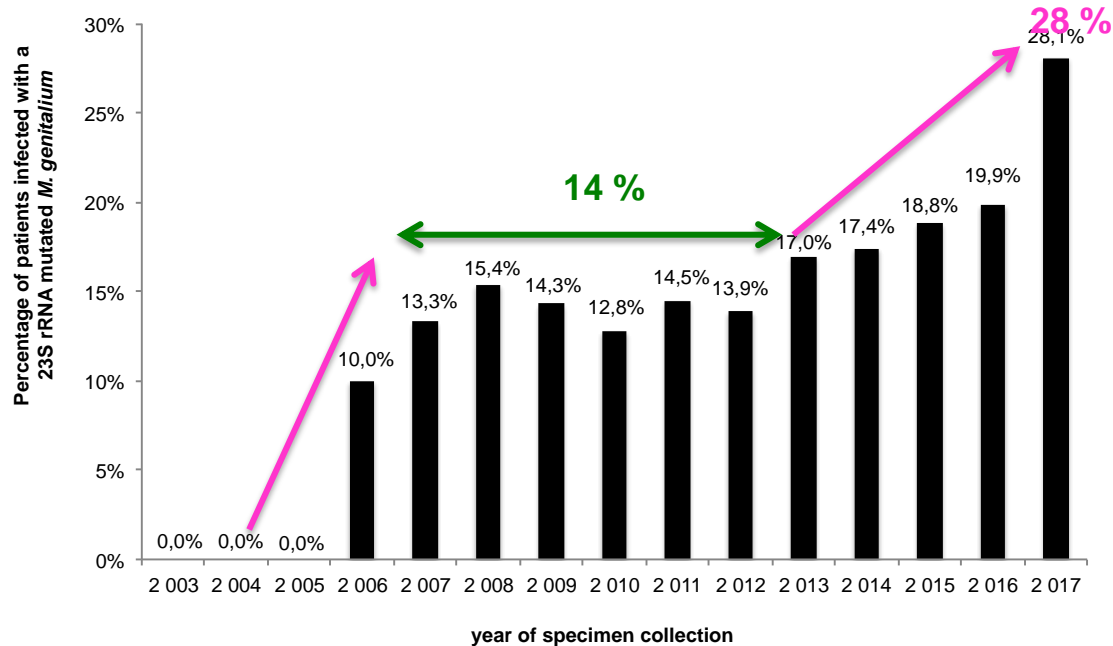


Prevalence of macrolide resistance in *M. genitalium*



Anagnrius, 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



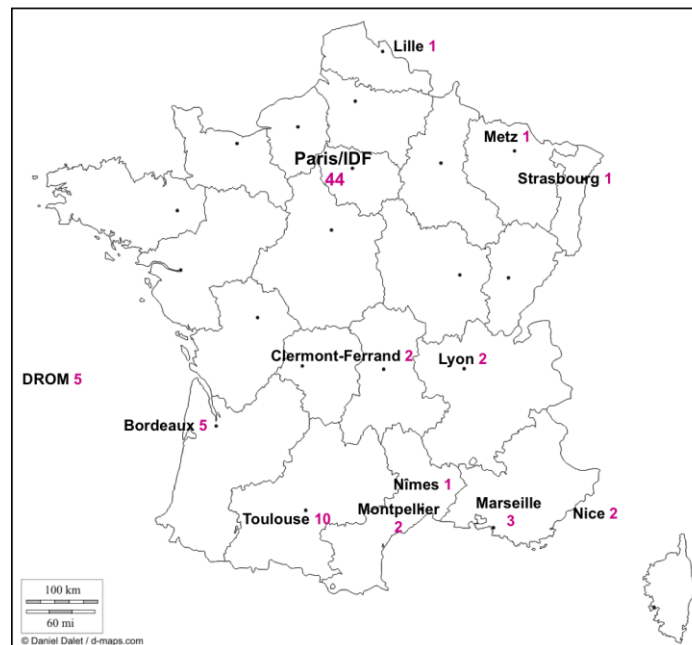
Macrolide resistance in France

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



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

