



Actualités 2019 sur les tests de dépistage et la résistance ?

Cécile Bébéar

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



université
de **BORDEAUX**



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

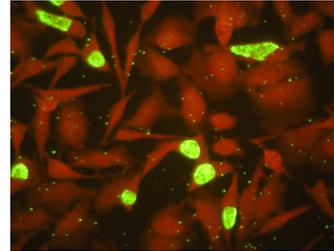


X 3 en 4 ans

- **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)

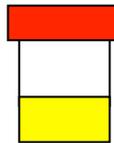
- **Sérologie (EIA, IF)**

- 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
- **Si échantillon anal positif > génotypage**
 - Souche L = traitement prolongé
 - Génotypage au CNR : symptomatique ou VIH+



Flocked swab



Bordeaux

Recommandations HAS 2018

Lieux	Population	Modalités
CeGIDD CPEF Centres IVG Cabinets libéraux Médecine G, Gynécologie, SF	<p>1. Dépistage systématique des femmes âgées de 15-25 ans y compris les femmes enceintes</p> <p>2. Dépistage ciblé des :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hommes sexuellement actifs avec FDR - Femmes sexuellement actives >25 ans avec FDR - Femmes enceintes consultant pour IVG 	<p>1. Par TAAN sur auto-prélèvements ou cliniciens</p> <p>2. Rythme :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Annuel si CT- - 3-6 mois si CT+ - 3 mois pour les HSH <p>3. Pas de test de contrôle systématique (sauf femme enceinte)</p> <p>4. TT partenaire par la personne infectée</p>

Réévaluation de la stratégie de dépistage des infections à *Chlamydia trachomatis*, HAS, septembre 2018

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
En cours de révision à la CHAB...

JO, décret du 5 octobre 2011 modifié le 8 juin 2018

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



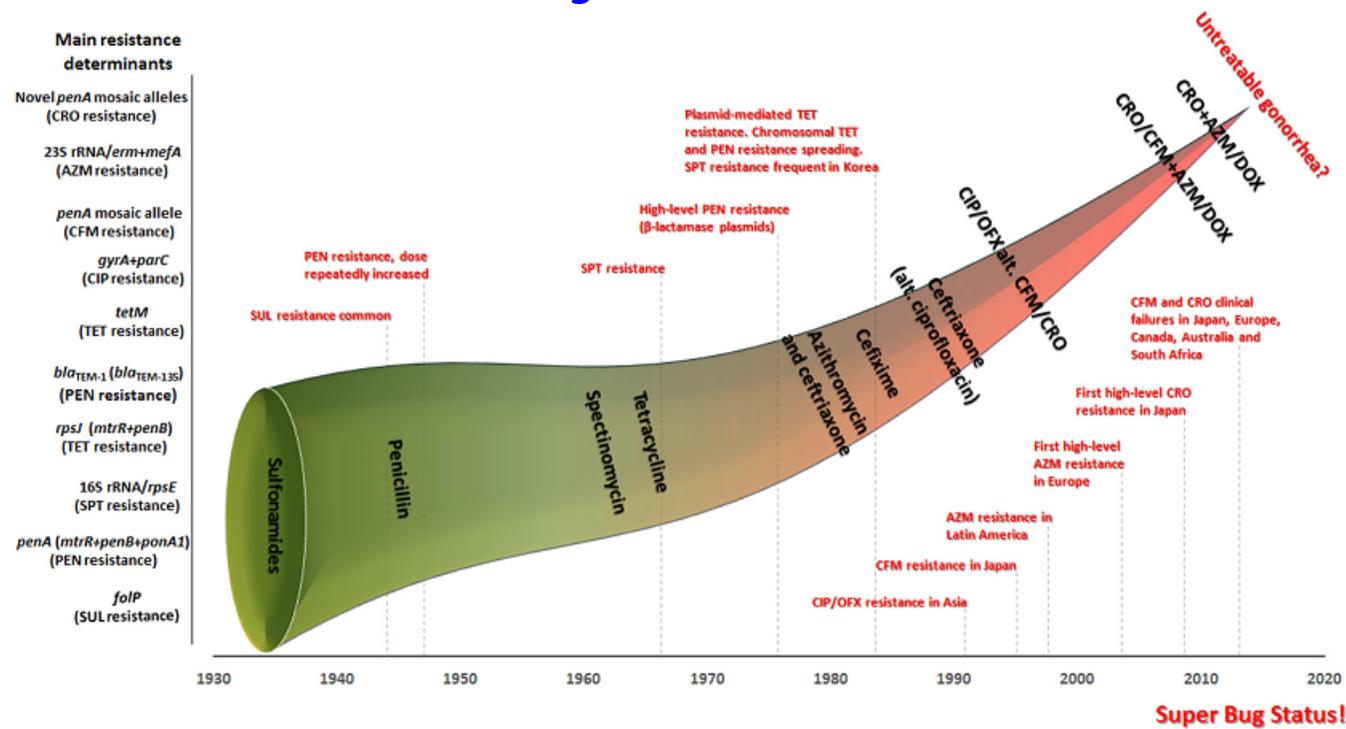
TAAN

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 : 0,3% de souches R cefixime, aucune souche ceftriaxone-R en France en 2018**

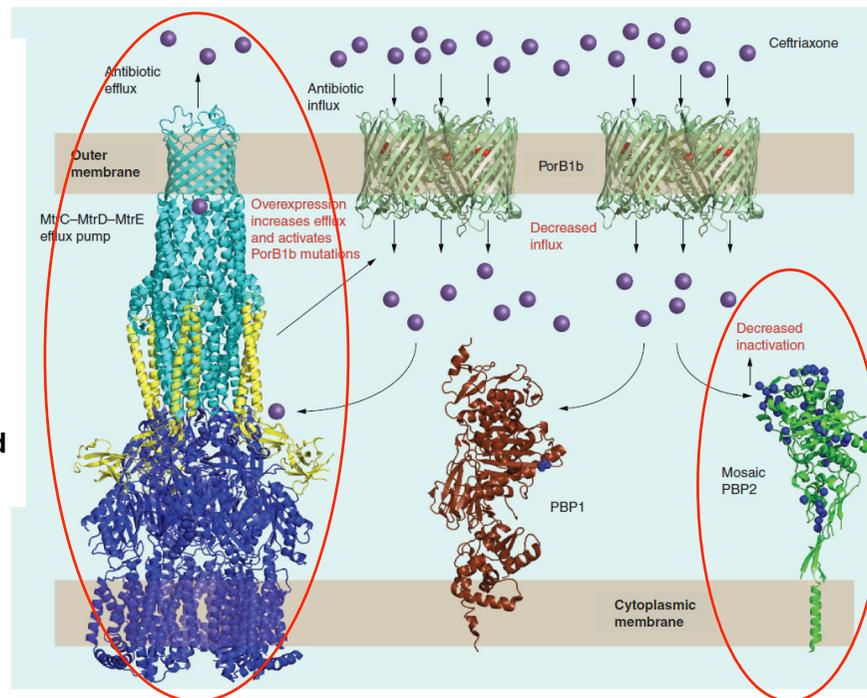


Mosaic *penA* gene

Alteration of PBP2, the lethal target for ESCs

Hyperexpression of the MtrCDE efflux pump

Enhanced efflux & decreased influx of ESCs



Unemo et al, Future Microbiol. 2012

***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%

- **6,5% - 17,3% en fonction des réseaux en France en 2018**

- Bas et plus rarement haut niveau de résistance, mutations ribosomiques (ARNr 23S)

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

- 47% - 55% en fonction des réseaux en France en 2018**

- Haut niveau de résistance, mutations enzymes cibles (gyrase)



Saint Louis

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

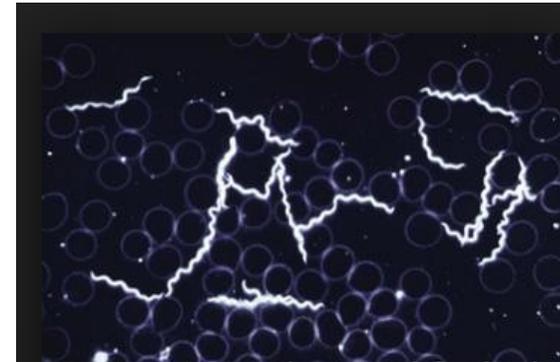
- **47,3 % - 63,8% en fonction des réseaux en France en 2018**

- 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)

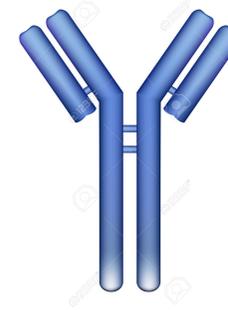


http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours_dcem1/diagnostic.htm

- **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
 - ✓ ELISA
 - Restent 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

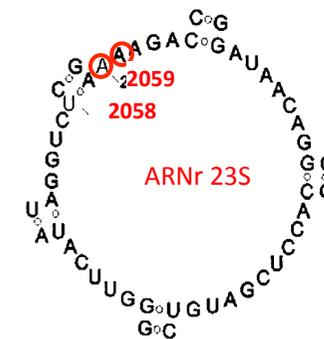
Modification nomenclature : JO du 8 juin 2018

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 (86,4% en 2018)**, 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

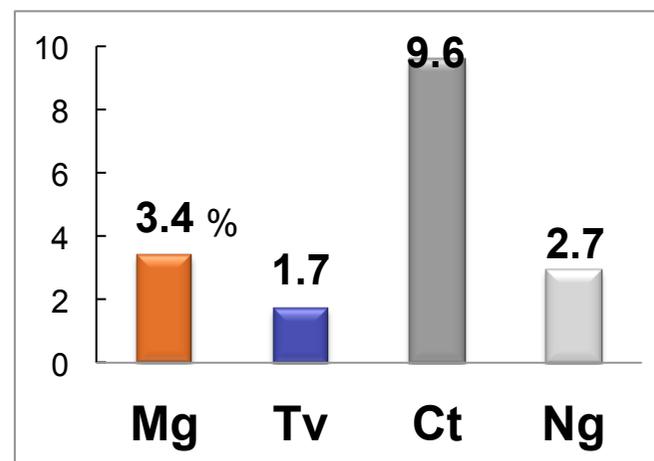
- **Prevalence**

- 1-3% population générale
- 4-38% population risque d'IST

- **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

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 IRCCS 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

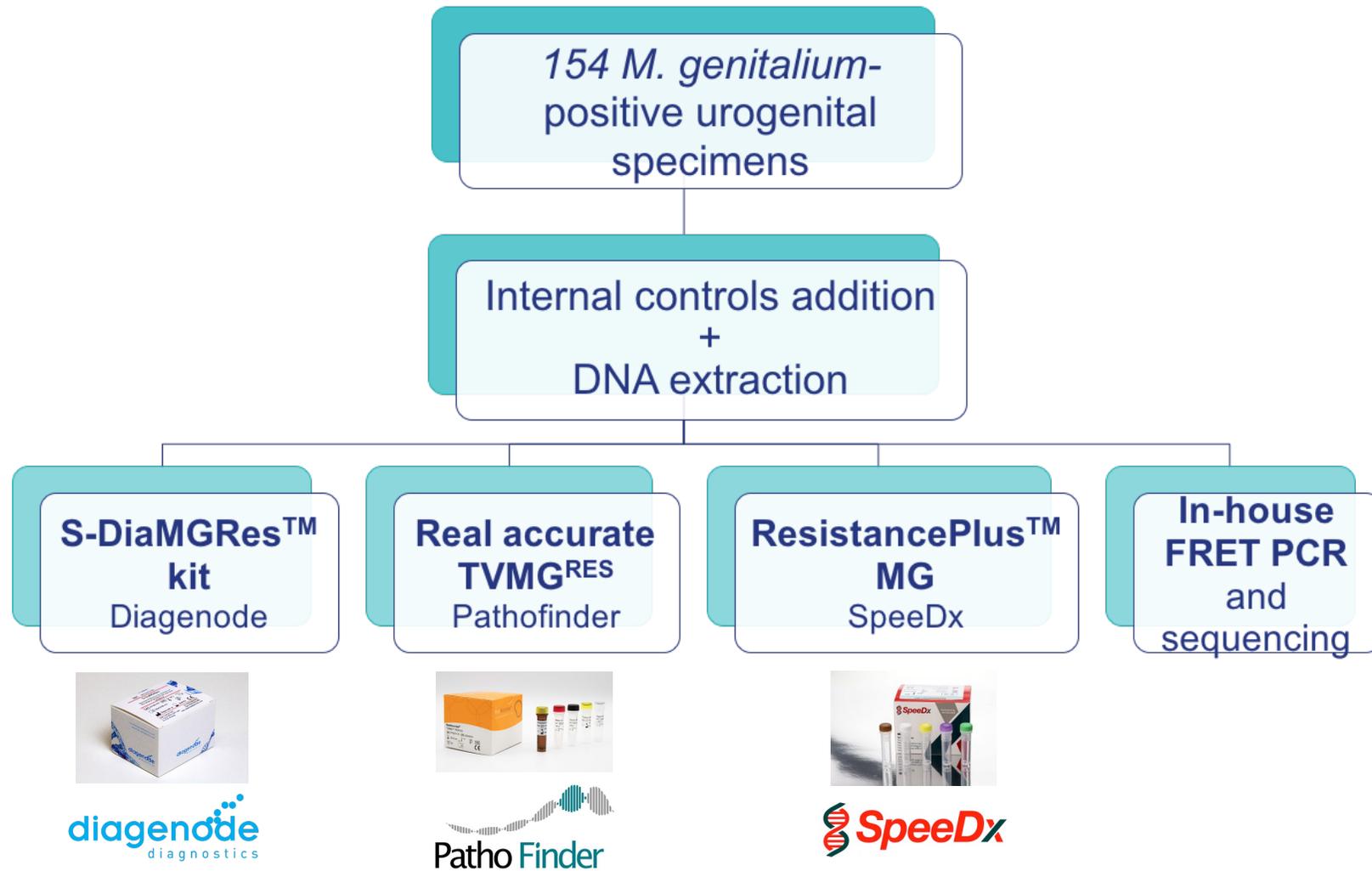


- **All *M. genitalium*-positive test should be followed up with an assay capable of detecting macrolide resistance-associated mutations**

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**





Comparison of commercial kits for detection of macrolide resistance in *M. genitalium*

Assays	23S rRNA mutation	23S rRNA FRET PCR + Sequencing		Sensitivity % [CI]	Specificity % [CI]
		Mutated	WT		
S-DiaMGRes™ Diagenode	Present	80	2	100 [95.4-100]	97.3 [90.7-99.3]
	Absent	0	72		
Real Accurate TVMG^{RES} Pathofinder	Present	76	2	95.0 [87.8-98.0]	97.3 [90.7-99.3]
	Absent	4	72		
ResistancePlus™ MG Speedx	Present	80	4	100 [95.4-100]	94.6 [86.9-97.9]
	Absent	0	70		

- 👉 All the kits allow the detection of *M. genitalium* and 4-5 macrolide resistance-associated mutations.
- 👉 Launch of 3 sensitive and specific commercial kits useful to guide the choice of therapy.

Macrolide resistance in France

September 15 - October 15 2018



- **42.6% resistance in 2017 in France**
- **43% resistance in 2018 in France**
 - 270 patients (60% M, 40% F)
 - MR for 58.8% H vs 18.5% for F ($p < 0.001$)
 - MR for 49.3% patients HIV(+) vs 18.7% for patients HIV(-) ($p < 0.001$)
 - A2059G > A2058G >> A2058T/C



Conclusion

- **Importance des TAAN : CT, NG, MG**
- **Biologie à venir**
 - **PCR multiplexes, syndromiques**
- **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. Be**



- Cochin Hospital, **N. Dupin**



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

