

Rapport d'activité 2011

CNR des Gonocoques

Laboratoire de Biologie Médicale

Institut Alfred Fournier

Dr Patrice SEDNAOUI

Dr Agathe GOUBARD

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION	3
I.1. RAPPEL DES MISSIONS ET OBJECTIFS MAJEURS DU CNR EN TERME DE SANTE PUBLIQUE :	3
I.2. RESUME DE L'ACTIVITE DE L'ANNEE 2011	4
I.3. DESCRIPTIF DE L'EQUIPE DU CNR.....	5
I.4. DESCRIPTIF DES LOCAUX ET DE L'EQUIPEMENT DU CNR.....	6
II. ACTIVITES D'EXPERTISE	7
II.1. CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	7
II.2. ACTIVITES D'EXPERTISE DU CNR EN 2011	9
III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE	10
III.1. SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION ET DES CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS	10
III.2. SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DES AGENTS PATHOGENES AUX ANTI-INFECTIEUX	15
III.3. DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPEES ET DES PHENOMENES ANORMAUX	25
III.4. CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX, EN PARTICULIER EUROPEENS	25
III.5. ENQUETES OU ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE.....	25
AUCUNE ENQUETE OU ETUDE PARTICULIERE N'A ETE MENEES PAR LE CNR EN 2011. LE CNR A TOUTEFOIS COLLABORE AVEC LE DR UNEMO DU LABORATOIRE USÖ POUR L'ETUDE DE LA SOUCHE RESISTANTE AUX CEPHALOSPORINES ISOLEE EN 2010.....	25
IV. ALERTE	26
IV.1. PROCEDURES D'ALERTE DE L'INVS ET DE LA DGS.....	26
IV.2. SIGNALEMENTS ET/OU ALERTES DE L'ANNEE 2011	26
PAS DE SIGNALEMENTS ET/OU D'ALERTE EMIS A L'INVS CONCERNANT DES SOUCHES DE GONOCOQUE PARTICULIERES OU DES INFECTIONS TOUCHANT DES POPULATIONS PARTICULIERES. LE CNR EST ACTUELLEMENT VIGILANT SUR LES GONOCOCCIES OCCULAIRES DU NOUVEAU NE, CAR, DEPUIS 2010, LA PROPHYLAXIE N'EST PLUS SYSTEMATIQUE. TOUTEFOIS, AUCUNE AUGMENTATION DES CAS N'EST POUR L'HEURE A SIGNALER.	26
IV.3. ANALYSE DES TENDANCES ET DU FONCTIONNEMENT DU SYSTEME.....	26
V. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	26
V.1. ENSEIGNEMENTS, FORMATIONS, ACCUEIL DE STAGIAIRES.....	26
V.2. GUIDES ELABORES.....	27
V.3. MODALITES DE DIFFUSION DES DONNEES	27
V.4. ACTIVITE DE CONSEIL AUX PROFESSIONNELS	28
V.5. LISTE DES ACTIVITES D'EXPERTISE.....	28
VI. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR.....	29
VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....	29
VII.1. PUBLICATIONS NATIONALES	29
VII.2. PUBLICATIONS INTERNATIONALES.....	29
VII.3. COMMUNICATIONS NATIONALES.....	30
VII.4. COMMUNICATIONS INTERNATIONALES	30
VII.5. CONFERENCES SUR INVITATIONS	30
VIII. PROGRAMME D'ACTIVITES 2012-2013	30
➤ CONTRIBUTUER A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE.....	31
➤ DETECTER DE NOUVEAUX PHENOTYPES DE RESISTANCE EN CONTRIBUTANT A L'IDENTIFICATION DES MECANISMES DE RESISTANCE	32
➤ DEVELOPPER LES TECHNIQUES DE TYPAGE DES SOUCHES DE N. GONORRHOEAE	33

I. INTRODUCTION

Depuis la fin des années 1990, les IST en général et la gonococcie en particulier sont à nouveau en progression. Le nombre d'isolements de gonocoques (par culture et amplification génique) a beaucoup progressé durant la décennie 2000-2010 et cette tendance s'est confirmée au cours de l'année 2011. Cette pathologie affecte aussi bien les hommes que les femmes et toutes les régions de France métropolitaine sont concernées la recrudescence du nombre de cas, ce qui rend la surveillance épidémiologique nationale des plus importantes.

Par ailleurs, depuis l'apparition des premières résistances aux antibiotiques dans les années 1970, de nouveaux mécanismes de résistance n'ont cessés de faire leur apparition pour aboutir à des souches multi-résistantes dont la première a fait son apparition en France en 2010.

Durant l'année 2011, aucune souche aussi résistante n'a été identifiée mais il est indispensable de continuer la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques.

1.1. Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR en terme de santé publique :

- Isolement, identification, sérotypage, génotypage et étude de la sensibilité à différents antibiotiques (céfixime, ceftriaxone, cirpofloxacin et spectinomycine) de toutes les souches de gonocoque adressées par les laboratoires du réseau RENAGO, et d'autres laboratoires dans des cas particuliers (résistance aux antibiotiques, infection systémique...)
- Participation au réseau RENAGO et animation de celui-ci
- Constitution et entretien de la collection de souches de gonocoques
- Mise au point et développement de nouvelles méthodes de diagnostic, telles les méthodes d'amplification génique
- Alerte des autorités sanitaires (DGS, InVS), à l'exemple de l'émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques ou de l'apparition d'une souche épidémique dans une population particulière
- Activité de conseil auprès des autorités sanitaires, des médecins et des biologistes
- Participation à des groupes d'experts en France et en Europe (AFSSAPS, HAS, InVS, ECDC)
- Valorisation des travaux par des publications, articles scientifiques, guide de prescription, formation continue
- Activités de recherches et d'études en collaboration avec d'autres équipes scientifiques
- Participation à des contrôles de qualité externe

1.2. Résumé de l'activité de l'année 2011

- La recrudescence des cas de gonococcie, observée en France depuis 1998 semble continuer de progresser en 2011. En effet, même si le nombre de souches reçues par le CNR est resté stable entre 2010 (1870 souches) et 2011 (1875 souches), un nombre plus important de cas a été déclaré à l'InVS via le réseau RéNAGO (2200).
- La gonococcie reste majoritairement masculine (77%) et touche surtout les jeunes de 20 à 24 ans
- La gonococcie continue à toucher plus particulièrement certains groupes de la population à haut risque de contracter des infections sexuellement transmissibles, comme les sujets jeunes ayant de multiples partenaires, les populations défavorisées et certains homosexuels masculins à partenaires multiples
- Les infections gonococciques sont assez souvent associées à d'autres IST, notamment chez la femme (38.4% des cas contre 13.3% des cas chez l'homme). Ces co-infections mettent souvent en jeu *C. trachomatis*, mais il peut aussi s'agir de la syphilis, des *Herpes Simplex Virus I et II*, du VIH et de la Lympho-Granulomatose Vénérienne ano-rectale, notamment chez les homosexuels masculins
- La part des gonococcies anales progresse (5.9% chez l'homme et 1% chez la femme) mais les sites de prélèvements restent principalement l'urètre chez l'homme (91.5%) et le col/vagin chez la femme (92.2%)
- La résistance de haut niveau à la ciprofloxacine et à toutes les fluoroquinolones s'est stabilisée depuis 2006 mais le pourcentage de souches résistantes reste élevé (43,4 % des souches en 2011).
- Le pourcentage de souches « de sensibilité diminuée » au cefixime reste stable et faible (0,76 en 2010 et 0,66 en 2011). Contrairement à l'année précédente, aucune souche résistante aux céphalosporines de 3^e génération n'a été isolée au CNR en 2011. Cette souche reste donc pour l'instant la seule souche française (la 2^e mondiale) à présenter cette résistance, associée à une résistance chromosomique de bas niveau à la pénicilline G et à la tétracycline ainsi qu'une résistance de haut niveau à la ciprofloxacine.
- Le nombre de laboratoires participant au réseau RENAGO a légèrement diminué par rapport à 2010 (184 laboratoires au lieu de 220), ce qui complique un peu les comparaisons en valeurs absolues entre ces deux années.
- Depuis 2010, la place du dépistage par amplification génique des infections à *N. gonorrhoeae* associé au dépistage simultané de l'infection à *Chlamydia trachomatis* dans une population peu ou pas symptomatique a pris une place importante au CDAG et au CIDDIST de l'Institut Alfred Fournier et de plus en plus de centres travaillent sur ce dépistage combiné. En 2011, ces dépistages se sont encore accrus et sont effectués également sur les prélèvements hors CDAG et CIDDIST.

1.3. Descriptif de l'équipe du CNR

Le CNR est intégré dans le laboratoire de biologie médicale de l'Institut Alfred Fournier (IAF) qui est un centre de santé spécialisé dans le dépistage, le diagnostic et le traitement des IST (Association Loi 1901 reconnue d'utilité publique).

Le CNR est constitué d'une équipe qui a la maîtrise des techniques bactériologiques classiques et moléculaires pour le diagnostic des infections à gonocoques et une longue expérience des tests de sensibilité aux antibiotiques.

En collaboration avec l'InVS, il assure également l'animation et la gestion du réseau des laboratoires RENAGO qui est la trame indispensable à la surveillance épidémiologique et bactériologique des infections gonococciques.

➤ Organigramme du laboratoire de biologie médicale :

- Directeur : Dr P. Sednaoui
- Directeurs adjoints : Dr L. Monfort
Dr N. Nassar remplacée par Dr A. Goubard en juin 2011
- Techniciens qualifiés : 9 ETP
- Infirmières : 2 ETP
- Secrétaires : 3 ETP
- Aide laboratoire : 1 ETP

➤ Personnel dédié au CNR:

- Biologiste : 1/10ème ETP
- Technicienne qualifiée : 0.75 ETP

➤ Démarche qualité:

- Accréditation

Le laboratoire de l'IAF a mis en place le GBEA depuis plusieurs années et s'est inscrit dans une démarche d'accréditation du laboratoire de biologie médicale avec comme objectif d'atteindre la première phase en passant par la voie « Bioqualité ».

Nous avons aussi entamé en parallèle la mise en place de l'accréditation du CNR des gonocoques. La démarche retenue pour mettre en conformité le CNR avec la norme ISO 15189 se base sur un état des lieux des procédures et protocoles existants pour mettre en exergue leurs points faibles et établir les mesures correctives pour y remédier.

- Contrôles de qualité externes supranationaux

Le CNR participe à un contrôle de qualité externe quadri-annuel, sur la sensibilité de souches de gonocoque à différents antibiotiques et sur la recherche de gonocoque dans des échantillons cliniques. Ces contrôles sont proposés par l'European Centre for Disease (ECDC) aux Centres Experts des IST de la plupart des pays européens. Ce contrôle qualité est sous la responsabilité du Pr Catherine Ison à Colindale, Londres.

1- UK National External Quality Assessment Service for Microbiology (UK NEQAS) for genital pathogens : (4/an)

Deux échantillons humains prélevés dans un contexte d'IST sont testés pour la recherche de *N.gonorrhoeae*. Les résultats des contrôles sont basés sur :

- La détection et identification de *N. gonorrhoeae* dans un échantillon.
- L'antibiogramme S/I/R pour un panel d'antibiotiques à tester.

2- EU STI Microbiology Network : N.gonorrhoeae antimicrobial resistance quality assurance programme : (4/an)

Cinq souches OMS de *N. gonorrhoeae* sont testées pour la détermination des CMI sur un panel d'antibiotiques (Ciprofloxacine, Ceftriaxone, Cefixime, Azithromycine, Gentamicine, Spectinomycine) et recherche bêta-lactamase

3- EU STI Microbiology Network: Sentinel Surveillance of Gonococcal Antimicrobial Susceptibility : (2/an)

Dans le cadre du Projet Européen de Surveillance des IST, le CNR participe à la surveillance de la résistance aux antibiotiques de *N. gonorrhoeae* (AMR surveillance programme).

- Les CMI d'une série de 50 souches isolées par le CNR et leurs données épidémiologiques (site, sexe du patient, âge, orientation sexuelle, antécédents IST...) sont envoyées au ESSTI. Pour assurer la qualité des résultats rendus, les CMI de 7 souches de référence OMS (5 testées en début de série et deux en fin de série) sont envoyées en parallèle.

Ces données assurent une étude longitudinale, à travers 17 pays d'Europe, de la résistance aux antibiotiques de *N. gonorrhoeae*. Ceci permet d'établir et d'ajuster les stratégies thérapeutiques.

- On teste 2 séries de 55 souches par an pour 8 antibiotiques (CMI) et les résultats sont envoyés via Tessy (données biologiques et médicales).

Tous les résultats sont analysés à leur retour par les biologistes. Ils sont restitués à toute l'équipe avec mise en place d'actions correctives en cas d'inadéquation (ex : lecture CMI).

1.4. Descriptif des locaux et de l'équipement du CNR

➤ Locaux :

Le laboratoire coordonateur dispose d'un vaste laboratoire de sécurité biologique de niveau 2 qui lui permet de prendre en charge la réception et l'analyse des souches reçues dans le cadre du réseau RENAGO.

- L'ensemble des locaux du laboratoire se répartit sur environ 300 m², hors salles de prélèvements, incluant un espace dédié au CNR.
- Le CNR est situé dans le laboratoire de microbiologie.
- Sont aussi utilisés par le CNR deux pièces confinées pour la biologie moléculaire, un local pour la réception et l'enregistrement des souches et une laverie pour la stérilisation du matériel non jetable.

➤ Equipements :

Le laboratoire est équipé du matériel nécessaire à la réalisation des techniques de diagnostic microbiologique phénotypique et génotypique :

- 4 hottes de sécurité microbiologique classe B
- 3 incubateurs CO₂
- 4 microscopes,
- centrifugeuses
- système expert pour antibiogrammes (Sirscan 2000)
- thermo-cycleurs

- Automate de biologie moléculaire pour la détection combinée de *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* (Panther®GenProbe)
- 2 congélateurs à très basse température dont un a été remplacé en 2009 (conservation en double des souches de Gonocoques)
- informatique médicale et imprimantes

II. Activités d'expertise

II.1. Capacités techniques du CNR

II.1.1. Liste des techniques de référence

II.1.1.a. Techniques disponibles

➤ Techniques phénotypiques

Techniques de diagnostic

- Microscopie

Le laboratoire est équipé de tous les réactifs nécessaires à la réalisation de la coloration de Gram (coloration automatisée ou manuelle) et à la lecture des examens directs effectués sur les prélèvements ou les cultures. De plus, le CNR dispose d'une équipe expérimentée dont l'œil averti sait parfaitement reconnaître le gonocoque.

- Cultures en milieux solides et liquides

La culture du gonocoque est délicate et nécessite un savoir-faire et surtout le respect rigoureux des conditions de culture en termes d'atmosphère, d'exigences nutritives et de délai.

Le délai entre la réception de l'échantillon et la mise en culture doit être le plus court possible car la viabilité du germe en milieu de transport est limitée. Les milieux utilisés sont la gélose chocolat avec complément isovitaléx ou la gélose VCAT (Biomérieux). Les géloses sont alors incubées à 37°C dans une atmosphère humide enrichie en CO₂ (8%) pendant 18 à 24h.

La culture en milieu liquide n'est pas recommandée pour ce germe.

Techniques d'identification

- Techniques phénotypiques classiques (caractères cultureux, morphologiques et biochimiques)

a- Examen microscopique

La microscopie permet la visualisation directe du gonocoque, après coloration de Gram, par mise en évidence des diplocoques à Gram négatif « en grain de café ».

b- Culture

Les gonocoques sont des bactéries fragiles (très sensibles à la dessiccation) et exigeants.

Une atmosphère humide, enrichie de CO₂ (5-10 %) est indispensable pour la croissance.

c- Identification

Les souches sont identifiées selon la morphologie des colonies et leurs caractéristiques biochimiques : oxydase positif (test à l'oxydase), glucose positif, mais maltose et saccharose négatifs (Api NH et rapid NH).

Techniques d'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

Techniques phénotypiques de routine

Le CNR pratique un antibiogramme par diffusion en milieu gélosé et une étude des CMI par la méthode E-test sur les souches de l'IAF et des laboratoires hors réseau RÉNAGO, et uniquement une évaluation des CMI sur les souches du réseau, pour la surveillance microbiologique. Ces techniques suivent les conditions recommandées par le CASFM.

1/ gélose chocolat Polyvitex®

2/ inoculum de standardisé en solution de tampon phosphate M/15 pH 7,2 au standard McFarland 0,5

3/ lecture après 18-24 heures d'incubation à 35-37°C en atmosphère contenant 5 % de CO₂

4/ Les concentrations critiques (c, C) et les diamètres critiques (D, d) pour *N. gonorrhoeae* sont lus et interprétés selon les recommandations du CASFM

5/ les diamètres d'inhibition de 6 antibiotiques sont mesurés: pénicilline, amoxicilline, association amoxicilline-acide clavulanique, céfalotine, erythromycine, acide nalidixique et chloramphénicol.

6/ la production d'une bêta-lactamase est recherchée par plusieurs méthodes:

- galerie API NH

- disque de nitrocéfine chromogène.

- comparaison des diamètres d'inhibition entre l'amoxicilline et la combinaison amoxicilline-acide clavulanique (preuve indirecte).

7/ détermination des CMI en milieu gélosé par E-tests.

Remarque : Initialement, 6 antibiotiques étaient testés (pénicilline, tétracycline, ceftriaxone, céfixime, ciprofloxacine et spectinomycine) mais en cours d'année, pour faire face à l'augmentation du nombre de souches, seuls les 4 principaux ont continué à être testés (ceftriaxone, céfixime, ciprofloxacine et spectinomycine)

➤ **Techniques moléculaires**

Amplification génique

Le laboratoire coordonateur dispose d'un automate de biologie moléculaire dédié au diagnostic combiné et à l'identification du gonocoque et de *C. trachomatis* (Aptima combo2 GenProbe). Tous les tests positifs sont confirmés par l'amplification d'un 2^{ème} gène spécifique d'espèce.

II.1.1.b. Techniques développées en 2011 et en développement

En 2011, le CNR a participé au développement des techniques de diagnostic des infections à gonocoque en évaluant plusieurs kits de prélèvements pour le diagnostic par amplification génique de *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis*.

Par ailleurs, le CNR a continué l'évaluation des outils de diagnostic moléculaire combiné de ces infections, soit par une utilisation quotidienne des automates (Genprobe), soit par des tests plus ponctuels (Biorad).

D'autres études de ces outils sont d'ores et déjà programmées pour améliorer la qualité des prélèvements et les performances des tests

II.1.2. Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Plusieurs marqueurs sont disponibles grâce aux données issues des réseaux de surveillance nationale : RÉNAGO et RésIST :

- Nb cas/laboratoire/an : indicateur actuellement retenu pour suivre l'évolution des gonococcies via le réseau Rénago
- Phénotypes de résistance aux principaux anti-infectieux
- Nb de cas signalés de co-infections avec d'autres IST.

II.1.3. Collection de matériel biologique

Description des souches

Toutes les souches reçues par l'IAF depuis 1986 et qui ont été étudiées sont conservées dans deux tubes à cryobilles référencés (numéro dossier, référence RENAGO et date du jour). Ils sont placés à -80°C dans deux congélateurs séparés pour une conservation sécurisée en cas de panne.

Conditions de mise à disposition des collections

Les souches stockées au CNR sont disponibles sur demande écrite et dûment justifiée. Les éventuels transferts dans des conditions de transport rigoureuses (maintien d'une température de congélation dans la carboglace et durée de transport brève).

II.1.4. Liste des techniques recommandées par le CNR

- Culture : La culture du gonocoque est délicate et nécessite le respect rigoureux des conditions de culture. Le délai entre la réception de l'échantillon et la mise en culture doit être le plus court possible. Les milieux utilisés sont la gélose chocolat avec complément isovitalex ou la gélose VCAT (Biomérieux). Les géloses sont incubées à 37°C dans une atmosphère humide enrichie en CO₂ (5%) pendant 18 à 24h.
- Identification : Les souches sont identifiées selon la morphologie des colonies et leurs caractéristiques biochimiques : oxydase positif (test à l'oxydase), glucose positif, mais maltose et saccharose négatifs (Api NH et rapid NH).
- Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques : les recommandations du CNR sont basées sur celles du CASFM
- Diagnostic par amplification génique : le CNR utilise actuellement un automate de diagnostic combiné de *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* mais ne recommande aucun fabricant en particulier

II.2. Activités d'expertise du CNR en 2011

Le laboratoire de l'Institut Alfred Fournier reçoit des souches de gonocoques « hors rénago » et des souches « rénago ». Les souches « hors rénago » représentent environ 10% des souches rénago. Pour ces souches, nous rendons une identification, un antibiogramme pour 6 antibiotiques et des CMI pour 6 antibiotiques. Ce travail est facturé au laboratoire demandeur. Ces souches ne sont pas comptabilisées par l'InVS (pas d'anonymat et pas de données cliniques le plus souvent). Par contre, pour les souches envoyées au CNR par les laboratoires du réseau, le transport, l'identification et l'évaluation des CMI sont gratuits. Les résultats anonymes sont envoyés en parallèle au laboratoire et à l'InVS avec un code d'anonymat qui permet le rapprochement avec les données cliniques.

En 2011, le CNR des gonocoques a reçu 1875 souches de gonocoque (y compris celles de l'Institut Alfred Fournier) en provenance de laboratoires privés ou hospitaliers appartenant au réseau RENAGO. Ce nombre paraît stable par rapport à 2010 (1870 souches), alors que la tendance était à l'augmentation depuis de nombreuses années (1521 en 2009, 1033 en 2007, 583 en 2005). Cependant, le nombre de laboratoires du réseau a diminué entre 2010 et 2011 (environ 30 laboratoires en moins) ce qui rend très difficile la comparaison du nombre total de

souches entre ces deux dernières années. Si l'on tient compte de cette modification du nombre de participants, il semble toutefois que la tendance reste à l'augmentation du nombre de souches.

Sur l'ensemble des souches reçues, 1523 ont pu être remises en culture, soit 81.2%, ce qui est en légère baisse par rapport aux années précédentes (84.5 % en 2010, 83.43% en 2009 et 82.4% en 2008).

Toutes les souches remises en culture ont fait l'objet d'une évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques par détermination de leurs CMI à 4 ou 6 antibiotiques majeurs (cf modifications précisées précédemment), par diffusion en milieu gélosé. Les valeurs des CMI sont relevées et interprétées par les biologistes du CNR et saisies dans le système informatique de gestion du laboratoire. Tous les résultats sont adressés par courrier, en moins d'une semaine après réception de la souche, au laboratoire transmetteur et à l'InVS. En parallèle, le compte rendu est envoyé au laboratoire transmetteur par télécopie.

III. Activités de surveillance

III.1. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

III.1.1. Les réseaux de partenaires

Le réseau RENAGO

La surveillance des infections à gonocoques et de la résistance primaire et secondaire aux antibiotiques est basée sur le réseau RENAGO animé conjointement par le CNR et l'InVS. Ce réseau, créé en 1986, regroupe des laboratoires volontaires répartis dans toute la France métropolitaine. L'objectif de ce réseau est d'évaluer les tendances évolutives des gonococcies en France et d'étudier la sensibilité des souches aux antibiotiques. Chaque laboratoire participant envoie à l'InVS une fiche épidémiologique mensuelle où sont notifiés le nombre de gonocoques isolés et quelques données épidémiologiques.

Le réseau en détail :

- en 2011 : 184 laboratoires de biologie médicale volontaires
- répartition par type d'activité : 3/4 de laboratoires privés et 1/4 de laboratoires publics
- répartition géographique : toute la France métropolitaine
- estimation de la couverture du réseau : environ 4 à 5 % des laboratoires de biologie médicale en France
- représentativité : répartition homogène en fonction de la densité de la population, ce qui limite les biais de sélection.
- évolution du réseau : diminution du nombre de participants par regroupement des laboratoires

La surveillance assurée à travers ce réseau est standardisée, en particulier pour ce qui est du recueil des informations cliniques et des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques.

Chaque laboratoire a comme responsabilité de recueillir pour chaque cas de gonococcie (culture positive) les données suivantes : sexe, âge, type de médecin prescripteur et de structure où a été diagnostiqué le patient, le site du prélèvement et le motif du prélèvement (l'existence d'une symptomatologie ou partenaire infecté), le lieu de contamination (France ou autre pays), la technique d'identification ou de détection du gonocoque ainsi que la recherche de beta-lactamase.

Ce système permet de recueillir des informations qui sont traitées par l'InVs pour en extraire des données statistiques et notamment le nombre moyen de gonocoques par laboratoire et par an (Ng/lab/an), qui est l'indicateur actuellement retenu pour estimer l'incidence des gonococcies.

Chaque événement inhabituel doit être signalé et analysé pour évaluer les risques et les mesures à mettre éventuellement en place. Ce réseau est donc également mis à contribution pour surveiller certaines formes particulières de gonococcies (formes généralisées, infantiles, ano-rectales, pharyngées, etc) ou une évolution épidémique de l'infection dans une population ou une région particulières. Le CNR est également très attentif au suivi de l'évolution de la résistance aux antibiotiques à travers tout le territoire et notamment à l'émergence de souches multi-résistantes qui posent des problèmes thérapeutiques certains.

Autres collaborations

- Réseau RésIST, un réseau de cliniciens exerçant dans différents lieux de prise en charge des IST (CIDDIST, consultations hospitalières ou libérale). Ce réseau assure le suivi de la Syphilis, de la LGV et de la gonococcie depuis 2004.
- Génopole de l'Institut Pasteur (Valérie CARO) pour des études génomiques éventuelles
- Réseau de surveillance des IST de l'ECDC animé par Michele COLE et Catherine ISON (HPA, Center for infections, London, UK)
- Magnus UNEMO, National Reference Laboratory for Pathogenic Neisseria, Department of Laboratory Medicine, Microbiology, Örebro University Hospital, Örebro, Sweden
- CNR des Chlamydia et CNR de la Syphilis

III.1.2. Définition de l'échantillon de souches isolées

Toutes les souches de gonocoques étudiées par le CNR ont été isolées dans les laboratoires du réseau RÉNAGO, y compris l'IAF. Il s'agit donc majoritairement de souches provenant de prélèvements effectués en ambulatoire dans des laboratoires privés et, dans une moindre mesure, de souches issues de prélèvements effectués dans des hôpitaux, au cours d'hospitalisation ou en ambulatoire, ou dans des dispensaires comme les CIDDIST.

III.1.3. Distribution des différents types d'agents caractérisés

Dans notre CNR, seules des souches de gonocoque sont étudiées. Le CNR gère la surveillance de la résistance aux anti-infectieux en déterminant les CMI de chaque souche reçue à un panel défini d'antibiotiques. La surveillance épidémiologique est, quant à elle, gérée par l'InVS qui reçoit toutes les fiches épidémiologiques des laboratoires du réseau. Ces fiches permettent d'obtenir, pour chaque cas de gonococcie, des informations sur l'âge, le sexe, le site de prélèvement, les IST associées, les partenaires infectés, le lieu de consultation, etc.

En 2011, les informations collectées ont porté sur 2220 patients. Les données en fonction des différents critères d'évaluation sont détaillées dans les tableaux ci-après.

Remarque : les données non renseignées sont exclues des tableaux, ce qui explique les variations du total de souches étudiées en fonction des différents critères.

➤ **Répartition en fonction du sexe**

Sur les 2220 souches déclarées en 2011, 1711 ont été isolées chez des hommes et 489 chez des femmes. Ces chiffres montrent une augmentation de la proportion de cas de gonococcies chez les femmes (22% en 2011 contre 14,5 en 2010) et inversement chez l'homme (77% contre 85,5).

➤ **Répartition en fonction de l'âge**

AGE	NB	%
0-4 ans	1	0,0%
10-14 ans	2	0,1%
15-19 ans	257	12,0%
20-24 ans	647	30,2%
25-29 ans	425	19,8%
30-34 ans	263	12,3%
35-39 ans	183	8,5%
40-44 ans	135	6,3%
45-49 ans	96	4,5%
50-54 ans	51	2,4%
55-59 ans	38	1,8%
5-9 ans	2	0,1%
60-64 ans	24	1,1%
65 ans et +	19	0,9%
Total	2143	100,0%

En 2011, les classes d'âge la plus touchées étaient celles comprises entre 15 et 34 ans, ce qui correspond globalement aux données des années précédentes (en 2010, la classe d'âge la plus affectée était celle des 21-30 ans chez les hommes et celle des 16-25 ans chez les femmes)

➤ **Répartition en fonction du site de prélèvement**

SEXE	SITE	NB	%
Hommes	Anus	99	5,8%
	Autres	25	1,5%
	Pharynx	22	1,3%
	Uretere/urine	1563	91,5%
	Total	1709	100,0%
Femmes	Anus	5	1,0%
	Col/vagin	451	92,2%
	Autres	16	3,3%
	Pharynx	1	0,2%
	Uretere/urine	16	3,3%
	Total	489	100,0%

En 2011, chez l'homme, 91.5 % des souches de gonocoque étaient isolées au niveau de l'urètre et 5.8 % au niveau ano-rectal, données identiques à celles de 2010 (respectivement 91,6% et 5,9%). Par contre, la proportion des isollements de gonocoques au niveau du pharynx est en augmentation (1,3% contre 0,3% en 2010), ce qui pourrait s'expliquer par un relâchement de l'utilisation des préservatifs lors des rapports bucco-génitaux.

Chez la femme, la grande majorité des gonocoques isolés sont retrouvés au niveau du col ou du vagin, comme cela a toujours été observé. Les proportion des autres sites d'isolement reste très faible et n'évolue pas.

➤ **Répartition en fonction du caractère symptomatologique ou non de l'infection**

SEXE	SYMPTO	NB	%
Hommes	Oui	1178	68,8%
	Non	24	1,4%
	Inconnu	509	29,7%
	Total	1711	100,0%
Femmes	Oui	172	35,2%
	Non	69	14,1%
	Inconnu	248	50,7%
	Total	489	100,0%

Chez l'homme, l'infection par le gonocoque est le souvent symptomatique (68,8% des cas en 2011) et la mise en évidence du germe correspond généralement au diagnostic étiologique d'une urétrite ou d'une anorectite. Chez la femme, en revanche, l'infection peut être asymptomatique (14,1% des cas en 2011) et, dans une forte proportion des cas (50,7% en 2011), le caractère symptomatique de l'infection n'est pas connu car de nombreux dépistage sont effectués dans les CDAG ou les CPEF, même en l'absence de symptômes.

➤ **Répartition en fonction de l'existence de partenaires infectés**

SEXE	PARTENAIRE	NB	%
Hommes	Oui	61	3,6%
	Non	38	2,2%
	Inconnu	1611	94,2%
	Total	1710	100,0%
Femmes	Oui	42	8,6%
	Non	9	1,8%
	Inconnu	438	89,6%
	Total	489	100,0%

En 2011 comme les années précédentes, il est toujours difficile de savoir si les partenaires des patients ont été également infectés et donc, malgré un questionnaire épidémiologique précis, cette donnée reste peu renseignée.

➤ Répartition en fonction des IST associées

SEXE	IST	NB	%
Hommes	Oui	227	13,3%
	Non	438	25,6%
	Inconnu	1046	61,1%
	Total	1711	100,0%
Femmes	Oui	188	38,4%
	Non	129	26,4%
	Inconnu	172	35,2%
	Total	489	100,0%

Chez l'homme, en 2011, on ne note que 13,3% de co-infection avec un autre germe responsable d'IST mais ces données sont difficiles à exploiter car, dans plus de 60% des cas, l'association à une autre IST n'est pas connue. La plupart du temps, le gonocoque est associé à *C. trachomatis* mais, notamment chez les homosexuels masculins, il n'est pas rare de mettre en évidence une syphilis, un herpès génital ou le VIH.

Chez la femme, les co-infections semblent beaucoup plus fréquentes (38,4% en 2011) et concernent principalement *C. trachomatis*.

➤ Répartition en fonction de la structure de consultation

STRUCTURE	NB	%
Privé/clinique	1423	65,4%
Sce hospitalier	304	14,0%
Ciddist/CDAG/CPEF	401	18,4%
Autres	47	2,2%
Total	2175	100,0%

Même si les dépistages systématiques se sont multipliés ces dernières années (CDAG, CPEF), on remarque que, en 2011 comme les années précédentes, la plupart des gonocoques ont été isolés dans des structures privées et que ce germe reste essentiellement communautaire.

III.1.4. Contribution à la surveillance nationale

Des contacts fréquents par téléphone, courrier et surtout messagerie électronique sont établis entre l'équipe du CNR des gonocoques et l'équipe en charge des IST à l'InVS (Dr G. La Ruche, Dr A. Gallay, Dr V. Goulay, B. Basselier et autres collaborateurs).

III.1.5. Collaborations dans les domaines de la santé animale, alimentaire ou l'environnement

La gonococcie étant une pathologie strictement humaine, aucune collaboration n'existe dans ces domaines.

III.2. Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

III.2.1. Définition de l'échantillon de souches testées

Les souches de gonocoques dont la sensibilité aux antibiotiques est testées, sont toutes celles qui ont été envoyées par les laboratoires du réseau RéNAGO et qui ont donné une subculture, soit 1523 souches en 2011.

Plus rarement, il peut s'agir de souches adressées par des laboratoires ne faisant pas partie du réseau qui qui présentent une particularité, notamment en terme de résistance, ou qui sont isolées dans un contexte inhabituel (infection systémique, infantile ou autre).

III.2.2. Définitions utilisées pour définir la résistance

Depuis l'apparition des premières souches de gonocoque résistantes aux antibiotiques dans les années 1970, de nombreux mécanismes de résistance ont fait leur apparition et ont pu être caractérisés. Ils sont résumés dans le tableau suivant :

Supports génétiques de la résistance de *N. gonorrhoeae*

Antibiotiques	Gènes	Action	Mutations	Références
Pénicillines	<i>bla</i> _{TEM-1}	Production b-lactamase TEM-1		
	<i>penA</i>	Mutation de la protéine liant la pénicilline PBP2	Asp-346 ou AA340-570	(Spratt, 1988) (Lee, 2010)
	<i>ponA</i>	Mutation de la protéine liant la pénicilline PBP1	L421P	(Zhao, 2005)
	<i>pilQ</i>	Mutation de la sécrétine PilQ	E666	
Ceftriaxone	<i>porB</i>	Imperméabilité par mutation de la porine PIA ou PIB	G120K/A121D	(Zhao 2009) (Liao, 2011)
	<i>mtrR</i>	Diminution production du répresseur MTR Mutation du répresseur MTR	Mutation du promoteur - G45D/H105Y - A39T/H105Y - E202G	
	<i>penA</i>	Mutation de la protéine liant la pénicilline PBP2	- A501V/G542S - A501V/P551S	
Tétracyclines	<i>tetM</i>	Production de la protéine TetM protectrice du ribosome		
	<i>porB</i>	Imperméabilité par mutation de la porine PIA ou PIB	G120K/A121(D ou G ou N) V57M	(Olesky, 2002)
	<i>rpsJ</i>	Mutation protéine ribosomale S10	A39T ou G45D / R44H	(Hu 2005)
	<i>mtrR</i>	Diminution production du répresseur MTR		
Quinolones	<i>parC</i>	Topoisomérase ParC	S87R ouN / E91Q ou G	(Trees 1999)
	<i>gyrA</i>	DNA gyrase	S91F/D95G ou A	
Macrolides	<i>mtrR</i>	Diminution production du répresseur MTR Mutation du répresseur MTR	Mutation promoteur (déletion A, insertion T) A39T ou G45D / R44H	(Cousin 2003)
	<i>ermA,B,C,F</i>	Méthylation de l'ARNr 23S		(Roberts 1999)
	<i>mefA</i>	Protéine d'efflux		(Luna 2000)
	<i>mphA</i>	Modification enzymatique du macrolide (phosphotransférase)		
	<i>ereA , ereB</i>	Modification enzymatique du macrolide (estérase)		
	<i>rpID</i>	Mutation protéine ribosomale L4		
	<i>rpIV</i>	Mutation protéine ribosomale L22		
Spectinomycine	<i>rrs</i>	Mutation de l'ARNr 16S	G1064C and C1192U	(Galimand, 2000)

Les critères utilisés par le CNR pour la catégorisation des souches en fonction de leur CMI sont ceux définis par le CASFM. Ils sont rappelés dans les tableaux suivants :

Antibiotiques testés	Pénicilline G	Tétracycline	Ciprofloxacine	Ceftriaxone Cefixime	Spectinomycine
Méthodes utilisées	E-test	E-test	E-test	E-test	E-test
Gamme testée (mg/l)	0,002 - 32	0,016 - 256	0,002 - 32	0,002 - 32 0,016 - 256	0,064 - 1024

Valeurs critiques (mg/l)	Pénicilline G	Tétracycline	Ciprofloxacine	Ceftriaxone Cefixime	Spectinomycine
Sensible	≤0,06	≤0,5	≤0,06	≤0,125	≤64
Sensibilité diminuée	>0,06 - ≤1	>0,5 - ≤1	>0,06 - <1	>0,125	
Résistance	>1	>1	≥1		>64

De plus, pour la pénicilline et la tétracycline, d'autres définitions sont utilisées, en fonctions des associations possibles entre les différents mécanismes de résistance, de haut ou de bas niveau, à ces deux antibiotiques :

- Résistances plasmidiques de haut niveau divisées en 3 catégories : résistance plasmidique à la pénicilline G (PPNG), résistance plasmidique à la tétracycline (TRNG) et résistance plasmidique à la pénicilline et à la tétracycline (PPNG-TRNG)
- Résistances chromosomiques de bas niveau, divisées en 3 catégories : résistance chromosomique à la pénicilline G (penR), résistance chromosomique à la tétracycline (TetR) et résistance chromosomique à la pénicilline et à la tétracycline (CMRNG)

Types de résistance	Critères
PPNG	β-lactamase positive et CMI tetracycline <16mg/l
TRNG	CMI Tetracycline ≥ 16mg/l et β-lactamase négative
PP/TRNG	β-lactamase positive et CMI tetracycline ≥ 16mg/l
CMRNG	CMI Penicilline ≥ 2mg/l mais β-lactamase négative et CMI tetracycline comprise entre 2-8mg/l
PenR	CMI Penicilline ≥ 2mg/l mais β-lactamase négative et CMI tetracycline <2mg/l
TetR	CMI Tetracycline entre 2-8mg/l et CMI penicilline <2mg/l

III.2.3. Résultats : distribution en fonction des critères pertinents

Au cours de l'année le CNR a pu étudier la sensibilité aux antibiotiques de 1523 souches de gonocoques. Sur les premières souches reçues (566 souches), 6 antibiotiques ont été testés : pénicilline, tétracycline, cefixime, ceftriaxone, ciprofloxacine et spectinomycine. Cependant, devant l'augmentation du nombre de souches, il a été décidé en cours d'année de limiter le nombre d'antibiotiques à 4 et donc, sur les souches suivantes, seuls le cefixime, la ceftriaxone, la ciprofloxacine et la spectinomycine ont été testés.

➤ Evaluation de la sensibilité à la pénicilline

Distribution des CMI du gonocoque à la pénicilline (2011)

Pénicilline	Nb
0,002	2
0,003	1
0,004	1
0,006	6
0,008	9
0,012	4
0,016	5
0,023	8
0,032	20
0,047	33
0,064	41
0,094	85
0,125	74
0,19	47
0,25	28
0,38	23
0,5	35
0,75	35
1	49
1,5	18
2	7
3	4
4	5
6	4
8	5
12	1
16	1
24	1
32	14
Total	566

En 2011, la plupart des souches isolées étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline (65%) et 19,2% d'entre elles étaient résistantes à cet antibiotique.

➤ **Evaluation de la sensibilité à la tétracycline**

Distribution des CMI du gonocoque à la tétracycline (2011)

Tétracycline	Nb
0,064	4
0,094	3
0,125	5
0,19	14
0,25	16
0,38	19
0,5	43
0,75	73
1	84
1,5	28
2	51
3	62
4	20
8	1
12	9
16	26
24	48
32	32
48	8
64	12
96	5
128	1
Total	564

La résistance à la tétracycline reste très élevée en 2011 et touche 82% des souches. Parmi ces souches, 28% présentent une sensibilité diminuée, 30% une résistance chromosomique de bas niveau et 23% une résistance plasmidique de haut niveau.

➤ **Evaluation de la sensibilité à la ciprofloxacine**

Distribution des CMI du gonocoque à la ciprofloxacine (2011)

Ciprofloxacine	Nb
0,002	498
0,003	284
0,004	56
0,006	13
0,008	6
0,016	1
0,023	1
0,032	2
0,047	1
0,064	6
0,094	5
0,125	1
0,19	5
0,25	14
0,38	19
0,5	38
0,75	35
1	35
1,5	39
2	37
3	46
4	47
6	48
8	66
12	48
16	37
24	25
32	110
Total	1523

La résistance à la ciprofloxacine reste proche des 40% précédemment retrouvés. Cette résistance est principalement de type chromosomique de haut niveau (33%). Les 10,4% restants correspondent à des souches de sensibilité diminuée à cet antibiotique.

➤ **Evaluation de la sensibilité aux céphalosporines : cefixime et ceftriaxone**

Distribution des CMI du gonocoque au céfixime et à la ceftriaxone (2011)

Céfixime	Nb	Ceftriaxone	Nb
0,016	1195	0,002	690
0,023	57	0,003	204
0,032	45	0,004	113
0,047	61	0,006	74
0,064	55	0,008	71
0,094	60	0,012	78
0,125	40	0,016	92
0,19	9	0,023	90
0,25	1	0,032	68
Total	1523	0,047	35
		0,064	8
		Total	1523

En 2011, aucune souche résistante à la ceftriaxone n'a été mise en évidence mais les CMI du gonocoque vis à vis des céphalosporines augmentent chaque année. Ainsi, la proportion de souches présentant une sensibilité diminuée au céfixime a atteint 7,22% en 2011 alors que ces souches n'ont fait leur apparition qu'en 2008. Ces souches restent sensibles à la ceftriaxone mais leurs CMI à cet antibiotique a augmenté également ces dernières années (13% de souches avec une CMI \geq 0,023).

➤ **Evaluation de la sensibilité à la spectinomycine**

Distribution des CMI du gonocoque à la spectinomycine (2011)

Spectinomycine	Nb
0,75	1
1,5	4
2	15
3	30
4	81
6	201
8	282
12	246
16	365
24	182
32	21
Total	1428

Aucune souche résistante à la spectinomycine n'a été isolée en 2011, tout comme les années précédentes.

III.2.4. Analyse des tendances

➤ Evolution de la sensibilité aux céphalosporines : cefixime et ceftriaxone

Le cefixime est testé au CNR des gonocoques depuis le début de l'année 2008, à la différence de la ceftriaxone testée depuis plus d'une quinzaine d'années. Le céfixime a été intégré après les recommandations de l'AFSSAPS qui préconisait son utilisation en deuxième intention lorsqu'il n'était pas possible d'utiliser la ceftriaxone en injectable. Même s'il n'est actuellement plus recommandé, cet antibiotique est toujours testé car il permet de suivre l'évolution des résistances du gonocoque aux céphalosporines.

En 2010, la première souche française (2^e mondiale) de gonocoque résistante à la ceftriaxone a été mise en évidence au CNR. Elle était adressée par un laboratoire de Quimper participant au réseau RénaGo. Cette souche a été isolée au niveau de l'urètre chez un patient masculin âgé d'une cinquantaine d'années, homosexuel, qui présentait un échec au traitement par céfixime per os (400 mg en une seule prise). Ce patient n'avait semble-t-il pas voyagé récemment à l'étranger. Il a été traité et guéri par de la gentamicine à la dose de 160 mg, la spectinomycine n'étant pas commercialisée. Cette souche a été étudiée par le Dr Unemo et a fait l'objet d'un article référencé dans les publications.

En 2011, nous n'avons heureusement isolé aucune souche présentant ce type de résistance mais les CMI du gonocoque aux céphalosporines et, surtout, au céfixime, ont toutefois augmenté progressivement ces dernières années.

Les tableaux ci-après résument l'évolution des CMI du gonocoque aux deux céphalosporines testées sur chaque souche.

Evolution des CMI du gonocoque au céfixime entre 2001 et 2011

CMI (mg/l)	2008 (nb et %)		2009 (nb et %)		2010 (nb et %)		2011 (nb et %)	
<=.016	735	90,29	953	82,16	1014	76,36	1195	78,46
.023	5	0,61	15	1,29	23	1,73	57	3,74
.032	12	1,47	30	2,59	54	4,07	45	2,95
.047	20	2,46	28	2,41	56	4,22	61	4,01
.064	30	3,69	66	5,69	100	7,53	55	3,61
.094	7	0,86	39	3,36	53	3,99	60	3,94
.125	4	0,49	21	1,81	18	1,36	40	2,63
.19	1	0,12	8	0,69	5	0,38	9	0,59
.25	0	0,00	0	0	2	0,15	1	0,07
.38	0	0,00	0	0	3	0,23	0	0,00
Total	814	100	1160	100	1328	100	1523	100

Après une forte augmentation entre 2008 et 2009, la proportion de souches de sensibilité diminuée au céfixime reste stable autour de 0,7%.

Evolution des CMI du gonocoque à la ceftriaxone (valeur absolue) entre 2001 et 2011

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
≤0.016	143	127	189	302	449	453	680	842	1033	1103	1327
.023	0	0	2	9	34	32	29	38	46	80	90
.032	2	0	1	6	16	25	15	22	57	65	68
.047	0	0	1	0	4	5	1	9	19	63	35
.064	0	1	0	1	1	1	2	0	4	13	8
.094	0	0	1	0	1	0	0	0	2	2	0
.125	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0
.19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	146	128	194	319	506	516	728	911	1161	1328	1528

Evolution des CMI du gonocoque à la ceftriaxone (pourcentage) entre 2001 et 2011

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
≤0.016	97,9	99,2	97,4	94,7	88,7	87,8	93,4	92,4	89,0	83,1	86,8
.023	0,0	0,0	1,0	2,8	6,7	6,2	4,0	4,2	4,0	6,0	5,9
.032	1,4	0,0	0,5	1,9	3,2	4,8	2,1	2,4	4,9	4,9	4,5
.047	0,0	0,0	0,5	0,0	0,8	1,0	0,1	1,0	1,6	4,7	2,3
.064	0,0	0,8	0,0	0,3	0,2	0,2	0,3	0,0	0,3	1,0	0,5
.094	0,0	0,0	0,5	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,0
.125	0,7	0,0	0,0	0,3	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
.19	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
.25	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
.38	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

L'augmentation de la proportion de souches présentant des CMI $\geq 0,023$ à la ceftriaxone entre 2009 (11%) et 2010 (16,9%) avait fait craindre une dérive progressive mais la tendance s'est, pour l'heure, inversée. En effet, seuls 11% des souches isolées en 2011 ont des CMI $\geq 0,023$ et aucune souche résistante n'a été identifiée.

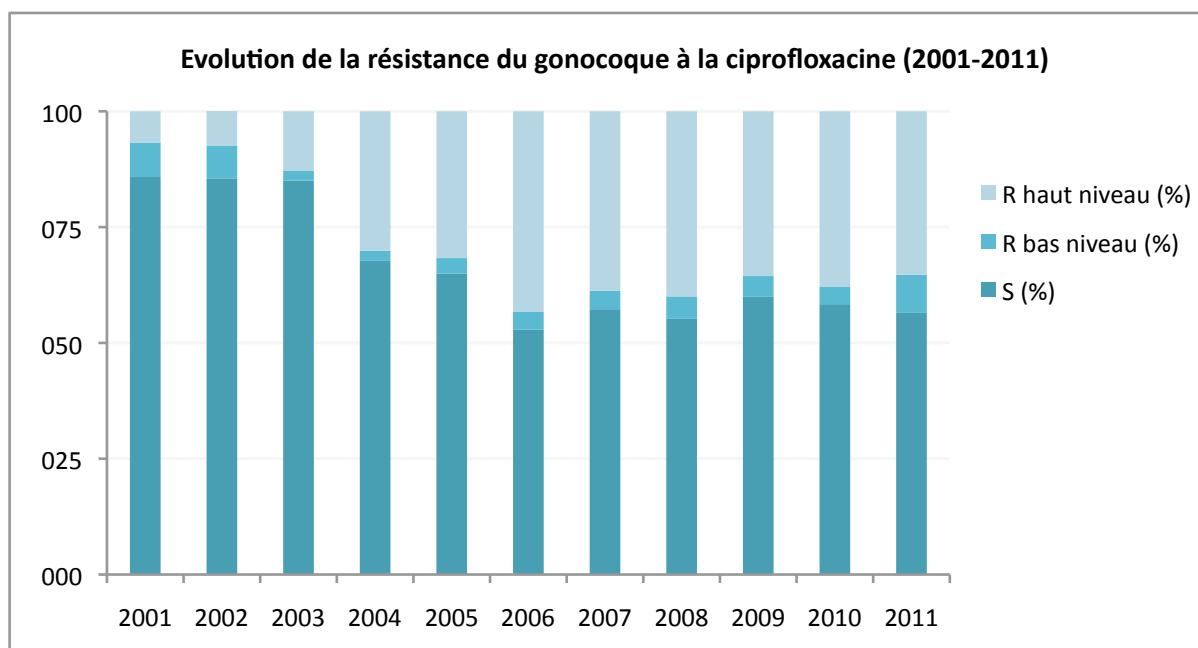
Ces données sont plutôt rassurantes mais il faut cependant rester vigilants quant à l'émergence de souches multirésistantes qui pourraient limiter les possibilités de traitements des infections gonococciques.

➤ **Evolution de la sensibilité à la ciprofloxacine**

Après une très forte augmentation de la proportion de gonocoques résistants à la ciprofloxacine jusqu'en 2006, le taux global de résistance s'est stabilisé autour de 40%. Cependant, on remarque une augmentation de la proportion de la résistance plasmidique de bas niveau, qui passe d'environ 4% ces dernières années à 8% en 2011 tandis que la résistance chromosomique de haut niveau est passé de plus de 43% en 2006 à 35,3% en 2011.

Evolution de la résistance du gonocoque à la ciprofloxacine entre 2001 et 2011

	S (nb et %)		R bas niveau (nb et %)		R haut niveau (nb et %)		Total souches
2001	127	85,81	11	7,43	10	6,76	148
2002	110	85,52	9	6,98	10	7,75	129
2003	165	85,05	4	2,06	25	12,89	194
2004	216	67,72	7	2,19	96	30,09	319
2005	329	64,95	17	3,36	160	31,69	506
2006	273	52,9	20	3,88	223	43,22	516
2007	417	57,28	29	3,98	282	38,74	728
2008	503	55,21	44	4,83	364	39,96	911
2009	697	60,04	51	4,39	413	35,57	1161
2010	817	58,36	52	3,71	531	37,93	1400
2011	862	56,6	123	8,1	538	35,3	1523



III.3. Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Le CNR est souvent sollicité par la Police ou la Gendarmerie pour des études de cas touchant des enfants (3 cas en 2011). Le CNR effectue la recherche d'infection par le gonocoque dans l'entourage des mineurs et réalise l'étude phénotypique, voire génétique, des souches afin de les comparer.

En 2011, le CNR n'a pas eu à faire face à une épidémie ou à l'émergence d'un clone résistant aux antibiotiques mais, comme toutes les souches sont conservées, il est envisagé d'effectuer des génotypages sur un large panel de souches afin d'évaluer l'existence de clones prédominants et leur répartition.

III.4. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens

- Depuis 2003, le CNR des gonocoques participe activement au réseau de surveillance épidémiologique des IST européen (ESSTI). Ce réseau est sous la responsabilité de l'ECDC à Stockholm et regroupe actuellement 25 pays qui se réunissent chaque année lors d'un colloque européen.
- Ce réseau a un système d'alerte épidémiologique au niveau européen.
- Il permet de comparer les différents systèmes de surveillance épidémiologique des IST des pays membres.
- La plupart des laboratoires de ce réseau participent à un contrôle de qualité biannuel d'évaluation de la sensibilité du gonocoque aux antibiotiques.
- Afin de suivre l'évolution des résistances du gonocoque aux antibiotiques au niveau européen, tous les laboratoires envoient chaque année deux panels de 55 souches consécutives. Dans le cadre de cette étude multicentrique, les CMI de toutes ces souches sont évaluées pour 6 antibiotiques (pénicilline, tétracycline, céfixime, ceftriaxone, ciprofloxacine, spectinomycine, azithromycine et gentamicine), les données sont transmises par les laboratoires à l'ECDC, lequel effectue ensuite le sérotypage des souches envoyées
- Par ailleurs, une collaboration scientifique a été aussi initiée avec le Pr Magnus UNEMO (laboratoire USÖ, Labmed Klin Microbiologi, Örebro, Suède) pour l'étude génétique de la souche de gonocoque résistante à la ceftriaxone et au céfixime isolée en 2010. Cette collaboration a abouti à la publication d'un premier article en 2011 (M. Unemo et al. High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in France: novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. AAC. 2012 Mar;56(3):1273-80) et devrait se poursuivre dans les années à venir.

III.5. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Aucune enquête ou étude particulière n'a été menée par le CNR en 2011. Le CNR a toutefois collaboré avec le Dr Unemo du laboratoire USÖ pour l'étude de la souche résistante aux céphalosporines isolée en 2010.

IV. Alerte

IV.1. Procédures d'alerte de l'InVS et de la DGS

L'interface repose d'abord sur la transmission systématique des résultats de toutes les souches étudiées à l'InVs.

Ensuite, les relations reposent sur un libre échange usant des moyens de communication téléphoniques et électroniques.

Le rapport annuel consigne et fait le bilan de toutes les alertes.

Un bilan en cours d'année peut être fait dans certains domaines à la demande de l'InVS.

IV.2. Signalements et/ou alertes de l'année 2011

Pas de signalements et/ou d'alerte émis à l'InVS concernant des souches de gonocoque particulières ou des infections touchant des populations particulières. Le CNR est actuellement vigilant sur les gonococcies oculaires du nouveau né, car, depuis 2010, la prophylaxie n'est plus systématique. Toutefois, aucune augmentation des cas n'est pour l'heure à signaler.

IV.3. Analyse des tendances et du fonctionnement du système

La communication avec l'InVS et avec les laboratoires du réseau fonctionne très bien, que ce soit par échanges téléphoniques ou électroniques.

Aucune non conformité ou réclamation récurrente n'est à signaler.

V. Activités d'information, de formation et de conseil

V.1. Enseignements, formations, accueil de stagiaires

Enseignements et formations aux professionnels de santé

- *Actualités du diagnostic des Infections Sexuellement Transmissibles.* P. Sednaoui Réunion médico-biologique. Institut Alfred Fournier. Paris. 26 janvier 2011.
- *Diagnostic biologique des infections à *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Mycoplasmes*.* P. Sednaoui Formation continue pour médecins et infirmières des CPEF. 14 octobre 2011. Evry.

- *Le diagnostic des infections à Chlamydia trachomatis, mycoplasmes uro-génitaux et H. ducreyi.* P. Sednaoui Formation continue pour techniciens. Faculté de Pharmacie. Paris. 3 octobre 2011.
- *Le bon usage et les bonnes pratiques des examens biologiques d'une IST.* P. Sednaoui Réunion médico-biologique. Institut Alfred Fournier. Paris. 17 novembre 2011

Accueil de stagiaires

- Techniciens (nes) de laboratoire
 - KOZELKO Sophie (ESTBA)
 - JAUBERT Méliandre (ESTBA)
 - ESNAULT Gwendoline (ESTBA)
 - MAROC Yousra (Lycée Maximilien Sorre)
 - LAWTON Catherine (Sweet Briar College)
 - BELKAHLA Badiya (ESTBA)
 - DELIQUAIRE Emmanuella (ESTBA)
- Infirmiers (ères)
 - GENDOT Ségolène (IFSI)
 - SIMIC Anne (IFSI)
 - CHAVAND J-François (IFSI)
 - MORNET Stéphanie (IFSI)
 - LOURGUI Brahim (IFSI)
 - LOUVRIER Eveline (IFSI)
 - LEBRETON Elisa (IFSI)
 - GLOANEC Lauriane (IFSI)

V.2. Guides élaborés

Mise à jour des recommandations de l'AFSSAPS pour le traitement des urétrites et cervicites non compliquées (réunion du 14 mars 2011). Suite à l'émergence de souches de sensibilité diminuées au céfixime, il a été décidé de retirer cet antibiotique de la première ligne de traitement probabiliste. Seule la ceftriaxone est donc actuellement recommandée.

V.3. Modalités de diffusion des données

Toutes les souches reçues au CNR sont répertoriées et enregistrées dans le logiciel de gestion du laboratoire (Molis) sous un code intégrant le numéro du laboratoire transmetteur et celui de la souche. Tous les résultats obtenus sont enregistrés dans le système de lecture et d'expertise des antibiogrammes (SIRscan) et dans le logiciel de gestion des analyses médicales du laboratoire (Molis).

Les comptes-rendus de résultats sont édités en double pour chaque souche: une copie pour le labo transmetteur et une copie pour l'InVs. Ce compte rendu comprend :

- L'en tête du CNR
- Le code de la souche (donné par l'INVS)
- Les coordonnées du laboratoire transmetteur et INVS

- Le numéro du dossier CNR
- La date de réception
- Le temps de transport
- La date d'édition
- Le nom et signature d'un biologiste du laboratoire.

Ces comptes-rendus papier, résumant les caractéristiques de la souche et leur interprétation, sont adressés rapidement (délai < 1 semaine après réception) au laboratoire transmetteur et à l'InVs. Parallèlement, le compte rendu d'analyse est envoyé par télécopie au laboratoire transmetteur pour réduire le délai d'obtention des résultats.

Les sites internet

Les informations concernant le CNR sont disponibles sur le site de l'Institut Alfred Fournier (<http://www.institutfournier.org>), dans la rubrique « recherche » de la page d'accueil. Cette rubrique est destinée aussi bien au grand public qu'aux professionnels de santé. Elle est organisée sous forme de fichiers PDF à télécharger:

- Rubrique « CNR » : informations sur les infections à gonocoques, le rôle et l'organisation du CNR, tout public
- Rubrique « Formulaires à télécharger » : Fiche de recueil de renseignements épidémiologiques et guide d'utilisation des milieux de transport, dédié aux partenaires du réseau RENAGO
- Rubrique « Poster » : mise en ligne des poster présentés par le CNR

Des informations complémentaires et les données épidémiologiques sont également disponibles sur le site de l'InVS (<http://www.invs.santé.fr>)

V.4. Activité de conseil aux professionnels

Le CNR répond à toutes les demandes d'informations concernant le diagnostic ou le traitement des gonococcies, émanant de biologistes et ou de médecins. Nous avons un biologiste de permanence à l'IAF tous les jours de 8h30 à 18h30 et le samedi de 8h30 à 12h30. Nous sommes également joignables par messagerie électronique.

V.5. Liste des activités d'expertise

- Evaluation des techniques en développement (diagnostic moléculaire)
- Evaluation de kits de dépistage ou de diagnostic
- Conseils de prise en charge des patients (diagnostic et/ou traitement)
- Conseil auprès des autorités (sanitaires, judiciaires...)

VI. Travaux de recherche en lien direct avec l'activité du CNR

Le laboratoire de l'IAF, de par sa nature privée à but non lucratif, ne bénéficie pas de financements pour faire de la recherche fondamentale. Cependant, le CNR effectue régulièrement des études épidémiologiques (incidence des infections à *N. gonorrhoeae* et *C. trachomatis* chez les femmes asymptomatiques), des évaluations de nouveaux outils diagnostiques (Kit CT/NG de Biorad) ou de nouveaux milieux de transport...

En parallèle, le CNR travaille avec des collaborateurs ayant les compétences et les ressources, tant matérielles qu'humaines, pour compléter l'étude des souches de gonocoques (ECDC, Génopôle de l'Institut Pasteur, laboratoire USÖ, etc)

Au cours de l'année 2011, le laboratoire a participé à différentes études épidémiologiques : ???

De plus, le CNR a entretenu ou développé ses collaborations avec :

- l'ECDC pour le recueil de données sur la résistance du gonocoque aux antibiotiques au niveau européen et le sérotypage de 110 souches par an
- le Dr M. Unemo pour la publication de l'article sur la première souche française résistante aux céphalosporines de 3^{ème} génération.

VII. Liste des publications et communications

VII.1. Publications nationales

VII.2. Publications internationales

- *The etiologic diversity of vaginitis.* Bohbot JM, Sednaoui P, Verriere F, Achhammer I.; Gynecol Obstet Fertil. 2011 Nov 16.
- *Chronic prostatitis does not influence urinary PCA3 score.*; Vlaeminck-Guillem V, Baddel M, Cottancin M, Rodriguez-Lafrasse C, Bohbot JM, Sednaoui P. Prostate. 2012 Apr; 72(5):549-54. doi: 10.1002/pros.21457.
- *A survey of primary care physician practices in antibiotic prescribing for the treatment of uncomplicated male gonococcal urethritis.* Falchi A, Lasserre A, Galla A, Blanchon T, Sednaoui P, Lassau F, Massari V, Turbelin C, Hanslik T. ; BMC Fam Pract. 2011 May 18;12(1):35.
- *High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant Neisseria gonorrhoeae in France: novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure.* Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Galla A, Sednaoui P. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Mar;56(3):1273-80. Epub 2011 Dec 12.

VII.3. Communications nationales

- *Une pathologie et son diagnostic microbiologique : Actualités relatives aux infections sexuellement transmissibles et génitales (hors HIV). Le gonocoque.* P. Sednaoui. Institut Pasteur de Paris. Colloque de la SFM. 16 mai 2011. (présentation orale)
- *Dépistage combiné de Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae et Mycoplasma genitalium. Evolution de la résistance aux antibiotiques de Neisseria gonorrhoeae.* P. Sednaoui. Café Scientifique. JIB. Paris-La Défense. 08.10.1011 (présentation orale).
- *Etude de la sensibilité in-vitro de 200 isolats cliniques de Candida albicans et non albicans aux antifongiques locaux : Nystatine, Econazole, Miconazole, Clotrimazole.* Choukri F, Benderdouche M, Sednaoui P. 10^{ème} journée francophone de recherche en obstétrique et gynécologie (JFROG). CNIT Paris-La Défense. 08.10.2011. (poster).

VII.4. Communications internationales

- *Evaluation of the Bio-Rad Dx CT/NG/MG Assay, a new real-time PCR test for the simultaneous detection of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae and Mycoplasma genitalium.* 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, May 7-10 2011; Milan, Italy. Sednaoui P, Nassar N, Allemelou G, Castano F, Monfort L. (poster).

VII.5. Conférences sur invitations

- *Réémergence de Neisseria gonorrhoeae.* P. Sednaoui, A. Gallay, Betty Basselier, et les partenaires du réseau RENAGO. Journée de la SFM « Actualités relatives aux infections sexuellement transmissibles et génitales (hors HIV). Institut Pasteur Paris. Mai 2011.

VIII. Programme d'activités 2012-2013

Le laboratoire de l'IAF, de par sa nature privée à but non lucratif, ne bénéficie pas de financements pour la recherche fondamentale, mais s'est toujours engagé dans la recherche appliquée, par des études épidémiologiques, l'évaluation de nouveaux outils diagnostiques ou de nouveaux milieux de transport et, en parallèle, a toujours su s'entourer de collaborateurs ayant les compétences et les ressources pour compléter l'étude des souches de gonocoques (ECDC, Génopôle de l'institut Pasteur, Pr M. UNEMO du laboratoire USÖ...)

Afin de répondre de façon constante et pérenne aux exigences de recherche et d'étude génotypique des souches de gonocoques, le laboratoire coordonnateur du CNR sera associé au laboratoire de Bactériologie du site Lariboisière (GH Saint Louis-Lariboisière-Fernand Widal (AP-HP), qui est adossé à l'équipe de recherche EA 3964-Paris Diderot « Emergence de la résistance in vivo aux antibiotiques » dès le début de l'année 2012.

Cette association va permettre d'ajouter des travaux de recherche fondamentale sur les mécanismes de résistance aux antibiotiques, ainsi que le développement du génotypage à des fins aussi bien diagnostiques qu'épidémiologiques (étude de cas groupés, comparaison des génotypes en France et en Europe).

Pour les deux années à venir, le programme du CNR sera donc de continuer les missions en place depuis plusieurs années et de les compléter par des activités de recherche plus fondamentale.

➤ **Contribuer à la surveillance épidémiologique**

○ **En collaborant aux études épidémiologiques**

Le CNR continuera à participer activement au recueil de données pour l'exploitation statistique par l'InVs en remplissant et envoyant une fiche de renseignements pour chaque mise en évidence de gonocoque, par culture ou biologie moléculaire.

De part son rôle central dans le réseau, le CNR veille également à la participation des membres du réseau, que cela soit pour l'envoi des souches ou pour la transmission des fiches épidémiologiques. Chaque événement inhabituel doit être signalé et analysé pour évaluer les risques et les mesures à mettre éventuellement en place. Ces événements peuvent concerner l'expression clinique de la maladie, sous forme de gonococcie généralisée ou infantile par exemple, ou d'une évolution épidémique de l'infection dans une population ou une région particulières

Le CNR se propose également, en collaboration avec l'équipe de l'InVs de réévaluer les marqueurs statistiques qui doivent prendre en compte les contextes économiques (regroupement de laboratoires) et sociologiques (diagnostic moléculaire chez patients asymptomatiques) actuels pour que les indicateurs donnent une image fiable de l'épidémiologie.

○ **En assurant une surveillance de la sensibilité des gonocoques aux anti-infectieux au niveau national en s'appuyant sur le réseau RENAGO**

Comme par le passé, le CNR continuera à organiser l'envoi et la réception des souches provenant des laboratoires du réseau RENAGO et veillera au bon fonctionnement de ce réseau. Cependant, depuis le début de l'année 2012, l'organisation du réseau a été modifiée. En effet, depuis plusieurs années, le CNR a dû faire face à une très forte augmentation du nombre de souches reçues et donc parallèlement à une très forte augmentation des coûts en réactifs et des moyens humains à mettre en œuvre pour assurer l'expertise de chaque souche. De ce fait, la subvention allouée par l'InVs ne suffit pas à couvrir les frais engagés par l'IAF. De ce fait, il a été décidé, en concertation avec l'InVs, de réduire le nombre de laboratoires participant à la surveillance microbiologique à 78 au lieu de 184 en 2011. Les autres laboratoires restent toutefois membres du réseau mais ne participent plus qu'à la surveillance épidémiologique (fiche de déclaration des cas de gonococcies). Le CNR reste par ailleurs à la disposition de ces laboratoires, et de ceux qui ne font pas partie du réseau, pour étudier toute souche posant des problèmes d'identification, de résistance ou pour tout cas particulier nécessitant une expertise.

Chaque souche remise en culture fera désormais l'objet d'une évaluation de la sensibilité aux antibiotiques par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode E-test selon les recommandations du CA-SFM pour 6 antibiotiques au lieu de 4 en 2011 : pénicilline, tétracycline, cefixime, ceftriaxone, ciprofloxacine, spectinomycine, azithromycine et

gentamicine. La production d'une bêta-lactamase sera toujours recherchée chez toutes les souches.

Les résultats (valeurs des CMI et interprétation) seront adressés au laboratoire transmetteur et à l'InVS.

- **en participant aux systèmes de surveillance européens**

Le CNR participe au réseau des Centres Experts des IST mené par l'European Centre for Disease (ECDC) (Marita van de Laar) et les collègues du Health Protection Agency (C. Ison et M. Cole, London, UK) (*AMR surveillance programme*).

Il perpétuera sa participation aux contrôles de qualité externe quadri-annuel, et l'envoi des souches demandées pour la détermination des CMI et le suivi des sérotypes. De plus, il participera à l'alimentation des banques de données de génotypage ainsi qu'aux études ponctuelles demandées par les collègues dans le cadre du réseau de surveillance

- **Détecter de nouveaux phénotypes de résistance en contribuant à l'identification des mécanismes de résistance**

A l'heure actuelle, il est indispensable de caractériser les supports moléculaires des résistances afin non seulement de comprendre leurs origines et d'évaluer leur potentiel de dissémination, mais aussi de préparer des tests diagnostiques de détection moléculaire de la résistance.

Le laboratoire associé du CNR gonocoque propose donc de développer les outils moléculaires nécessaires à l'exploration des souches de *N. gonorrhoeae* présentant de nouveaux phénotypes de résistance aux antibiotiques (beta-lactamines, aminosides, quinolones, cyclines ou macrolides).

Dans un premier temps, le screening de la résistance sera effectué sur l'ADN des souches de *N. gonorrhoeae* issues de la collection du CNR à l'IAF en étudiant des souches déjà identifiées pour leur résistance aux antibiotiques et en prenant des souches sensibles comme témoins.

La stratégie d'amplification génique et de séquençage de gènes de résistance s'appuiera sur ce qui a déjà été décrit dans la littérature. Ainsi, les principaux gènes responsables de la résistance aux antibiotiques seront explorés. La résistance de *N. gonorrhoeae* aux beta-lactamines pourra être explorée par le dépistage moléculaire du gène *bla*_{TEM-1} codant la beta-lactamase TEM-1 et par l'exploration des gènes *penA*, *penC* et *ponA* conférant une modification des PLPs et une augmentation des CMI aux beta-lactamines.

Le mécanisme le plus courant qui explique la diminution de la sensibilité aux C3G est l'altération du gène *penA*, l'acquisition d'un allèle *penA* mosaïque ou l'altération de l'acide aminé en position 501 (cf tableau ci-dessous). La diminution de la sensibilité aux C3G peut également être due à une hyperexpression du système d'efflux MtrC/D/E liée à une diminution de l'action du gène répresseur *mtrR* par mutation de son promoteur ou modification de sa séquence nucléotidique. En outre, des mutations spécifiques du gène *porB* entraînant une modification des acides aminés en position 101 et 102 de la porine PorB1 créent une imperméabilité et entraînent une résistance additionnelle aux C3G. La modification des gènes *ponA* et *pilQ* ne contribue pas à la résistance aux C3G mais altère uniquement les CMI de la pénicilline.

La résistance aux quinolones, principalement due à des modifications des régions QRDR, sera explorée par l'amplification et le séquençage des gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*.

➤ **Développer les techniques de typage des souches de *N. gonorrhoeae***

Les collaborations déjà établies par le CNR, notamment avec le génopôle de l'Institut Pasteur, avait déjà permis d'effectuer ponctuellement une première série de typage des souches de Gonocoques mais l'association avec le laboratoire de Bactériologie du site Lariboisière va permettre d'utiliser des techniques de façon courante afin de :

- comparer la distribution des types des souches isolées en France avec celle des souches isolées dans d'autres pays,
- comparer les souches entre elles dans des situations particulières (ex : cas groupés géographiquement)

Le laboratoire associé du CNR gonocoque propose de développer la technique de référence NG-MAST (Multi Antigen Sequence Typing) pour le génotypage des souches de *N. gonorrhoeae*. Cette technique repose sur l'amplification génique et le séquençage de fragments internes de deux gènes codant des protéines de la membrane externe de *N. gonorrhoeae*, les gènes *tbpB* et *porB*. Nous disposons localement de l'ensemble du matériel nécessaire pour mettre rapidement en place cette technique. L'analyse bioinformatique sera effectuée à partir des séquences obtenues sur le séquenceur capillaire Applied Biosystem. Le génotype de chaque souche sera obtenu à partir du blast des séquences dans les banques de données spécifiques (www.ng-mast.net).

Dans la plupart des cas, cette technique de génotypage sera suffisante pour la comparaison de souches. Cependant, lorsque les souches de *N. gonorrhoeae* sont isolées sur une longue période de temps, la technique de NG-MAST est trop discriminante car elle objective des mutations mineures dans les gènes *porB* et *tbpB* de souches identiques. Dans ce cas, une seconde technique de génotypage sera appliquée : la technique de MLST (multilocus sequence typing) qui est basée sur l'amplification nucléotidique et le séquençage de fragments de sept gènes de ménages (*abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *pdh* et *pgm*). Ces gènes sont très conservés au cours du temps. Comme précédemment, l'analyse bioinformatique sera effectuée et le ST type obtenu sur le site (www.pubmlst.org/neisseria). Nous nous proposons de développer secondairement cette technique de MLST qui sera utilisée en seconde ligne car elle reste cependant plus onéreuse et plus longue que la technique de NG-MAST.

Le génotypage sera effectué systématiquement sur toutes les souches présentant une CMI $\geq 0,023$ mg/l à la Ceftriaxone, ainsi que sur les souches présentant une multi-résistance aux antibiotiques même si sensible à la ceftriaxone.

Il sera effectué sur demande de l'InVs ou d'autres autorités sanitaires en cas d'épidémies dans une population cernée, ou dans les cas où la transmission devrait être particulièrement documentée.

Enfin, le génotypage pourra être effectué en cas de suspicion d'échec thérapeutique, pour le différencier d'une réinfection.