



RICAI

38^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse

Lundi 17 et mardi 18 décembre 2018
Palais des Congrès de Paris

Epidémiologie moléculaire de l'infection à *Chlamydia trachomatis*

Bertille de Barbeyrac
CNR des IST bactériennes
CHU Pellegrin Bordeaux

université
de BORDEAUX



CNR
des IST bactériennes

Infections humaines à *C. trachomatis*

Problèmes de santé publique et d'actualité



A-C



Trachome



D-K



**Infections
Sexuellement
Transmises**



L1-L3



LGV

Infection par le VIH et IST bactériennes



Bilan épidémiologique 2017

26/11/2018

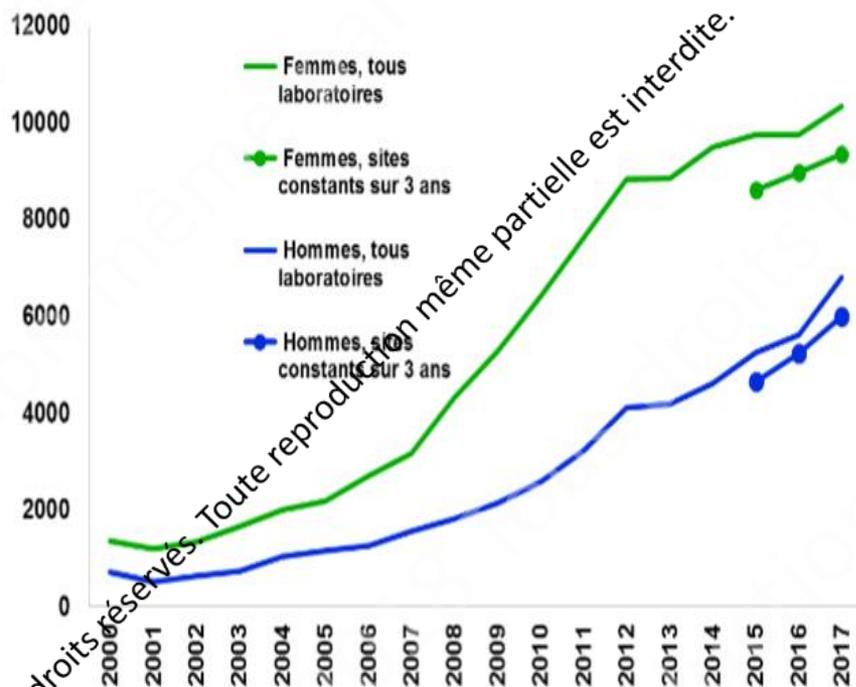


**Directeur
de la publication**
François Bourdillon

Rédaction
Florence Lot
Françoise Cazein
Ndeindo Ndeikoundam
Josiane Pillonel
Corinne Pioche
Delphine Viriot

Diffusion
Santé publique France
12 rue du Val d'Osne
94415 Saint-Maurice cedex
Tél : 33 (0)1 41 79 07 00
www.santepubliquefrance.fr

Figure 3 / Evolution du nombre de diagnostics d'infection à *Chlamydia*, France, 2000-2017



Source : Réseau Rénachla, SpFrance

En raison du nombre de sites participant aux réseaux de surveillance pouvant fluctuer au cours du temps, il est important d'analyser les tendances à sites constants sur les années récentes.

Incidence de l'infection à *C. trachomatis*

2012

2016

SURVEILLANCE AND OUTBREAK REPORTS

Incidence of gonococcal and chlamydial infections and coverage of two laboratory surveillance networks, France, 2012

G La Ruche (guylaruche@hotmail.com)¹, Y Le Strat¹, M Fromage², B Berçot³, A Goubard⁴, B de Barbeyrac⁵, P Sednaoui⁴, E Cambau³, F Lot¹

77 000 cas
soit 257/100 000 15-49 ans

DONNÉES DE SURVEILLANCE



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

267 097 cas
soit 491/100 000 >15 ans

X 3,4

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Intérêt du typage moléculaire de *C. trachomatis*

→ Thérapeutique

- Génomvar L / non-L (durée du traitement)

→ Epidémiologique

- Etudier la répartition des génomvars au sein des infections génitales et anales
- Etudier le lien entre un génomvar et la pathogénicité
- Surveiller la dissémination de certains clones spécifiques (exemple : épidémie de LGV rectale, nouveau variant suédois)
- Etudier la transmission des souches entre partenaires
- Déterminer si une infection persistante est une réinfection ou un échec thérapeutique/recontamination par la même souche

Techniques de typage moléculaire

→ Analyse d'un seul locus

- gène *ompA* : génovar (= sérovar)
- gène *pmpH* : génovar L
- plasmide cryptique : nvCT

→ Analyse multilocus

- MLST
- MLVA

MOMP de *C. trachomatis*

Protéine majeure membrane externe ou OmpA

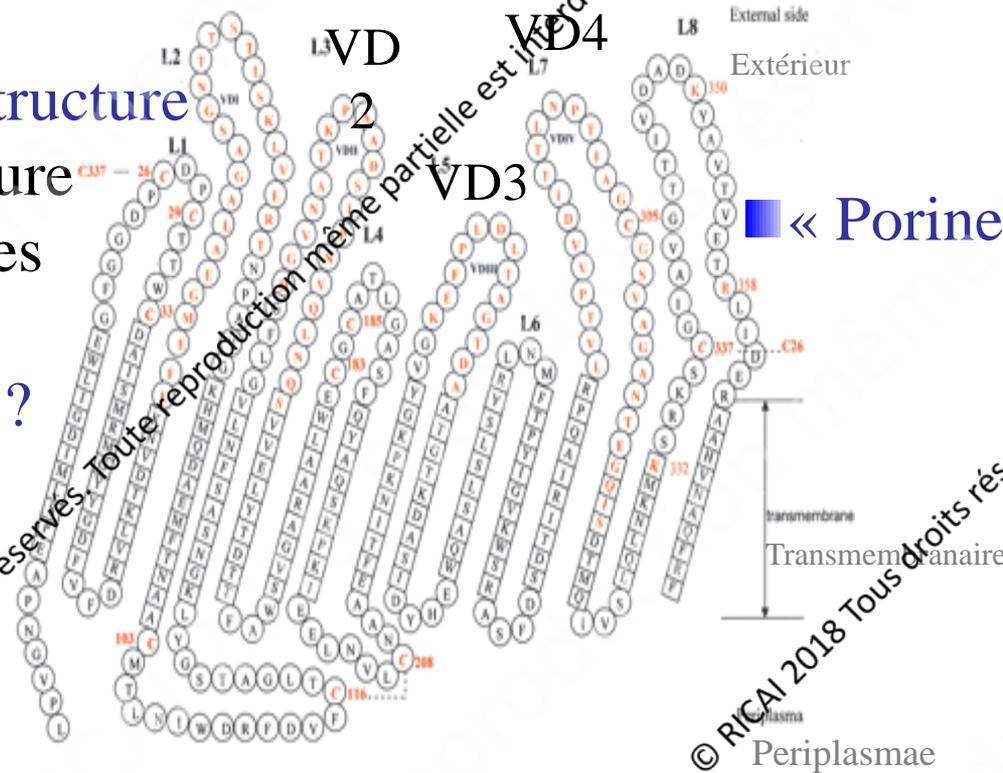
Sérotype ou sérovar

■ Protéine de structure

Ponts disulfure
dynamiques

■ Adhésine ?

■ 4 domaines variables



Techniques de typage moléculaire

→ Analyse d'un seul locus: gène *ompA*

● PCR-RFLP du gène *ompA*

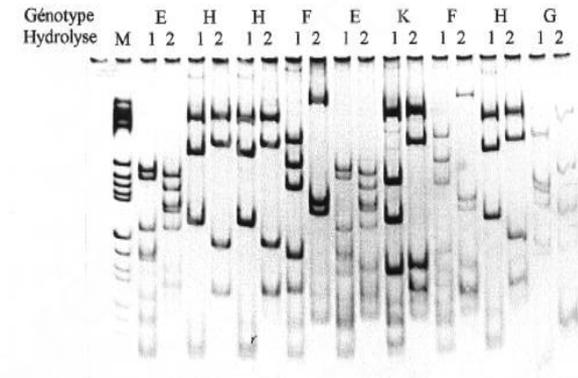
Etapas (4-5 jours) :

- amplification du gène ≈ 1200 pb
- hydrolyse de restriction
- analyse sur gel de polyacrylamide

Rodriguez *et al.* JCM. 1991,

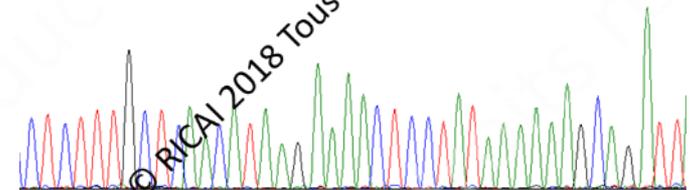
● Séquençage du gène *ompA*

- séquence nucléotidique
- comparaison des séquences



Hydrolyse 1 : *AluI*

2 : *HpaII*, *HinI*, *EcoRI*



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Etude de la répartition des génovars dans l'infection urogénitale chez l'homme et la femme

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

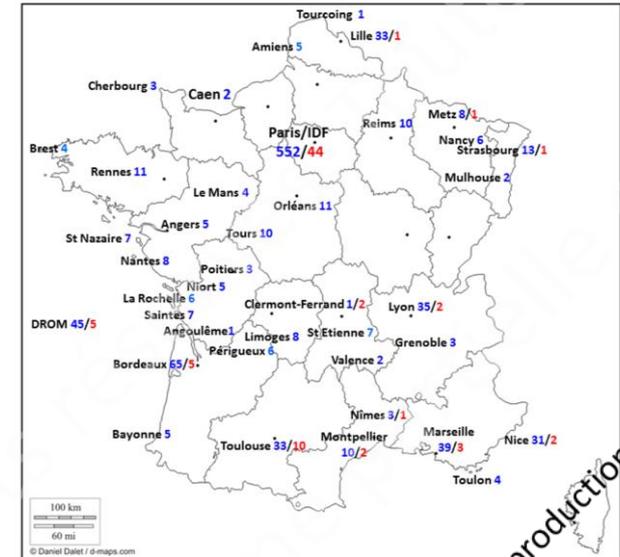
Enquête France métropolitaine 2017

- 13-17 novembre 2017
- 65 centres (CHU, CH, LABM)
- 1014 échantillons provenant de 1012 patients
(661 femmes, 346 hommes)

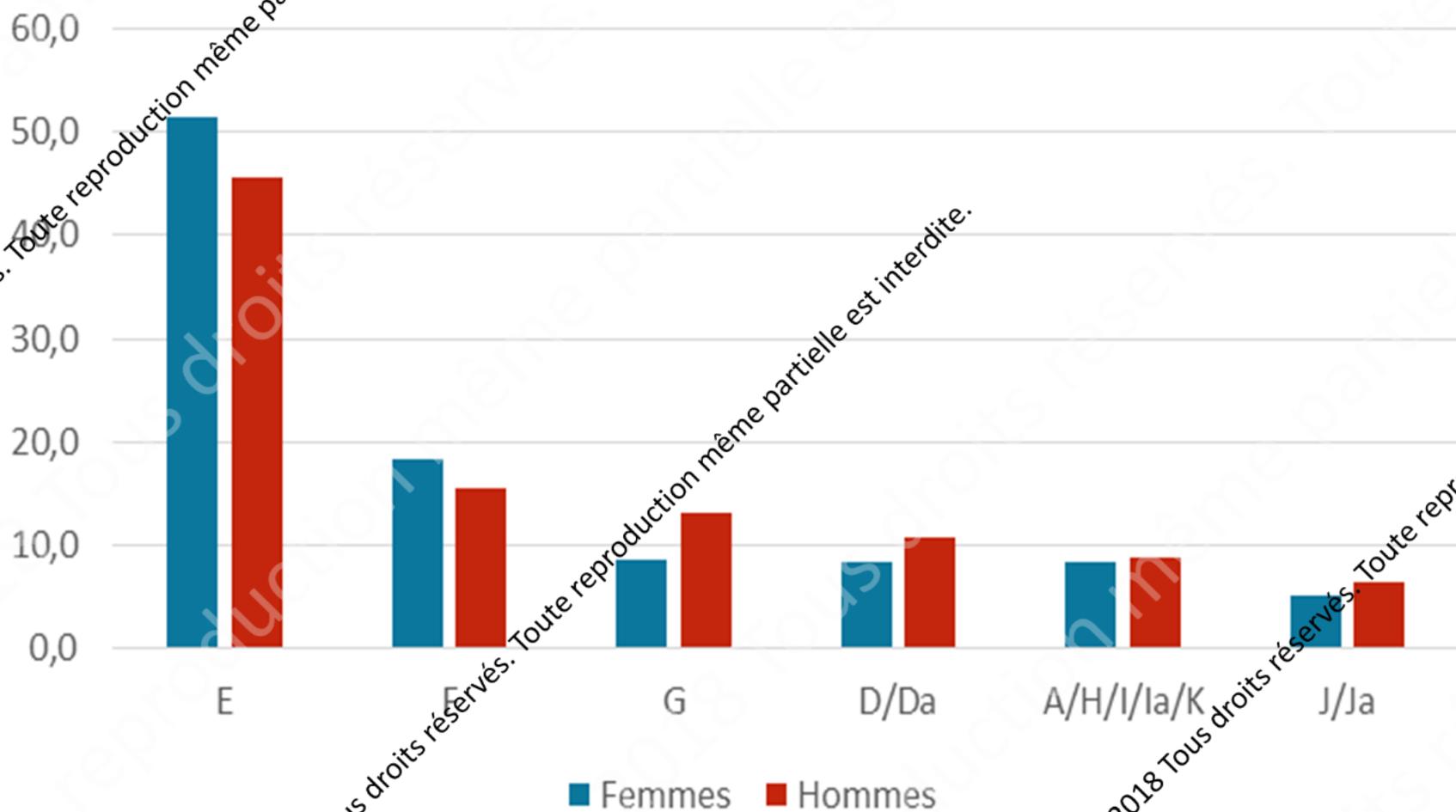
- Moyenne d'âge : femmes 26,01 ans [13-63]
hommes 28,6 ans [16-60]
- Site de prélèvement : cervico-vaginal (75,5%)
urine masculine (83,8%)

- Principal motif de consultation : dépistage systématique
- 85,4% pratiques hétérosexuelles
- Statut VIH connu dans 35,6% des cas (1,7% séropositifs)
- Génotypage par séquençage du gène *ompA*

Répartition géographique des échantillons reçus Ct (1014) / Mg (79)



Répartition des génovars par sexe (%)



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Comparaison avec les années antérieures

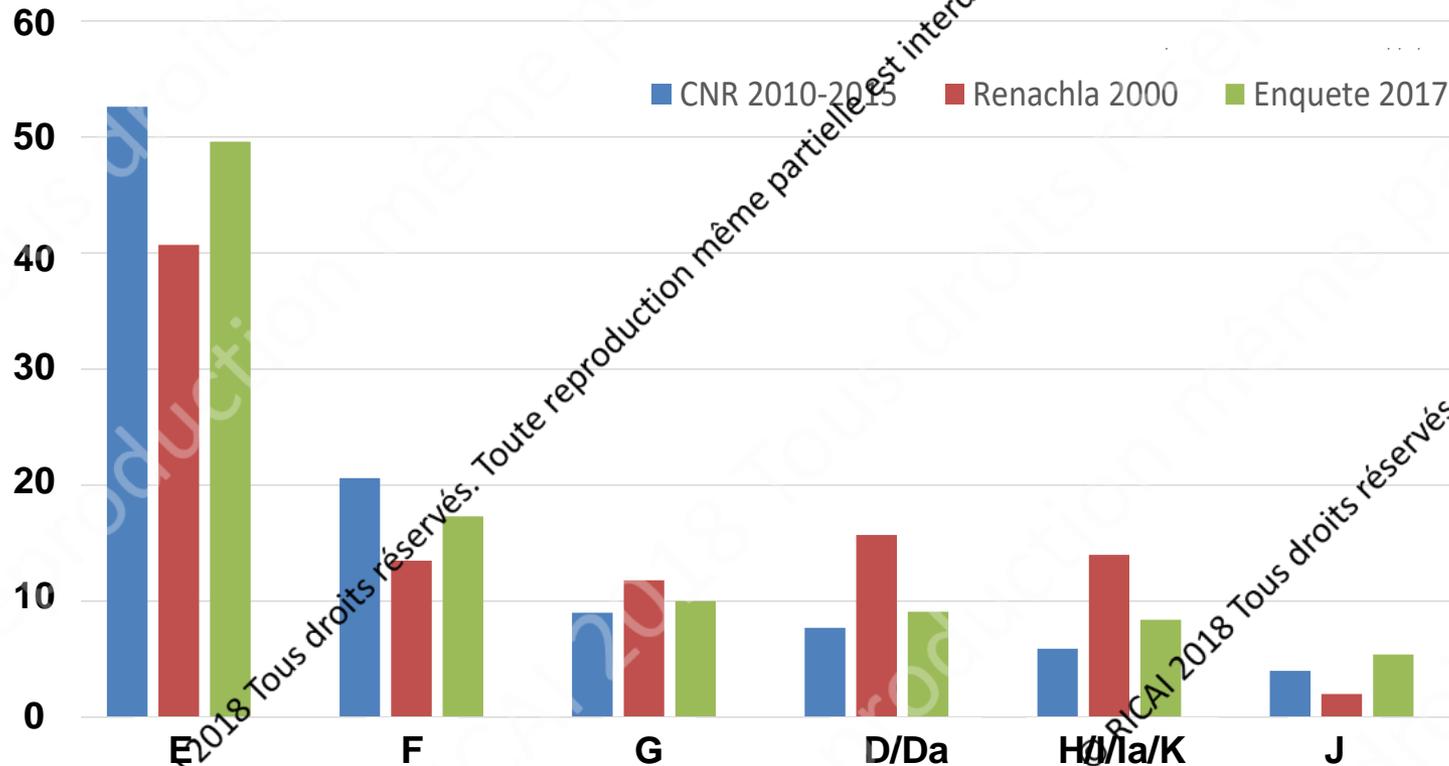
→ **2000 : enquête sur les laboratoires du réseau Rénachla**

PCR-RFLP, 312 échantillons (230 femmes et 82 hommes)

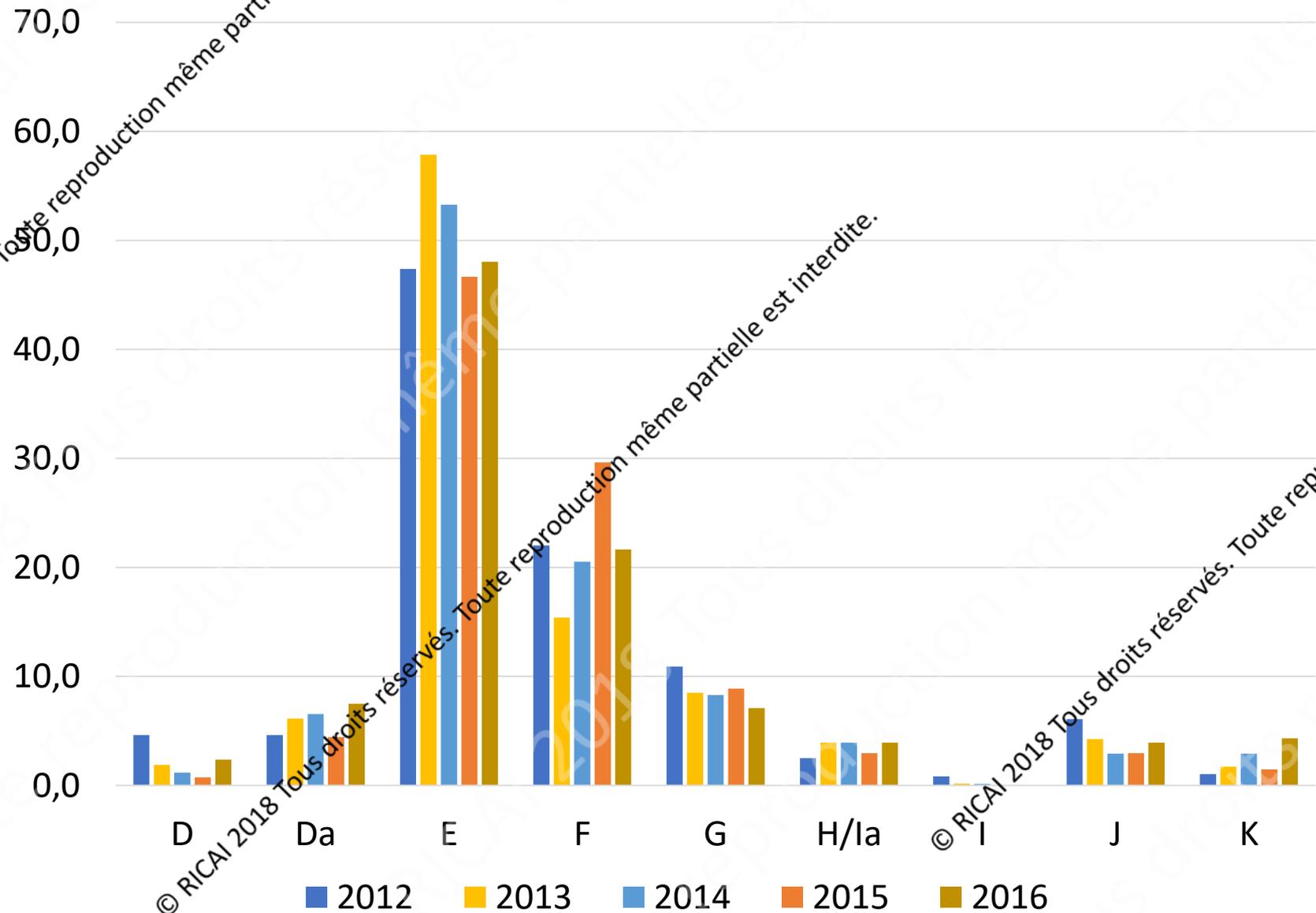
pas de lien entre génovars, symptômes cliniques

→ **2010-2015 : données du CNR Infections humaines à chlamydia**

PCR-RFLP et séquençage ; 2428 échantillons (1661 femmes et 767 hommes)



Répartition des génovars entre 2012 et 2016 (CNR infections humaines à chlamydiae)

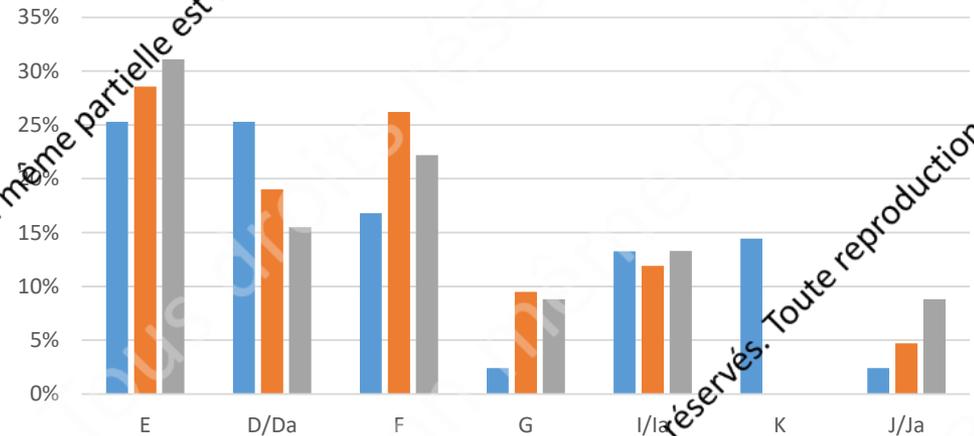


Enquête DROM 2017

→ Échantillons CERBA (Sabine Trombert)

	Femmes	Hommes	Total
Guyane	136	20	156
Martinique	54	44	98
Guadeloupe	57	28	85
Total	247	92	339

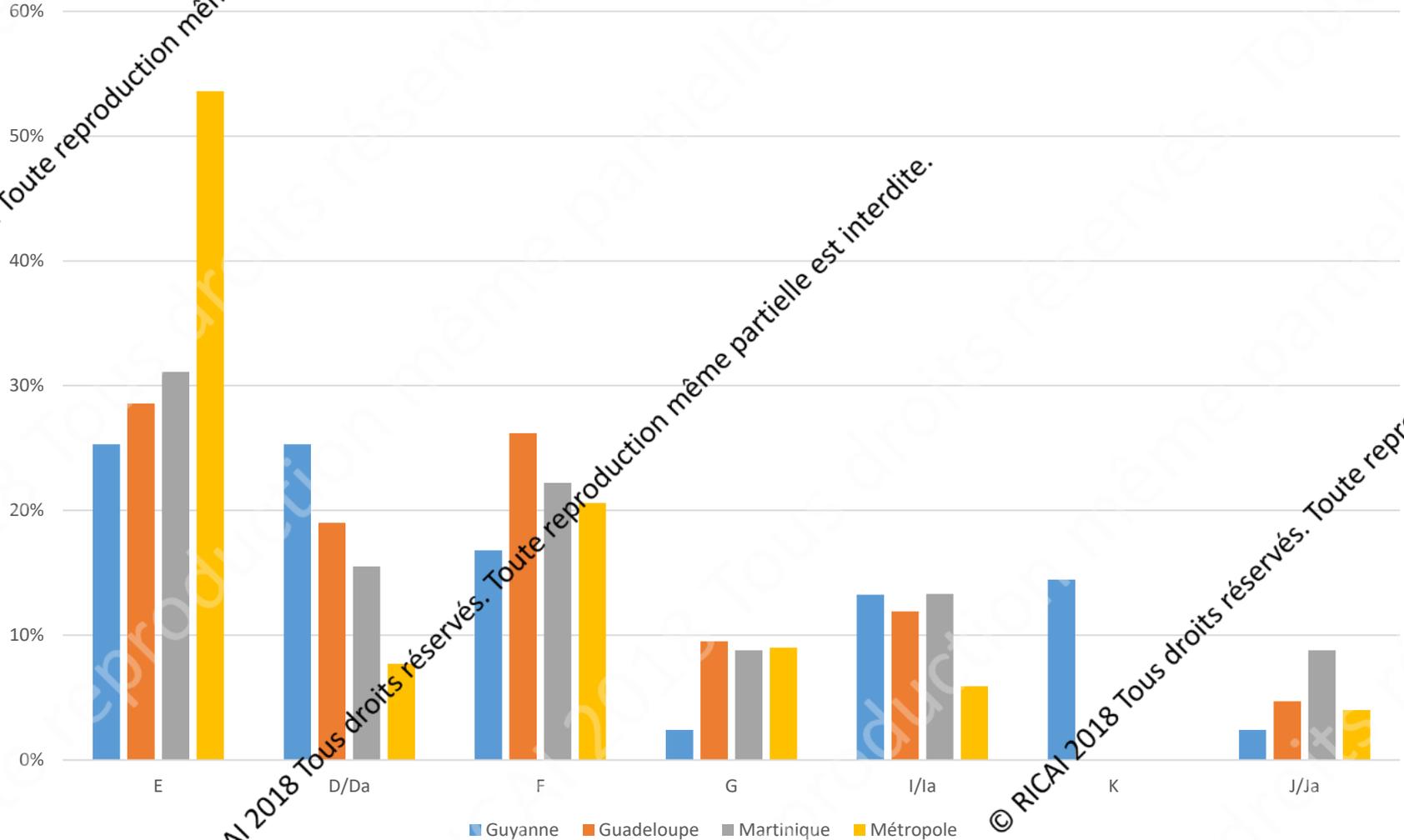
Répartition des génovars dans les DROM 2017



👉 **170 échantillons typés**

→ Comparaison DROM 2017 vs CNR Chlamydia 2010-2015

Répartition des génovars DROM vs métropole

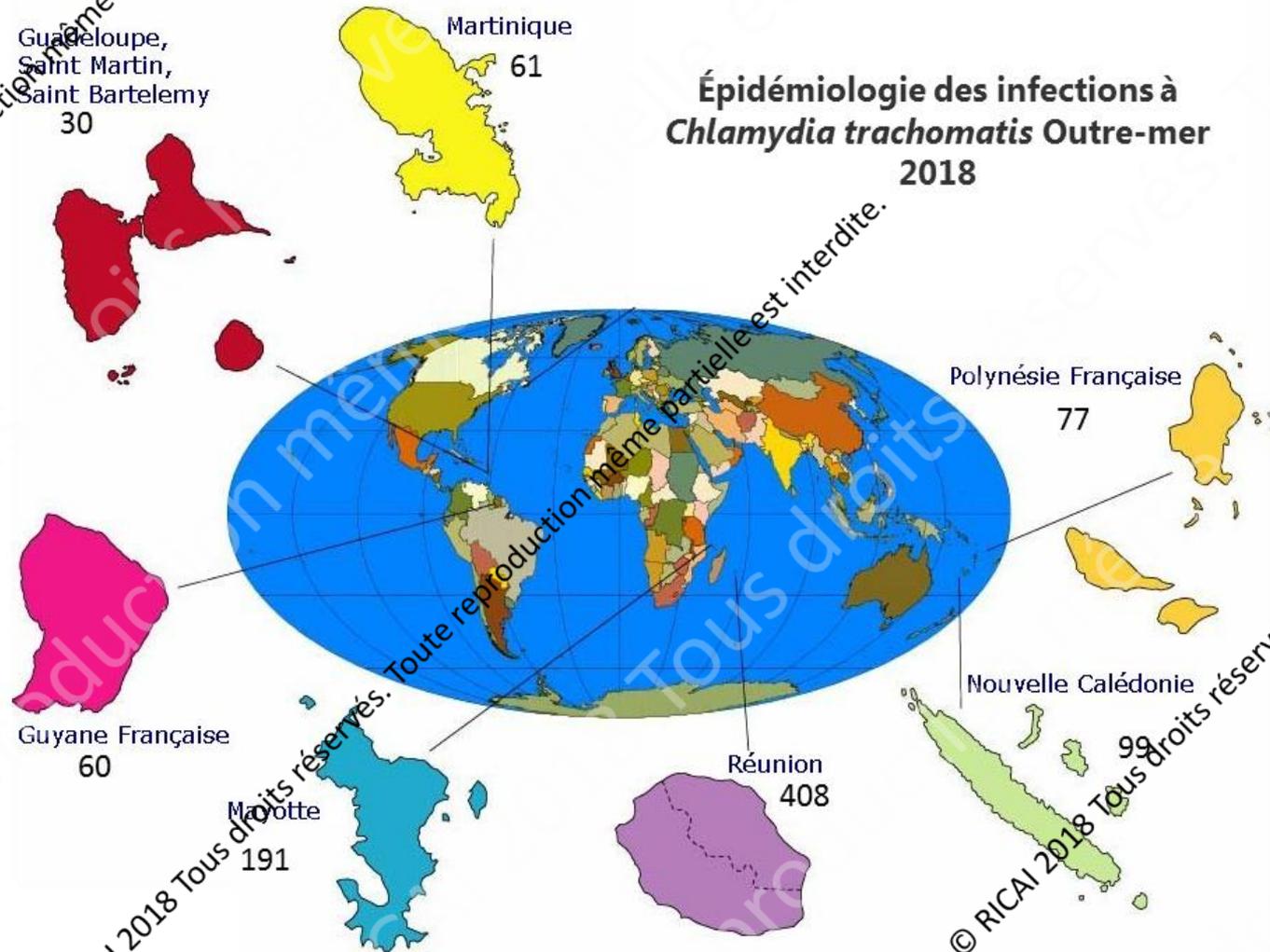


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Enquête DROM 2018

926 échantillons en cours de typage

Épidémiologie des infections à *Chlamydia trachomatis* Outre-mer 2018



© RICAI 2018 Tous droits réservés.

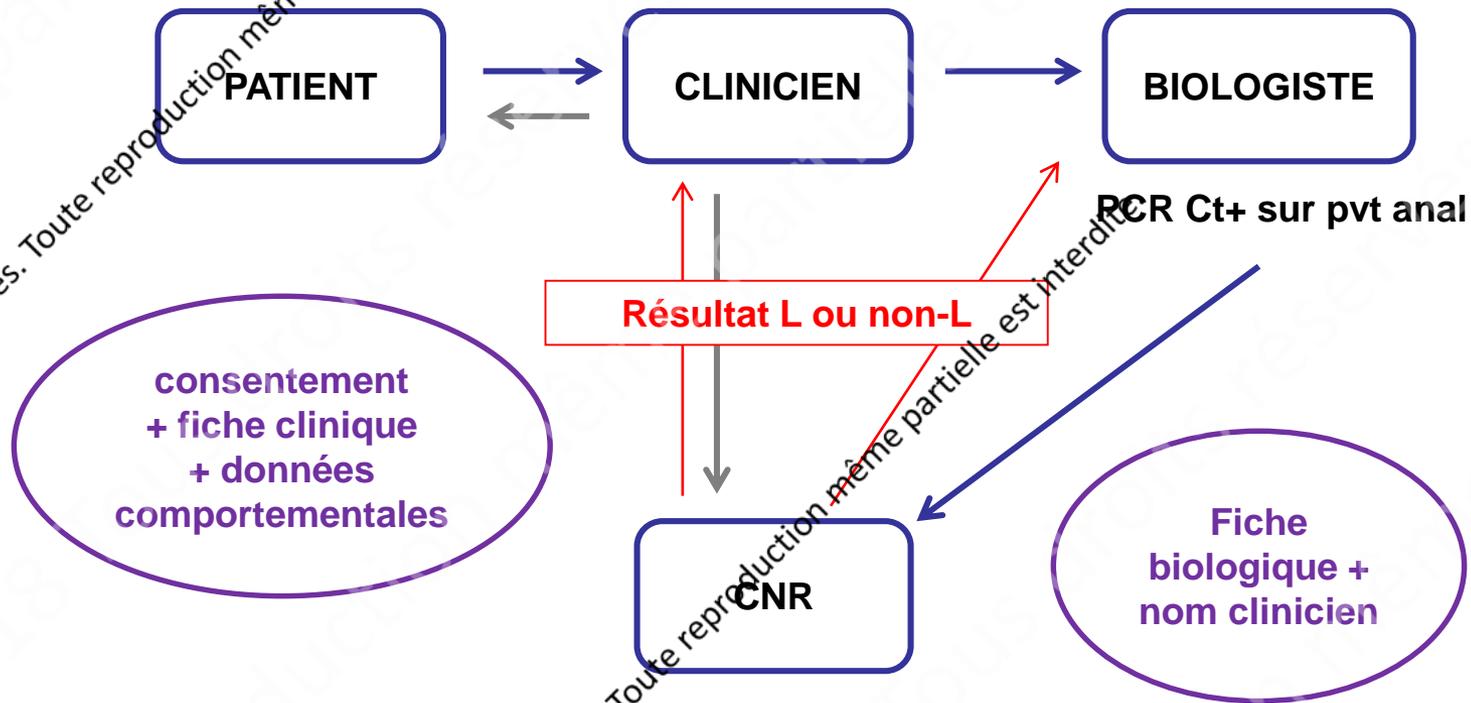
© RICAI 2018 Tous droits réservés.

Etude de la répartition des génovars dans l'infection ano-rectale chez l'homme

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Réseau de surveillance des ano-rectites à *C. trachomatis*



- Identification par PCR temps réel spécifique génovar L
- Identification du génovar : séquençage du gène *ompA*

Intérêt thérapeutique du typage moléculaire de *C. trachomatis*

Échantillon ano-rectal positif à *C. trachomatis*

Génovar L



LGV

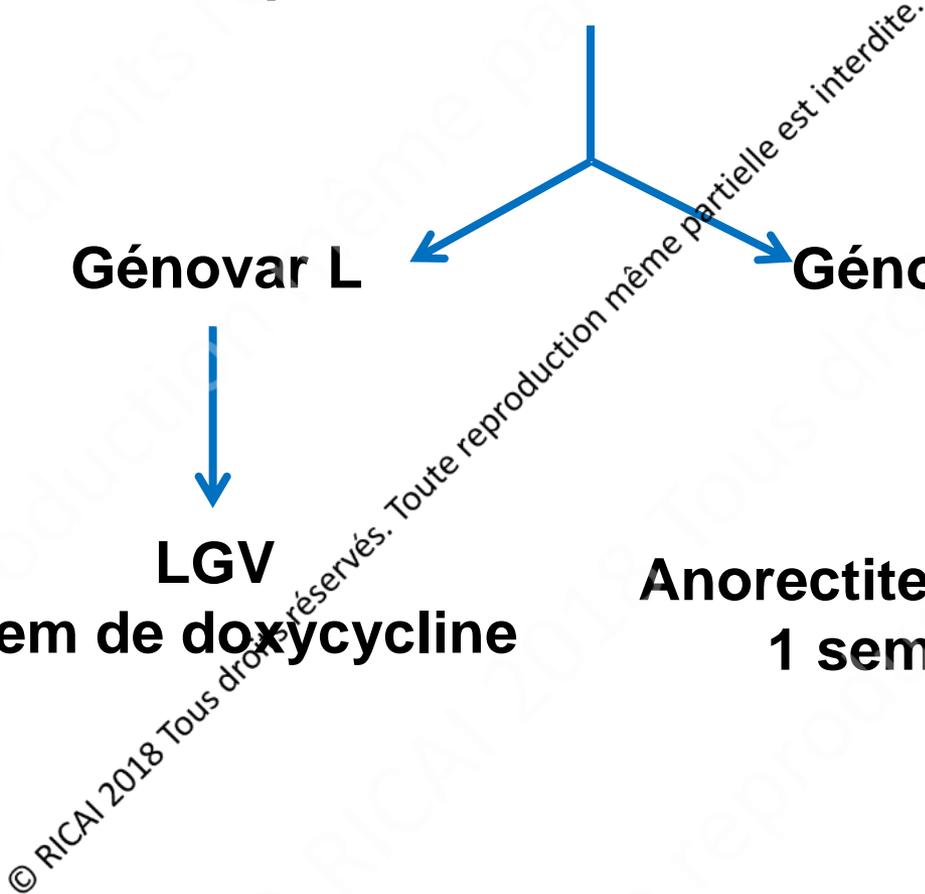
3 sem de doxycycline

Génovar non-L



Anorectite à souche non-L

1 sem doxycycline



Diagnostic de LGV

→ PCR en temps réel sur un locus

- **gène *pmpH* : délétion de 34bp**

signal + ↔ génovar L

```
A TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCTCTAGATCCATCCCCTACCGCTTCAAGCTCTTCACTCCCACAGTCAGTGATGCTCGCCAGGGATCTA
B TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCTCCAGATCCATCCCCTACCGCTTCAAGCTCTTCACTCCCACAGTCAGTGATGCTCGCCAGGGATCTA
Ba TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCTCCAGATCCATCCCCTACCGCTTCAAGCTCTTCACTCCCACAGTCAGTGATGCTCGCCAGGGATCTA
C TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCTCCAGATCCATCCCCTACCGCTTCAAGCTCTTCACTCCCACAGTCAGTGATGCTCGCCAGGGATCTA
Da TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCTCCAGATCCATCCCCTACCGCTTCAAGCTCTTCACTCCCACAGTCAGTGATGCTCGCCAGGGATCTA
D TCTATTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGCACCAGCTCCTGCTCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
G TCTATTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGCACCAGCTCCTGCTCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
H TCTATTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGCACCAGCTCCTGCTCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
Ia TCTATTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGCACCAGCTCCTGCTCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
E TCTATTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGCACCAGCTCCTGCTCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
F TCTATTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGCACCAGCTCCTGCTCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
I TCTACTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGC-----TCCTGCTGCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
K TCTACTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGC-----TCCTGCTGCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
J TCTACTGTGCCAGCATCGACTCCTCCAGCACCAGC-----TCCTGCTGCTTCAAGCTCTTTATCTCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
L1 TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCT-----TCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
L3 TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCT-----TCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
L2 TCTACTGTGCCAACCTCATCATCAACTCCGCCTGCT-----TCCAACAGTTAGTGATGCTCGGAAAAGGGTCTA
```

Variant L2b

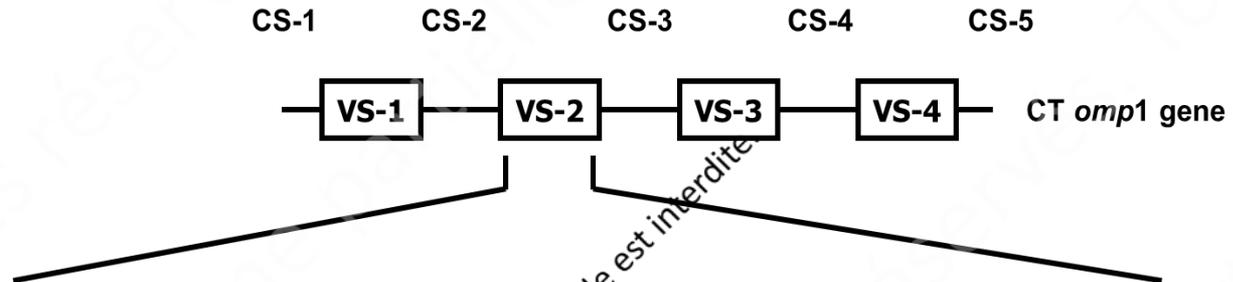
→ PCR en temps réel sur un locus

- **gène *pmpH* : insertion de 9 pb**

	1845	1855	1865	1875	1885	1895	1905	1915
L2b	TGGGATCGCT	GACGATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	TAGTCTAGT	AGTCTAGTA	ACGGGGTTAC	AATGAAGCGT
Forward	TGGGATCGCT GACGATTCCT TTTGT			CTTCTAG TAGTCTAGT ATGCT			TA ACGGGGTTAC AATGAAGCG	
Probe								
Reverse								
L1	TGGGATCGCT	GACGATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---ACTAGTA	ACGGGGTTAC	AATGAAGCGT
L2	TGGGATCGCT	GACGATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---ACTAGTA	ACGGGGTTAC	AATGAAGCGT
L3	TGGGATCGCT	GACGATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---ACTAGTA	ACGGGGTTAC	AATGAAGCGT
A	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	CAAT---AAT	ACCAATAGTA	ATGGGGTTGT	AAAAACAGCT
B	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	CAAT---AAT	ACCAATAGTA	ATGGGGTTGT	AAAAACAGCT
Ba	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	CAAT---AAT	ACCAATAGTA	ATGGGGTTGT	AAAAACAGCT
C	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACCC	TATCTTCTAG	CAAT---AAT	ACCAATAGTA	ATGGGGTTGT	AAAAACAGCT
D	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
Da	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	CAAT---AAT	ACCAATAGTA	ATGGGGTTGT	AAAAACAGCT
E	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
SW-E	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
F	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
G	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
H	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
I	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
Ia	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
J	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
Ja	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT
K	TGGGATCGCT	GACAATTCCT	TTTGTACTC	TATCTTCTAG	TAGT-----	---GCTAGTA	ACGGAGTTAC	AAAAAATTCT

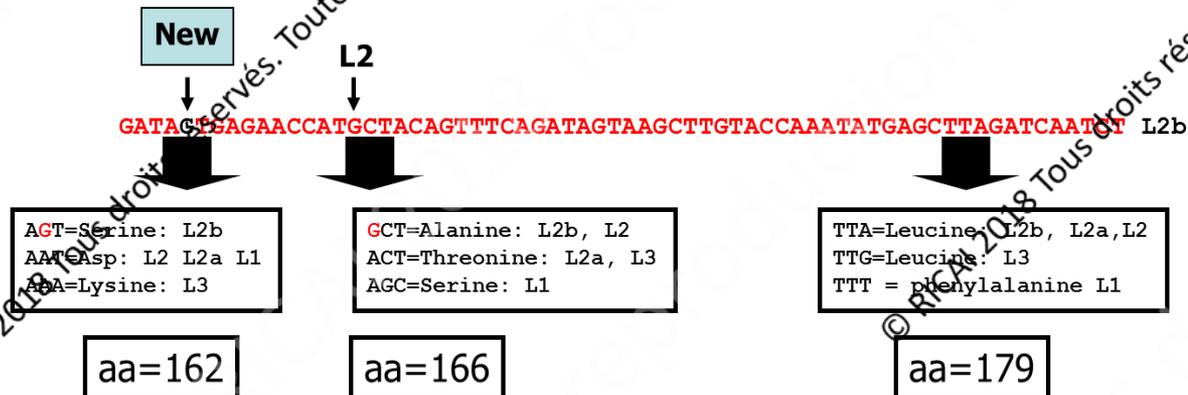
Variant L2b

→ gène *ompA*, mutation A485G



GATAATGAA**AAATCAA**AGCACGGTCAAAAAGGAT**CT**---GTACCAAATATGAGCTTTGATCAATCT L1
 ACA**AAA**ACACA**AATC**TACTA**ACTTT**AATACA**AGC**AA**GCTTGTTCCTAAC**ACTGCTTTGGATCAAGCT L3
 GATAATGAGAACCATGCTACAGTTTCAGATAGTAAGCTTGTACCAAATATGAGCTTAGATCAATCT L2
 GATAATGAGAACCATACTA**AGTTT**CAGATAGTAAGCTTGTACCAAATATGAGCTTAGATCAATCT L2a

Our patients:



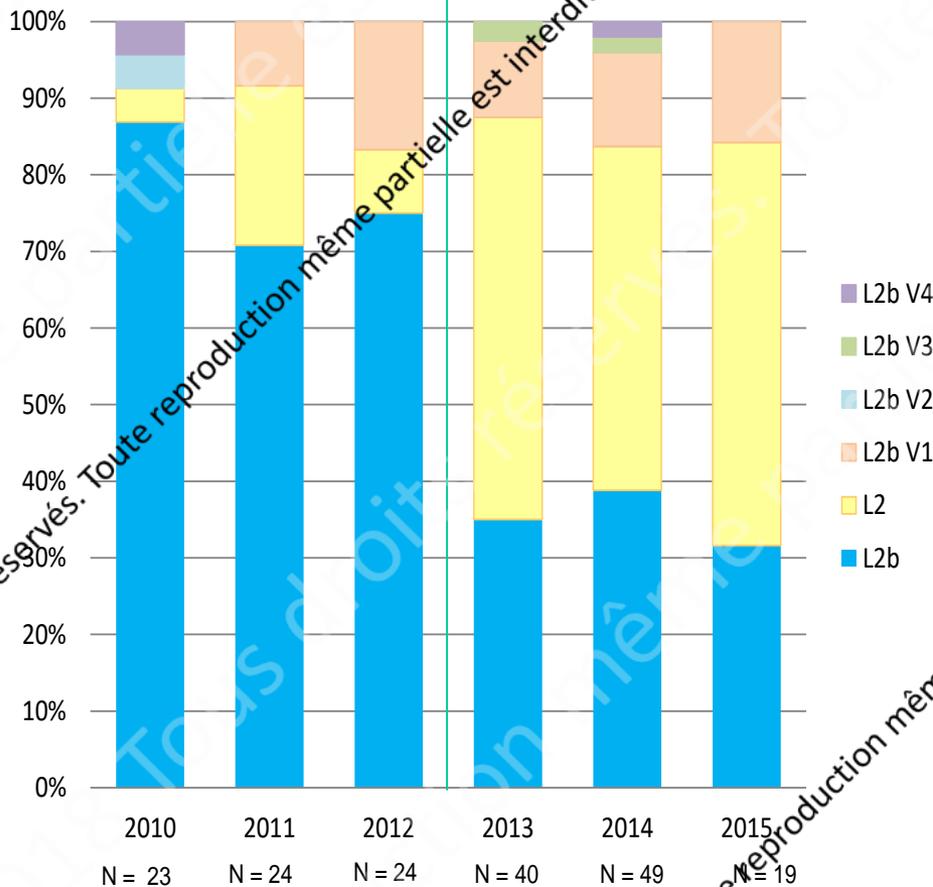
Epidémiologie moléculaire des souches de LGV

Changing Pattern of *Chlamydia trachomatis* Strains in Lymphogranuloma Venereum Outbreak, France, 2010–2015

Olivia Peuchant, Arabella Touati,
Clément Sperandio, Nadège Hénin,
Cécile Laurier-Nadalié, Cécile Bébéar,
Bertille de Barbeyrac

Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 22, No.11, November 2016

- 179 échantillons **anaux L2b positive** (gène *pmpH*)
- Janvier **2010** - avril **2015**
- Séquençage *ompA* : vérifier la présence de la **mutation L2b**



Génovar L confirmé pour tous les échantillons :

- 94/179 (52.5%) : L2b
- 61 (34%) : L2
- 24 : variants **L2b ompA**
 - ✓ **L2bV1: C517A** (Leu173Ile) (n=19)
(Rodriguez-Dominguez, CMI, 2014; Kendall, STI 2014).
 - ✓ **L2bV2: A515C** (Lys172Thr) (n=1)
 - ✓ **L2bV3: C493A** (His165Asn) (n=2)
 - ✓ **L2bV4: C286A** (Ala96Thr) (n=2)

→ **Augmentation significative des souches L2 à partir de 2013.**

→ **Les caractéristiques des patients ne diffèrent pas** (symptômes cliniques, comportement sexuel, statut VIH)

→ **La PCR L2b n'est pas spécifique** (A. Touati, O. Peuchant, N. Hénin, C. Bébéar, B de Barbeyrac, CMI, 2016)

Discordance entre PCR de détection LGV et typage MOMP

❑ 6 cas

PCR en temps réel *pmpH*: souche L
mais typage MOMP : non-L

→ L/Da (n=4) ; L/F (n=1) ; L/J (n=1)

❑ 5 cas

PCR en temps réel *pmpH* : souche non-L
mais typage MOMP : L

→ L2b (n=3) ; L2 (n=2)

→ Limite du typage : recombinaison génétique

Intérêt thérapeutique du typage moléculaire de *C. trachomatis*

Échantillon ano-rectal positif à *C. trachomatis*

Génovar L



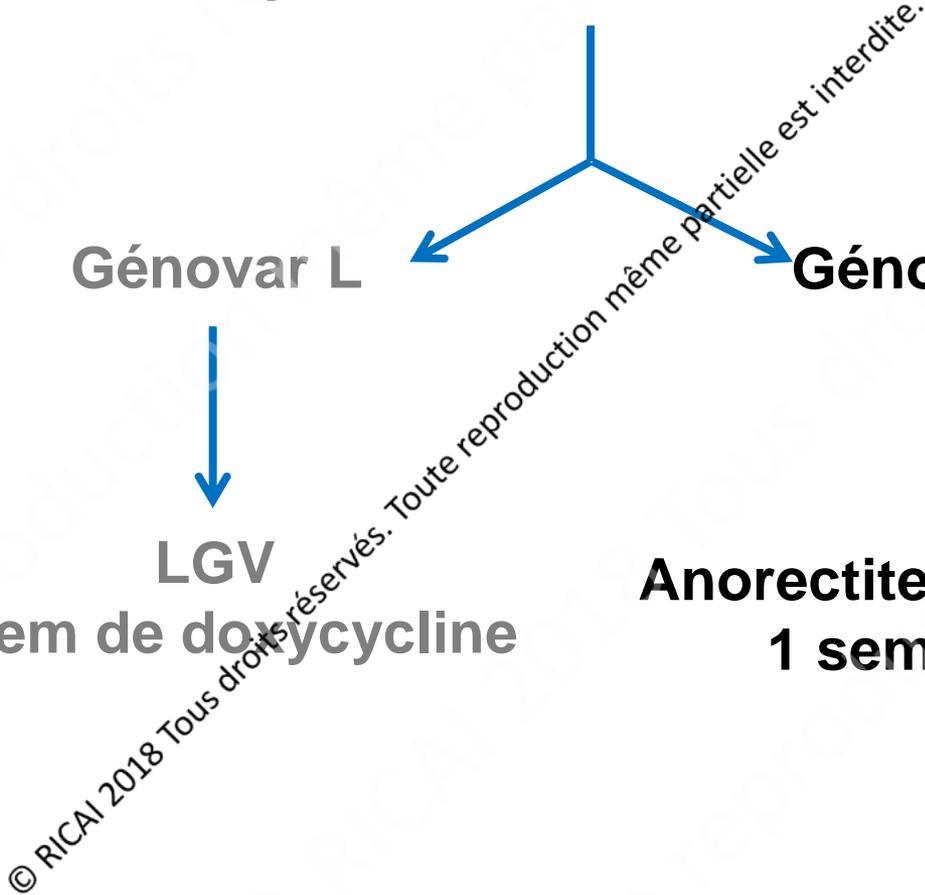
LGV

3 sem de doxycycline

Génovar non-L



**Anorectite à souche non-L
1 sem doxycycline**



Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite. © RICAI 2018

Répartition des génovars dans les échantillons urogénitaux masculins et féminins et les échantillons ano-rectaux non-L (2010-2016)

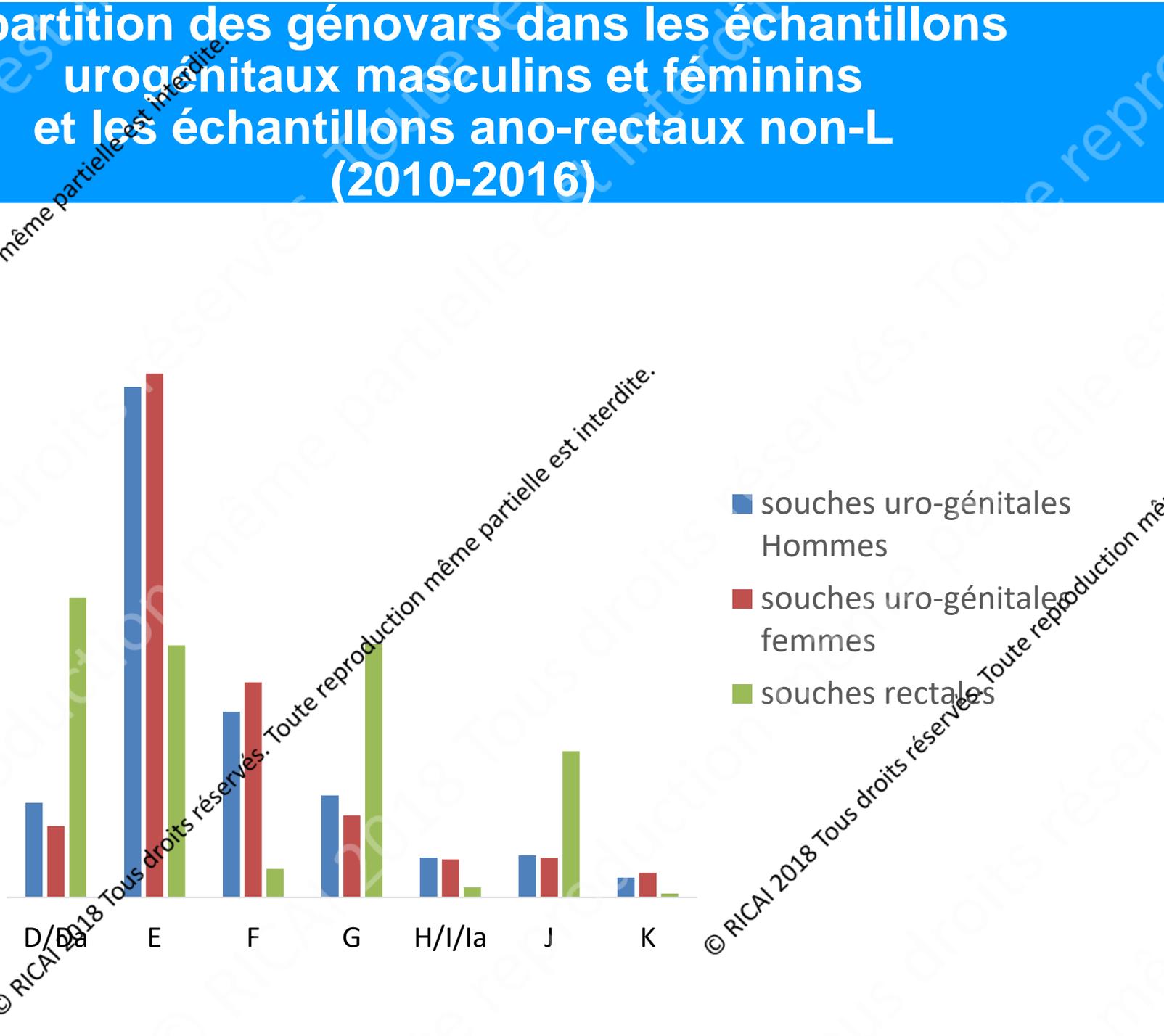
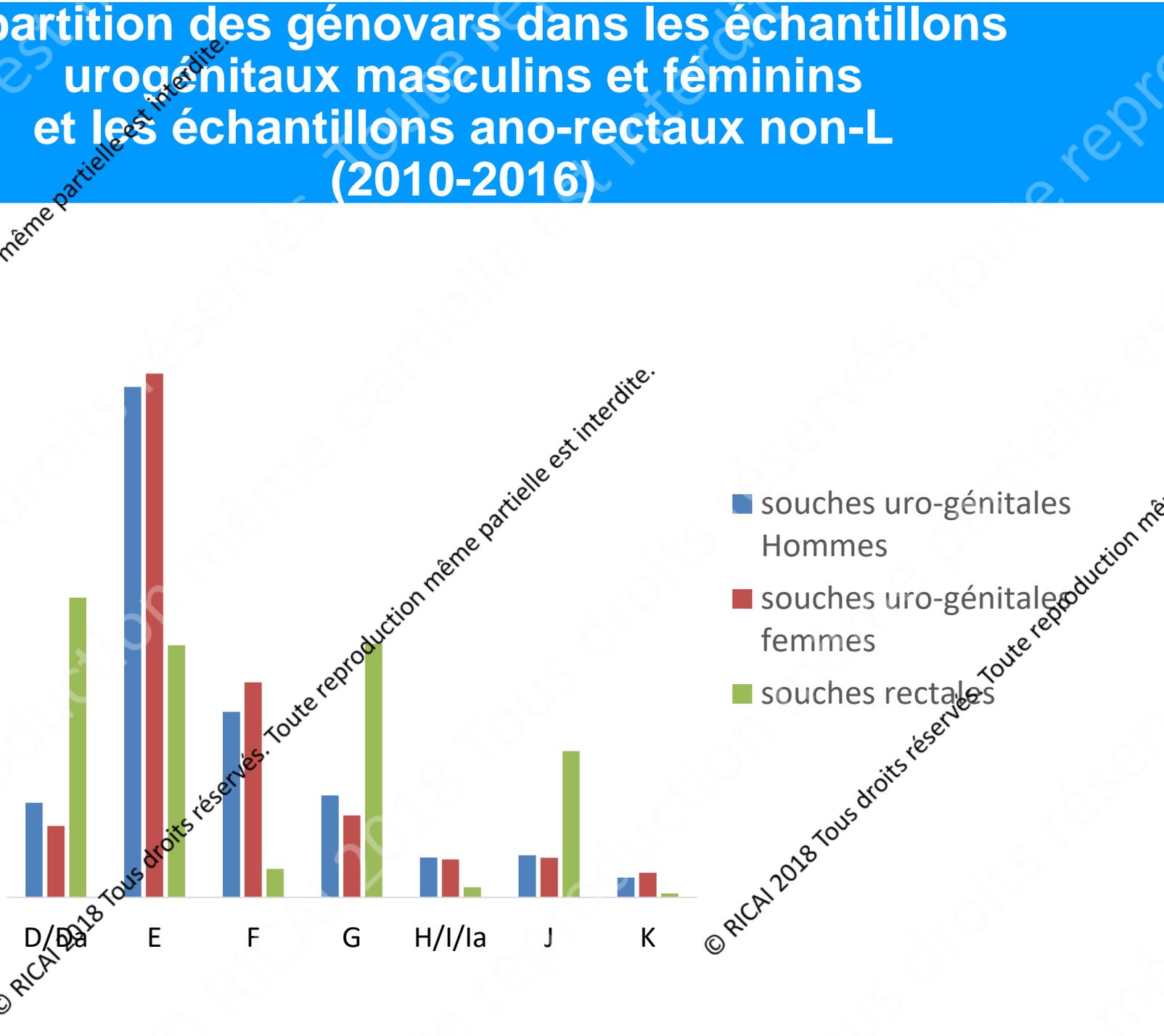
60,00%
50,00%
40,00%
30,00%
20,00%
10,00%
0,00%

D/Da E F G H/I/Ia J K

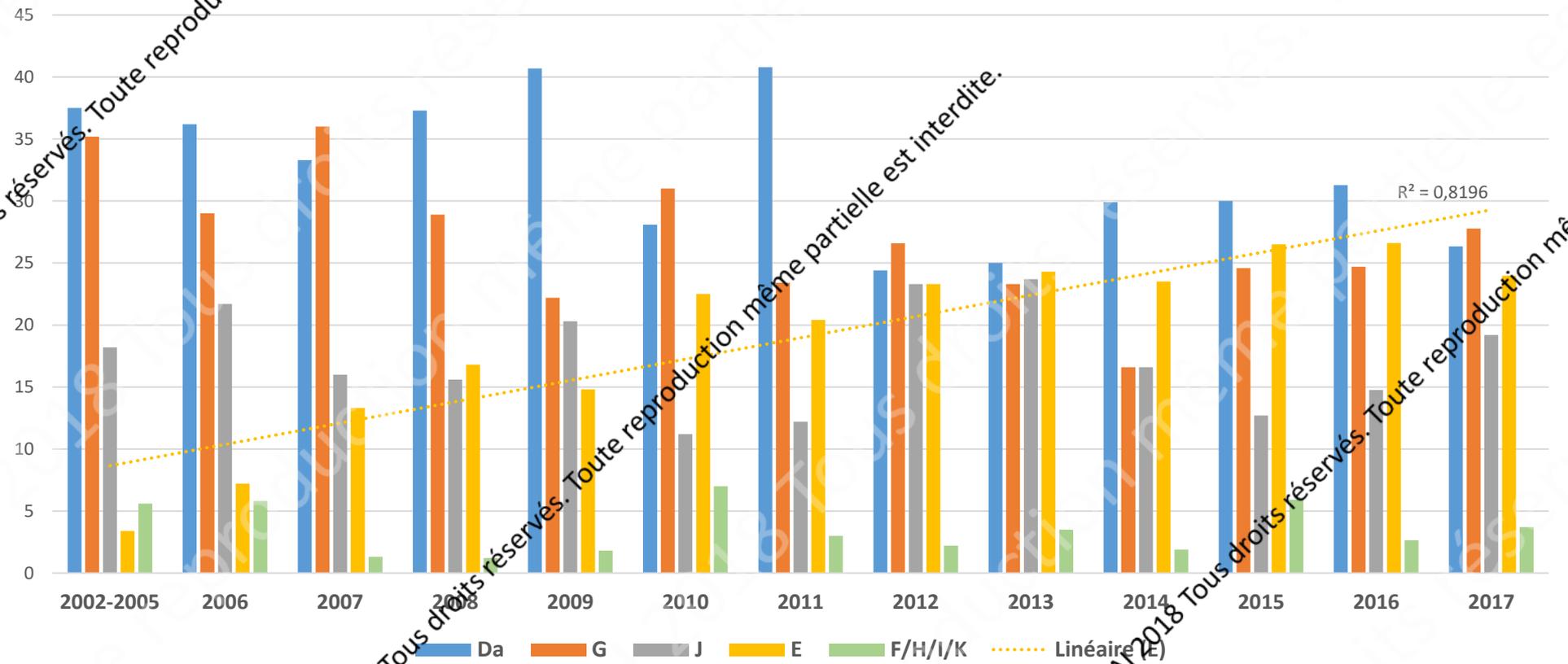
- souches urogénitales Hommes
- souches urogénitales femmes
- souches rectales

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



Répartition des génovars non-L dans les échantillons ano-rectaux (2002-2017)



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Sous-génotypage des souches E par MLVA

→ Principe

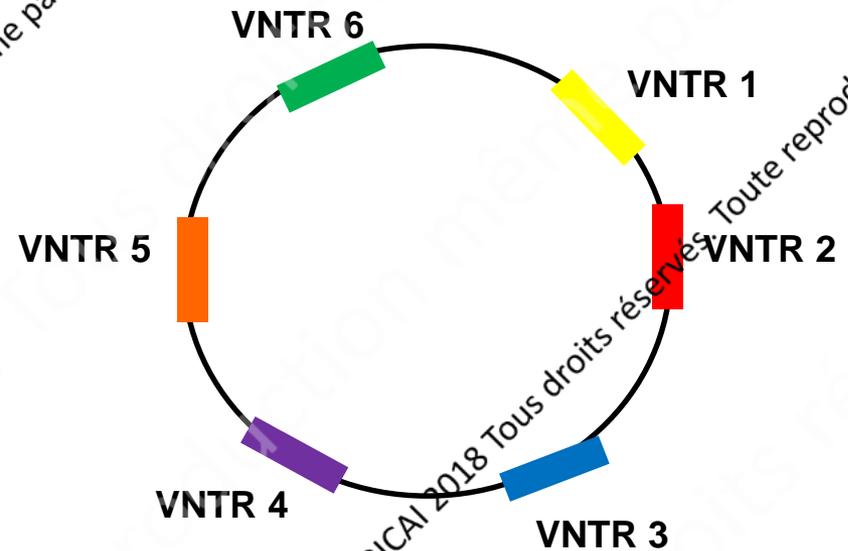
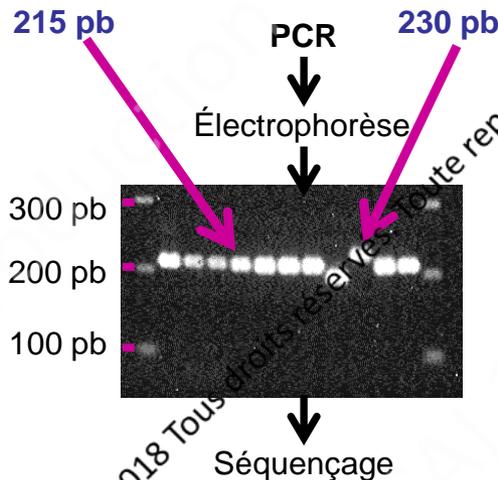
⇒ **MLVA** = « **Multi Locus VNTR Analysis** »

- Analyse de plusieurs VNTRs

⇒ **VNTR** = « **Variable Number of Tandem Repeats** »

- Séquences répétées en tandem (TR) sur un locus
- Variation du nombre de TR dépend de la souche étudiée

Souche A : 4 x 15 pb Souche B : 5 x 15 pb



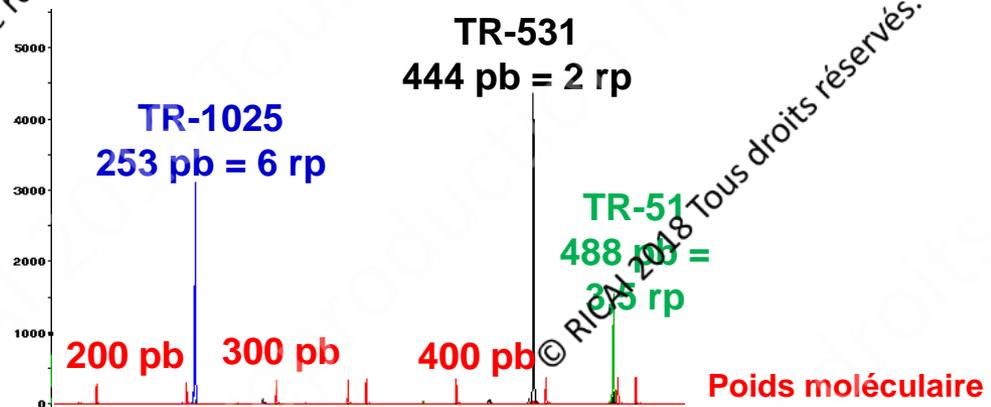
Sous-génotypage des souches E par MLVA

→ Caractéristiques des 5 VNTRs

	Taille VNTR	Homologie (%)	Produits PCR (E/Bour)	Répétitions du marqueur (E-Bour)	Localisation
TR-51	108 pb	91	604 pb	4,5	<i>hctB</i> (CT046)
TR-531	150 pb	98	440 pb	2	<i>tarP</i> (CT456)
TR-719	3 pb	100	208 pb	3	intergénique
TR-1025	3 pb	94	241 pb	3	CT868
TR-1035	6 pb	83	151 pb	6	<i>pmpH</i> (CT872)

→ Analyse GeneScan®

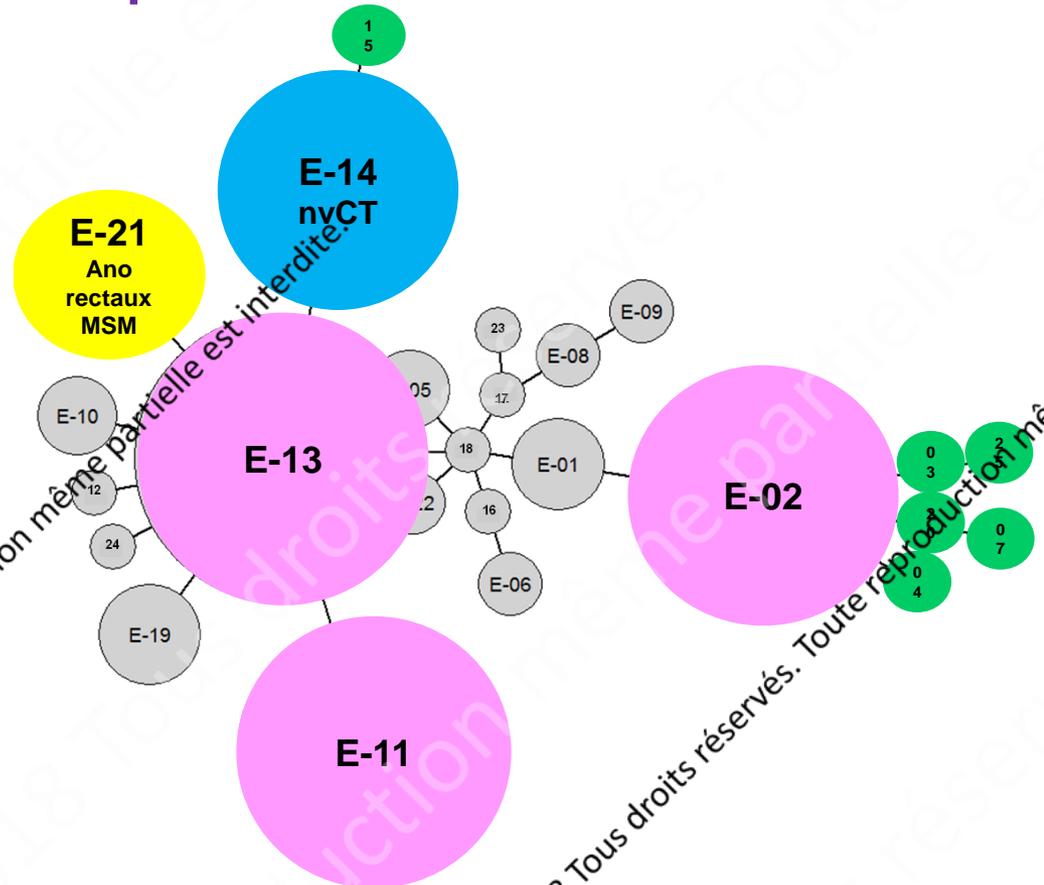
PCR triplex
TR-51; TR-531; TR-1025
Souche E344



Sous-génotypage des souches E par MLVA

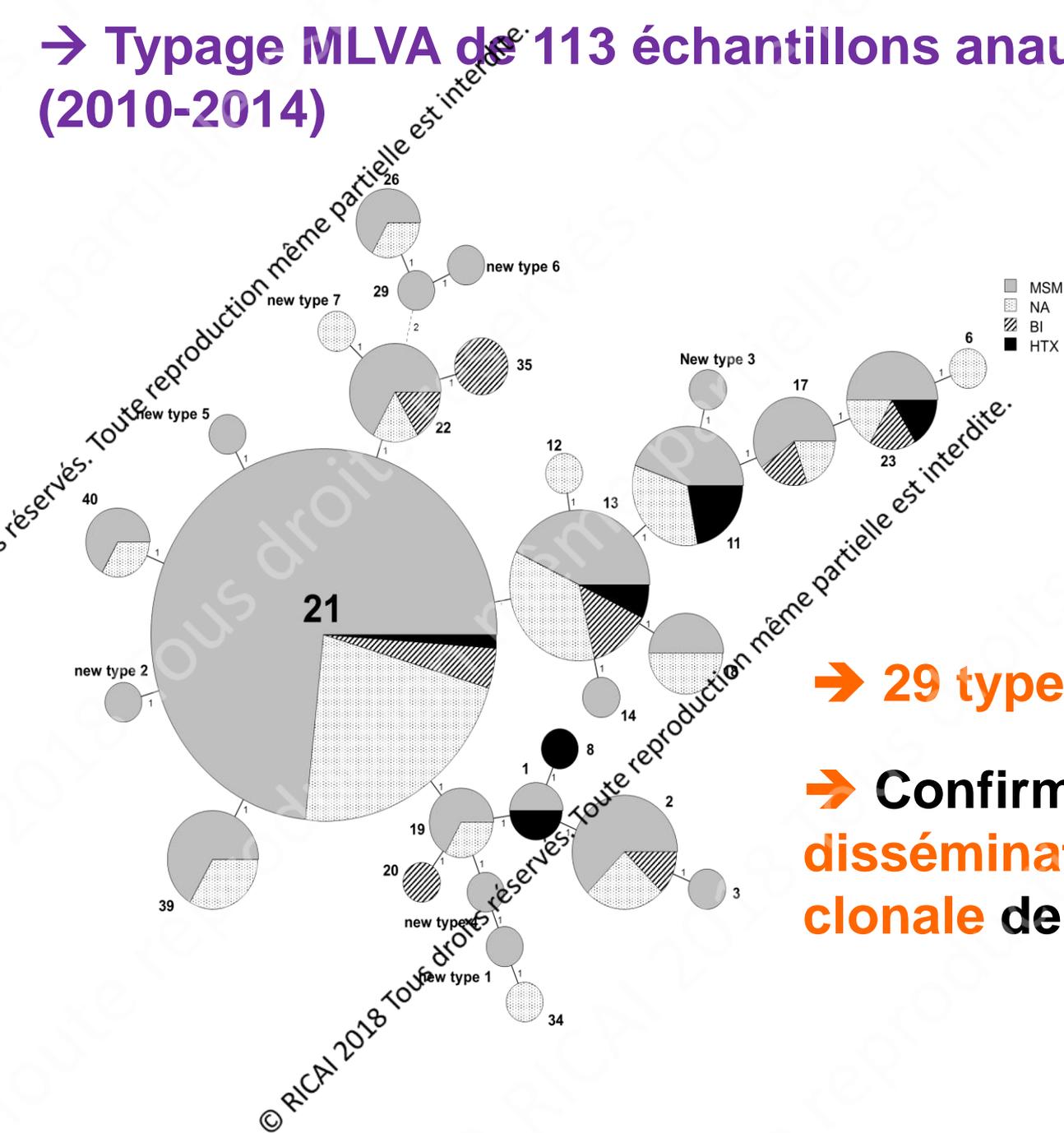
→ Application à des échantillons cliniques

- 174 génitaux bas (1987-2011)
- 14 génitaux hauts (1990-2005)
- 11 souches/éch ano-rectaux (2005-2010)
 - 9 MSM E-21; 1 ♀ et 1 ♂ E-13
- 20 échantillons suédois nvCT (2009): E-14
- 10 échantillons de patients (2007-2011) avant et après TTT : même type MLVA-5



→ 25 types MLVA-5 (E-01 à E-25)

→ Typage MLVA de 113 échantillons anaux de génovar E (2010-2014)



95 MSM
 11 bisexuel
 7 hétérosexuel

→ 29 types MLVA-5

→ Confirmation de la dissémination d'une souche clonale de type E chez les MSM

© RICA I 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Conclusions

→ Génomars responsables des infections urogénitales en France métropolitaine

- **E (50%)** > **F (15%)** > **G = D/Da (10% chaque)**
- **Identique** chez l'homme et la femme
- **Typage des souches DROM en cours**

→ Génomars responsables des infections ano-rectales

- **D/Da = G ≈ E (25% chaque)** > **J (15%)**
- **Dissémination** d'une souche ano-rectale **clonale E-21 (MLVA)** chez les **HSH**

→ LGV anorectale

- **ompA: L2** avec des **variants L2b**

Remerciements

CNR des IST bactériennes Bordeaux - Paris



C. trachomatis

Dr B. de Barbeyrac
Dr O. Peuchant

Laboratoire de
Bactériologie
CHU Bordeaux

N. gonorrhoeae

Pr B. Berçot

Laboratoire de
Bactériologie
Hop. St Louis (APHP)

Mycoplasmes urogénitaux

Dr S. Pereyre

Laboratoire de
Bactériologie
CHU Bordeaux

T. pallidum

Pr N. Dupin

Laboratoire de
dermatologie
CH Cochin-Hôtel Dieu-
Broca (APHP)

Chlamydia:

Olivia Peuchant
Cécile Laurier
Arabella Touati
Elodie Ladevèze
Nadège Hénin