

relativement circonscrite à l'Ile-de-France. La diffusion des informations concernant cette épidémie a été faite auprès des praticiens concernés (proctologues, dermato-vénérologues, infectiologues, Ciddist, biologistes) *via* notamment leurs sociétés savantes. La diffusion de recommandations préconisant des prélèvements anorectaux chez les personnes à risque aurait dû entraîner, si l'épidémie de LGV se propageait en France, une augmentation du nombre de diagnostics d'infection ano-rectale dans d'autres régions que l'Ile-de-France.

Remerciements

Aux biologistes des laboratoires privés et publics, liste consultable sur le site de l'InVS : www.invs.sante.fr/display/?doc=beh/2008/05_06/index.htm

Références

- [1] Bulletin de santé de l'ORS de l'Ile-de-France n° 11. Suivi de l'infection à VIH/sida en Ile-de-France Les jeunes face au VIH/sida : épidémiologie et aspects de la prévention. Novembre 2006, 8 pages.
- [2] Velter A, Bouyssou-Michel A, Pillonel J, Jacquier G, Semaille C. Baromètre gay 2005 : enquête auprès des hommes fréquentant les lieux de rencontre gay franciliens. Bull Epidemiol Hebd. 2006; 25:178-180.

[3] Herida M, Michel A, Goulet V, Janier M, Sednaoui P, Dupin N et al. L'épidémiologie des infections sexuellement transmissibles en France. Méd Mal Infect. 2005; 35:281-9.

[4] Surveillance nationale des maladies infectieuses 2001-2004. Les infections à *C. trachomatis* en France en 2000 : données du réseau Rénachla. InVS, janvier 2003 disponible à : <http://www.invs.sante.fr/publications>

[5] Fenton KA, Lowndes CM. Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union. Sex Transm Infect. 2004 Aug; 80(4):255-63.

[6] Aral SO, Fenton KA, Holmes KK. Sexually transmitted diseases in the USA: temporal trends. Sex Transm Infect. 2007 Jul; 83(4):257-66.

[7] BEH numéro thématique: *Chlamydia trachomatis*: études de prévalence dans des structures de médecine à vocation préventive. Octobre 2006, N° 37-38 pp. 275-90.

Recherche de la présence en France du variant suédois de *Chlamydia trachomatis* en 2007

Bertille de Barbeyrac (bertille.de.barbeyrac@labbebear.u-bordeaux2.fr)¹, Sophie Raherison¹, Sylvie Cado², Sabine Trombert², Françoise Normandin³, Maïthé Clerc¹, Vincent Clairet², Christiane Bébéar¹, Véronique Goulet⁴

1 / Centre national de référence des infections à Chlamydiae, Université Victor Segalen Bordeaux2, France 2 / Laboratoire Pasteur Cerba, Saint-Ouen-L'Aumône, France 3 / Maison départementale de la santé, Bordeaux, France 4 / Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Résumé / Abstract

Introduction – En 2006, une souche de *Chlamydia trachomatis* présentant une délétion sur son plasmide cryptique a été identifiée en Suède. Cette souche n'est pas détectée par les tests de biologie moléculaire couramment utilisés en France ciblant cette séquence plasmidique.

Méthodes – Dans le cadre de leur mission de surveillance, le Centre national de référence des infections à *chlamydiae* (CNR) et l'Institut de veille sanitaire (InVS) ont mis en place une étude avec la participation de laboratoires. Cette souche a été recherchée sur 3 082 échantillons urogénitaux d'origines géographiques variées, dont 1 645 positifs à *C. trachomatis*.

Résultats – Le nouveau variant a été détecté dans un cas, celui d'une femme de l'Union européenne, non française, consultant un centre de dépistage anonyme de Bordeaux.

Conclusion – Le nouveau variant ne semble pas pour l'instant s'être implanté en France, mais la surveillance basée sur l'analyse d'échantillons testés positifs par une méthode détectant le variant doit continuer.

Investigation on the presence of the Swedish *Chlamydia trachomatis* variant in France in 2007

Introduction – In 2006, a plasmid deletion mutant of *Chlamydiae trachomatis* was identified in Sweden that can not be detected with the commercial tests usually used to target the deleted area.

Methods – In order to study the spread of this strain in France, a laboratory-based surveillance system was set-up by the National Reference Centre for *Chlamydiae* and the French Institute for Public Health Surveillance - InVS on 3,082 clinical samples from different geographical areas, of which 1,645 were positive for *C. trachomatis*.

Results – The new variant was detected in only one case, who was a non-French resident, originating from the European Union, and had consulted a sexually transmitted infections (STI) clinic in Bordeaux.

Conclusion – Although the new variant does not seem to be established in France as yet, surveillance based on the testing of *C. trachomatis*-positive samples from all over France should continue.

Mots clés / Key words

C. trachomatis, variant suédois, surveillance / *C. trachomatis*, Swedish variant, surveillance

Introduction

Un variant de *C. trachomatis*, délété de 377 paires de bases (pb) sur son plasmide cryptique, a été identifié en Suède [1]. Cette délétion est située dans une séquence plasmidique ciblée par des trousses de biologie moléculaire commercialisées très largement utilisées en Europe, comme celles de Roche (Cobas AmpliCor[®], Cobas TaqMan[®]) et Abbott (Real Time PCR CT[®] et CT/NG[®]). La figure montre l'emplacement des amorces de PCR de la trousse Roche sur la séquence plasmidique des souches, sauvage et mutée. En conséquence, ces trousses génèrent des résultats faussement négatifs chez

des patients infectés par ce nouveau variant. La Suède a donné l'alerte fin 2006 en informant l'Union européenne par l'intermédiaire du système d'alerte EWRS (*Early Warning Response System*) et du réseau ESSTI (*European Surveillance of Sexually Transmitted Infections*). En décembre 2006, en réponse à l'alerte européenne, les deux industriels concernés, Roche et Abbott, ont informé leurs clients du défaut de leur trousse et l'Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) a émis un bulletin d'alerte [2]. La recommandation proposée était d'utiliser un autre test détectant le variant en cas de suspicion d'infection à *C. tracho-*

matis chez un sujet présentant un résultat négatif avec leur test.

La plupart des pays européens ont recherché cette souche sur des prélèvements réalisés chez eux. A l'heure actuelle, la dissémination de cette souche en Europe semble être très limitée. Moins de 10 souches ont été détectées en Norvège, et très récemment au Danemark et en Irlande [3-5]. Ce nouveau variant n'a pas été détecté dans 515 échantillons de patients consultant dans un centre IST à Amsterdam, ni dans 1 066 échantillons positifs à CT en Angleterre, ni même dans une étude antérieure irlandaise portant sur 8 797 échantillons

[6-8]. Dans d'autres parties du monde, aucun variant n'a été trouvé aux USA (Midwest) ni à Melbourne, Australie [9,10].

Afin d'évaluer la présence de cette souche sur le territoire français, un système de surveillance a été mis au point par le Centre national de référence (CNR), et l'Institut de veille sanitaire (InVs). En France, environ 1 500 laboratoires effectuent la détection de *C. trachomatis* sur des échantillons urogénitaux. Plus des trois quart de ces diagnostics sont faits par des techniques de biologie moléculaire dont environ 70 % sont des tests PCR Roche inaptes à détecter ce variant.

Au-delà de la nécessité d'identifier tous les cas infectés, de manière à les traiter, il importe également de connaître l'extension de cette souche pour en étudier les caractéristiques de virulence et de sensibilité aux antibiotiques.

Matériel et méthodes

Le CNR des *Chlamydiae* a fait une étude rétrospective sur des échantillons conservés dans son laboratoire ou transmis par d'autres laboratoires. Il s'agissait :

- de prélèvements urogénitaux consécutifs de patients consultant dans quatre Centres d'information et de dépistage des IST (Ciddist) à Paris et Bordeaux en novembre 2006. Ces échantillons testés dans leur laboratoire d'origine par une PCR Roche ont été analysés au CNR par une technique d'amplification ciblant le gène chromosomique *omp1* [11] ;

- d'échantillons détectés positifs par le laboratoire Pasteur Cerba, entre juillet 2006 et septembre 2007, par une technique (Abbott Artus Real Time *CT*®) capable de détecter le variant suédois. Le laboratoire Pasteur Cerba centralise des prélèvements envoyés par des laboratoires situés en France métropolitaine et Outre-Mer. Il traite environ 3 500 prélèvements par mois dont la proportion de positifs est d'environ 3,9 %. Ces échantillons ont été testés par le CNR par une technique de détection spécifique de ce variant, technique par sondes de FRET (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*) décrite par Ripa *et coll.* ou par une technique d'amplification ciblant la région délétée du plasmide, développée au CNR [11,12].

De plus, tous les prélèvements endocervicaux et urétraux masculins, transmis en routine au CNR de Bordeaux, ont été testés par deux techniques simultanément, culture cellulaire et test PCR Roche.

Figure Séquences plasmidiques des souches sauvage (WT, wild type) et mutée et position des amorces CP24 et CP27 de la trousse Roche (surlignées) / Figure Plasmidic sequence of strains, wild-type strain (WT) and mutant strain, and CP24 AND CP27 primers position of the Roche kit (underlined)



Les deux flèches marquent le début et la fin de la délétion de 377pb

Résultats

Un total de 1 645 échantillons positifs à *C. trachomatis* parmi 3 082 ont été analysés. L'ensemble des résultats est montré dans le tableau.

Le variant suédois n'a pas été identifié dans les prélèvements et les échantillons positifs étudiés rétrospectivement, que ce soit dans les 62 positifs parmi les 784 échantillons consécutifs des centres IST de Paris (n = 332) et Bordeaux (n = 452) en novembre 2006, et dans les 1 548 échantillons

positifs de 1 539 patients (908 femmes et 631 hommes) du laboratoire Pasteur Cerba.

Parmi les 35 cultures positives des 750 échantillons cultivés à Bordeaux depuis juillet 2006, le nouveau variant a été détecté dans un prélèvement d'une femme consultant le centre IST en mars 2007. Cet échantillon était positif en culture et négatif en PCR Roche. La souche appartient au sérovar E, déterminé par PCR-RFLP [13], comme le variant suédois décrit par Ripa *et coll.* La délétion sur le plasmide a été vérifiée par séquençage et par la technique de sondes de FRET [12]. Malheureusement, le dépistage étant anonyme dans les centres de dépistage en France, aucune information n'est disponible pour cette patiente, concernant en particulier son ou ses partenaires. La seule information est qu'elle habite l'Union européenne, vraisemblablement un pays nordique. Ce cas a fait l'objet d'une notification à l'AFSSAPS en avril 2007.

Discussion

Nos résultats montrent qu'à ce jour, le variant suédois n'est pas implanté en France où une seule

Tableau Résultat des recherches de la souche mutée en France / Table Results of the investigation on the mutant strain in France

Origine	Période	Nombre d'échantillons n = 3 082	Nombre de positifs n = 1 645	Nombre de souche mutée n = 1
Ciddist (Paris, Bordeaux)	Novembre 2006	784	62	0
Pasteur Cerba (Métropole, Outre-mer)	Juillet 2006-septembre 2007	1 548	1 548	0
Bordeaux	Juillet 2006-septembre 2007	750	35	1

souche a été trouvée parmi 1 645 échantillons positifs à *C. trachomatis* provenant de toute la France. Cette souche a été isolée chez une femme consultant un Ciddist où l'anonymat est de règle. Il n'a donc pas été possible d'informer la patiente et d'assurer une prise en charge adaptée de ses partenaires. Pour limiter de telles situations qui peuvent entraver des actions de santé publique, il serait souhaitable de restreindre l'anonymat aux patients qui le souhaitent. C'est la démarche adoptée dans les cliniques IST de Londres où moins de 10 % des consultants choisissent de garder l'anonymat.

Il est beaucoup plus efficace d'axer la surveillance sur des échantillons positifs susceptibles de contenir le variant que de tester un grand nombre d'échantillons négatifs. Collaborer avec des laboratoires qui utilisent la PCR Roche oblige à tester tous les prélèvements trouvés négatifs par le laboratoire d'origine. Faire reposer la surveillance sur des laboratoires utilisant des techniques capables de détecter le variant suédois est plus performant. La collaboration avec le laboratoire Pasteur Cerba qui utilise ces techniques et qui reçoit un grand nombre d'échantillons biologiques de toute la France métropolitaine et d'Outre-Mer a permis de mettre en place rapidement une surveillance sur l'ensemble du territoire.

En Suède, c'est la décroissance de 25 % de la détection de *C. trachomatis* au début 2006 qui a donné l'alerte. En France, les données de surveillance du réseau Rénachla montrent que l'augmentation du nombre de diagnostics d'infection à *C. trachomatis* observée de 1998 à 2005 [14], a continué en 2006 et 2007, alors que les méthodes de détection n'ont pas changé.

La raison de l'apparition de ce variant est inconnue. Il est avancé l'hypothèse que le dépistage intensif effectué en Suède à l'aide d'un test ciblant le plasmide ait favorisé la sélection de cette souche et permis sa dissémination (Ripa, communication IUJSTI, Dubrovnik, octobre 2007).

Nos connaissances actuelles sur la présence de ce variant en France ne permettent pas de recommander l'utilisation exclusive de techniques capables de détecter le nouveau variant.

Roche [15] et Abbott sont en train de développer un nouveau test capable de détecter les souches sauvages et les souches mutées en ajoutant dans leur milieu réactionnel de PCR des amorces ciblant soit le gène chromosomique *omp1* (Roche), soit une autre région du plasmide non affectée par la délétion (Abbott). Ces PCR multiplex détectent les souches connues (sauvages ou mutées) mais ne permettent pas de reconnaître spécifiquement le

nouveau variant. Ces tests permettront de faire le diagnostic d'infection à *C. trachomatis* et donc de traiter le patient mais pas de déterminer la présence du variant dans un échantillon positif. Pour étudier la dissémination du variant il faudra donc utiliser, en plus de ce test, un test capable de différencier la souche sauvage de la souche mutée. La technique de sondes de FRET décrites par Ripa et coll., détecte uniquement le mutant puisque ces sondes ciblent des séquences situées de part et d'autre de la délétion. Il n'y a un signal positif que si les deux sondes sont adjacentes, c'est-à-dire quand le plasmide est délété. Un résultat positif permet donc d'affirmer la présence d'une souche mutée. Par contre, un résultat négatif peut signifier l'absence de souche mutée mais aussi l'absence de souche ou encore l'absence d'amplification en raison d'un problème technique.

Une nouvelle méthode, *High Resolution Melting* (HRM), basée sur l'incorporation d'un intercalant pendant l'amplification et qui caractérise l'amplifié en fonction de sa courbe de dissociation semble être très prometteuse [16]. Le profil HRM permet de différencier la souche sauvage de la souche mutée dans l'échantillon testé. Les premiers essais réalisés dans le laboratoire du CNR sont très encourageants.

Le CNR continue sa surveillance active sur tous les échantillons positifs du laboratoire Pasteur Cerba et sur tous les échantillons reçus dans son laboratoire, en espérant que le variant suédois ne s'implante pas en France avant que les tests capables de détecter ce variant soient disponibles auprès des laboratoires utilisant les PCR Roche et Abbott. Cette souche étant implantée en Suède, il paraît important que les médecins recherchent lors de l'interrogatoire la notion d'un séjour en Suède ou d'un partenaire originaire de cette région afin de communiquer cette information aux biologistes en charge de la détection de *C. trachomatis*. Les prélèvements pourront, le cas échéant, être transmis au CNR. En effet, le variant suédois a été identifié en Irlande grâce à un médecin qui a signalé au biologiste qu'il s'agissait d'un sujet suédois et de ses deux contacts.

En conclusion, les résultats de la surveillance montrent qu'il n'est pas nécessaire de retirer du commerce les trousses ne détectant pas le variant à condition que cette surveillance biologique, épidémiologique et clinique se poursuive tant que les nouvelles trousses ne sont pas disponibles.

Remerciements

Nous remercions G. Kreplack (LABM Chemin Vert, Paris), A. Bianchi (Conseil général de la Seine-Saint-Denis), T. Girard (Hôpital Cochin, Espace Santé Jeunes, Paris) pour l'envoi de leurs échantillons.

Références

- [1] Ripa T, Nilsson P. A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. *Euro Surveill.* 2006; 11(11):E061109.2. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/061109.asp#2>
- [2] Afsaps: <http://agmed.sante.gouv.fr>
- [3] Moghaddam A, Reinton N. Identification of the Swedish *Chlamydia trachomatis* variant among patients attending a STI clinic in Oslo, Norway. *Euro Surveill.* 2007; 12(3):E070301.3. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070301.asp#3>
- [4] Björn Herrmann. A new genetic variant of *Chlamydia trachomatis*. Sexually Transmitted Infections 2007; 83:253-4.
- [5] Lynagh Y, Walsh A, Crowley B. First report of the new variant strain of *Chlamydia trachomatis* in Ireland. *Epi-Insight* 2007; 8(7):4. Disponible à : <http://www.ndsc.ie/hpsc/EPI-InsightVolume82007/File,2424,en.PDF>
- [6] Lynagh Y, Crowley B, Walsh A. Investigation to determine if newly-discovered variant of *Chlamydia trachomatis* is present in Ireland. *Euro Surveill* 2007; 12(2):E070201.2. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070201.asp#2>
- [7] De Vries H, Catsburg A, Van der Helm J, Beukelaar E, Morré S, Fennema J, Thiesbrummel H. No indication of Swedish *Chlamydia trachomatis* variant among STI clinic visitors in Amsterdam. *Euro Surveill* 2007; 12(2):E070208.3. Disponible à : <http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070208.asp#3>
- [8] Alexander S, Ison C. Is new variant *Chlamydia trachomatis* present in England and Wales? *Sex Trans Inf.* 2007 (on line) Sep 12.
- [9] Van der Pol B, Pantone A, Williams JA. No evidence of *Chlamydia trachomatis* plasmid mutants in Midwestern United States. In: 17th International society for STD research. 10th International Union againsts STI; 2007 July 29-August 1; Seattle, Washington, USA; 2007. P-091.
- [10] Tabrizi SN, Stevens MA, Tan S, Horvath L, Fairley CK, Garland SM. Absence of a *Chlamydia trachomatis* variant, harboring a deletion in the cryptic plasmid, among clients of a STI clinic in Melbourne, Australia. In: 17th International Society for STD research, 10th International union against STI; July 29-August 1, 2007; Seattle, Washington, USA; July 29-August 1, 2007.
- [11] Clerc M, Ngandjo A, Bébéar C, Barbeyrac B. Development of real-time PCR for *Chlamydia trachomatis* quantification of plasmid and elementary bodies. In: Deak J, editor. Proceedings fifth meeting of the european society for Chlamydia Research; 2004 september 1-4; Hungary - Budapest: Pauker; 2004. p.75.
- [12] Ripa T, Nilsson PA. A *Chlamydia trachomatis* strain with a 377-bp deletion in the cryptic plasmid causing false-negative nucleic acid amplification tests. *Sex Trans Dis* 2007; 34(5):255-6.
- [13] Rodriguez P, Vekris A, de Barbeyrac B, Dutilh B, Bonnet J, Bebear C. Typing of *Chlamydia trachomatis* by restriction endonuclease analysis of the amplified major outer membrane protein gene. *J Clin Microbiol* 1991; 29(6):1132-6.
- [14] Institut de veille sanitaire (InVS). Lutte contre le VIH/sida et les infections sexuellement transmissibles en France. 10 ans de surveillance, 1996-2005. Plaquelette de synthèse. Juillet 2007. <http://www.invs.sante.fr/publications/default.htm>
- [15] Krevolin M, Johnson J, Lu SD, Kawa D, Yu J, Kotadia R, et al. Cobas TaqMan CT Test v2.0: detection of the Swedish variant by NAAT. In: 17th International Society for STD research, 10th International union against STI; 2007; Seattle, Washington, USA, July 29-1st August 2007, P-158.
- [16] Reed GH, Kent JO, Wittwer CT. High Resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics. *Pharmacogenomics* 2007; 8(6):597-608.

La publication d'un article dans le BEH n'empêche pas sa publication ailleurs. Les articles sont publiés sous la seule responsabilité de leur(s) auteur(s) et peuvent être reproduits sans copyright avec citation exacte de la source.

Retrouvez ce numéro ainsi que les archives du Bulletin épidémiologique hebdomadaire sur <http://www.invs.sante.fr/BEH>

Directrice de la publication : Dr Françoise Weber, directrice générale de l'InVS
Rédactrice en chef : Judith Benrekassa, InVS, redactionBEH@invs.sante.fr
Rédactrice en chef adjointe : Valérie Henry, InVS, redactionBEH@invs.sante.fr
Secrétaire de rédaction : Farida Mihoub, InVS, redactionBEH@invs.sante.fr
Comité de rédaction : Dr Sabine Abitbol, médecin généraliste ; Dr Thierry Ancelle, Faculté de médecine Paris V ; Dr Denise Antona, InVS ; Dr Catherine Buisson, InVS ; Dr Christine Chan-Chee, InVS ; Dr Sandrine Danet, Drees ; Dr Isabelle Gremy, ORS Ile-de-France ; Dr Rachel Haus-Cheymol, Service de santé des Armées ; Dr Christine Jestin, Inpes ; Eric Jouglu, Inserm CépiDc ; Dr Bruno Morel, InVS ; Josiane Pillonel, InVS ; Dr Sandra Sinno-Tellier, InVS ; Hélène Therre, InVS.
N°CPP : 0206 B 02015 - N°INPI : 00 300 1836 - ISSN 0245-7466

Diffusion / abonnements : Institut de veille sanitaire - BEH rédaction
12, rue du Val d'Osne - 94415 Saint-Maurice Cedex
Tél : 01 55 12 53 25/26
Fax : 01 55 12 53 35 - Mail : redactionbeh@invs.sante.fr
Tarifs 2007 : France et international 52 € TTC
Institut de veille sanitaire - Site Internet : www.invs.sante.fr
Imprimerie : Actis / Maulde & Renou Paris
16-18, quai de la Loire - 75019 Paris