

La tuberculose en 2019

Impact du séquençage du génome complet sur la prise en charge

Oana Dumitrescu

Institut des Agents Infectieux, Observatoire Auvergne-Rhône-Alpes des mycobactéries,
Hospices Civils de Lyon, Centre International de Recherche en Infectiologie

Conflits d'intérêts

- Rien à déclarer

La tuberculose : déficit ancien et nouveaux outils

- Prise en charge individuelle adaptée (montée des mono- et multi-résistances)
- Contrôle de la TB (lutte antituberculeuse ARS, CLAT)
- Quel peut-être l'apport des nouveaux outils moléculaires ?

Les outils pour la détection de la résistance

- **Antibiogramme phénotypique** (délai de réalisation)
- **Outils moléculaire ciblés :**
 - rpoB (déterminant de la résistance RIF) MTB/RIF Ultra Cepheid **IVD**
 - rpoB (RIF), inhA, katG (INH) : GenoType MTBDRplus HAIN **IVD**
- **Outils basés séquençage nouvelle génération (NGS)**
 - Restreint à une partie du génome : Deeplex[®]-MycTB Geno-screen **RUO**
 - Génome complet (WGS) « maison » **RUO**

Comparaison des performances des différentes techniques pour la détection de la résistance de Mtb

- 228 isolats cliniques successifs de Mtb (Nov 2016 à Nov 2018)

Line probe assay

- Genotype MTBDR plus
- Echantillon (BAAR+) / culture
- Délai : 48h

Antibiogramme

- BACTEC MGIT SIRE
- Culture
- Délai: 10 à 14 jours

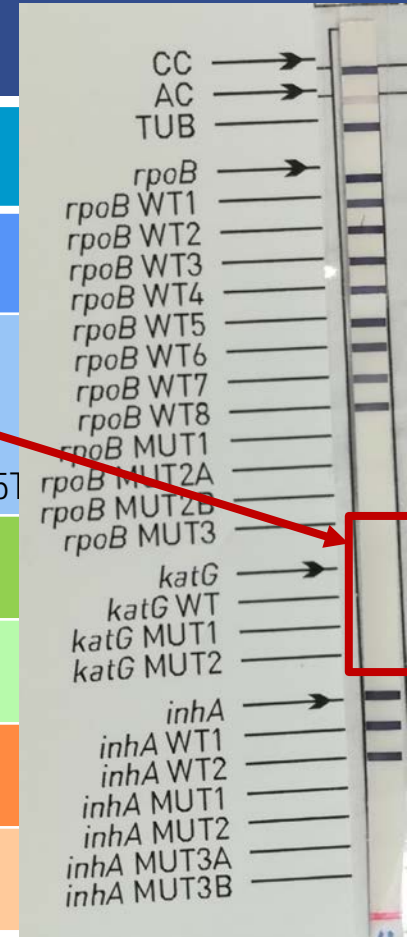
WGS

- PhyResSE/ pipeline à façon
- Culture
- Délai: 10 à 14 jours

- Gold standard: antibiogramme + mutations de résistance de haute confiance (*rpoB*, *katG*, *inhA*, promoteur *fabG1*, *embB*)

Résultats: détection des résistance INH

Souches résistantes (GS)	Type de test	Souches résistantes détectées	Variants non-détectés
Bas niveau R n = 4	LPA	3/4	<i>katG</i> Q88P
Haut niveau R n = 9		6/9	<i>katG</i> L343STOP <i>katG</i> Δ1-492 <i>inhA</i> S94A (+ <i>fabG1</i> C-157)
Bas niveau R n = 4	ATB	4/4	N.A.
Haut niveau R n = 9		9/9	N.A.
Bas niveau R n = 4	WGS	4/4	N.A.
Haut niveau R n = 9		9/9	N.A.



Résultats : détection de la résistance EMB

Souches résistantes (GS)	Type de test	Souches résistantes détectées	Variants non-détectés
n = 5	ATB	1/5	<i>embB</i> M306I <i>embB</i> Q497R <i>embB</i> S297A
n = 5	WGS	5/5	N.A.

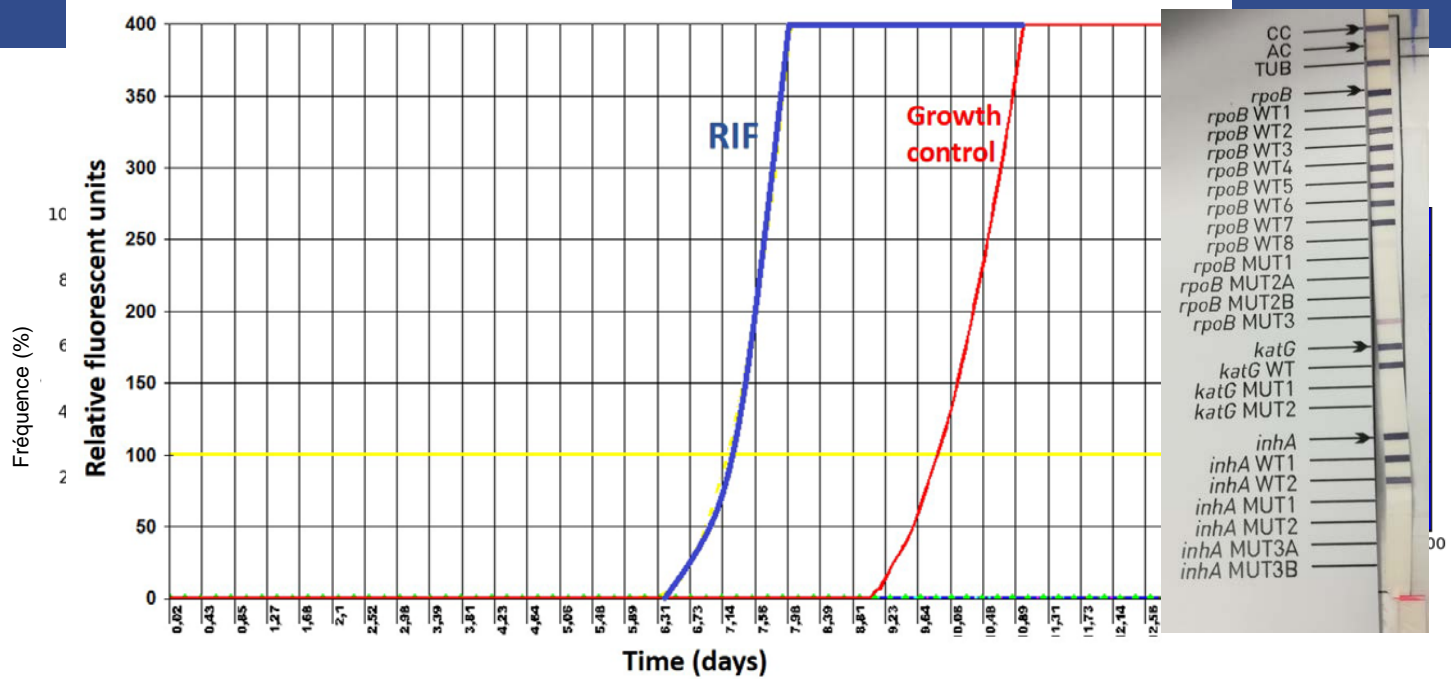
- **L'interprétation prudente des mutations *embB* :**
 - Polymorphismes sans lien causal avec la résistance EMB
 - Bio-marqueurs de résistance EMB (due à d'autres mutations ou au dérèglement de pompes à efflux)
 - Discordance entre les techniques ATB : Bactec MGIT (cc 5 mg/L) versus méthode proportions LJ (cc 2 mg/L)

Résultats : détection de la résistance RIF

Souches résistantes (GS)	Type de test	Souches résistantes détectées	Variants non-détectés
n = 5	LPA	3/5	<i>rpoB</i> L452P* (L533P) <i>rpoB</i> S450L (S531L)
n = 5	ATB	4/5	<i>rpoB</i> L452P* (L533P)
n = 5	WGS	5/5	N.A.

- *rpoB* L452P résistance de bas niveau RIF (“disputed” Miotto et al, J. Clin. Microbiol. 2018)
 - Non-détectées par le système Bactec MGIT
 - Parfois détectées par GenoType MTBDRplus (signal affaibli de la bande *rpoB*W8)

Résultats : le cas des co-infections



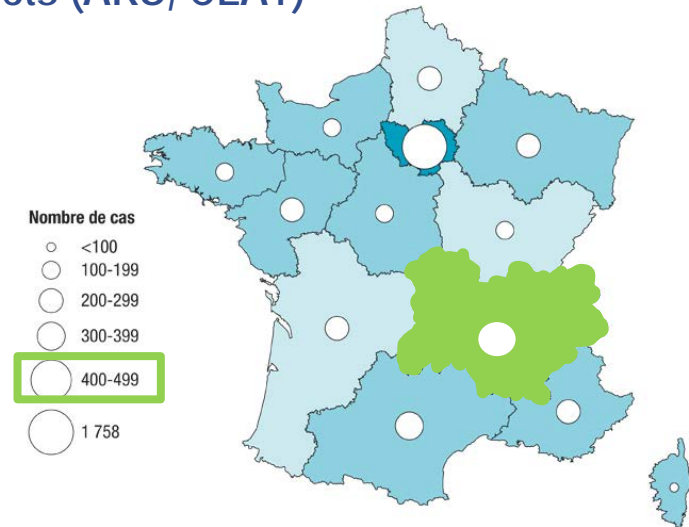
souche RIF-R

Conclusions : comparaison des techniques

- **Pour la détection de la résistance RIF :**
 - Seulement le WGS a permis la détection des 5/5 souches RIF-R
- **Pour la détection de la résistance INH :**
 - Bonne concordance entre la prédiction WGS et l'ATB
 - Les prédictions du test Genotype MTBDR étaient fausses 4/13 souches INH-R
- **Pour la détection de la résistance ETB :**
 - 4 souches ETB-R détectées en WGS et non détectées par Bactec MGIT SIRE
- **Apport indiscutable du WGS de routine pour Mtb pour la détection correcte de la résistance aux anti-TB et pour la détection des co-infections**
- **Besoin d'algorithme combinant les données ATB et WGS pour guider le traitement anti-TB et éviter l'échec thérapeutique**

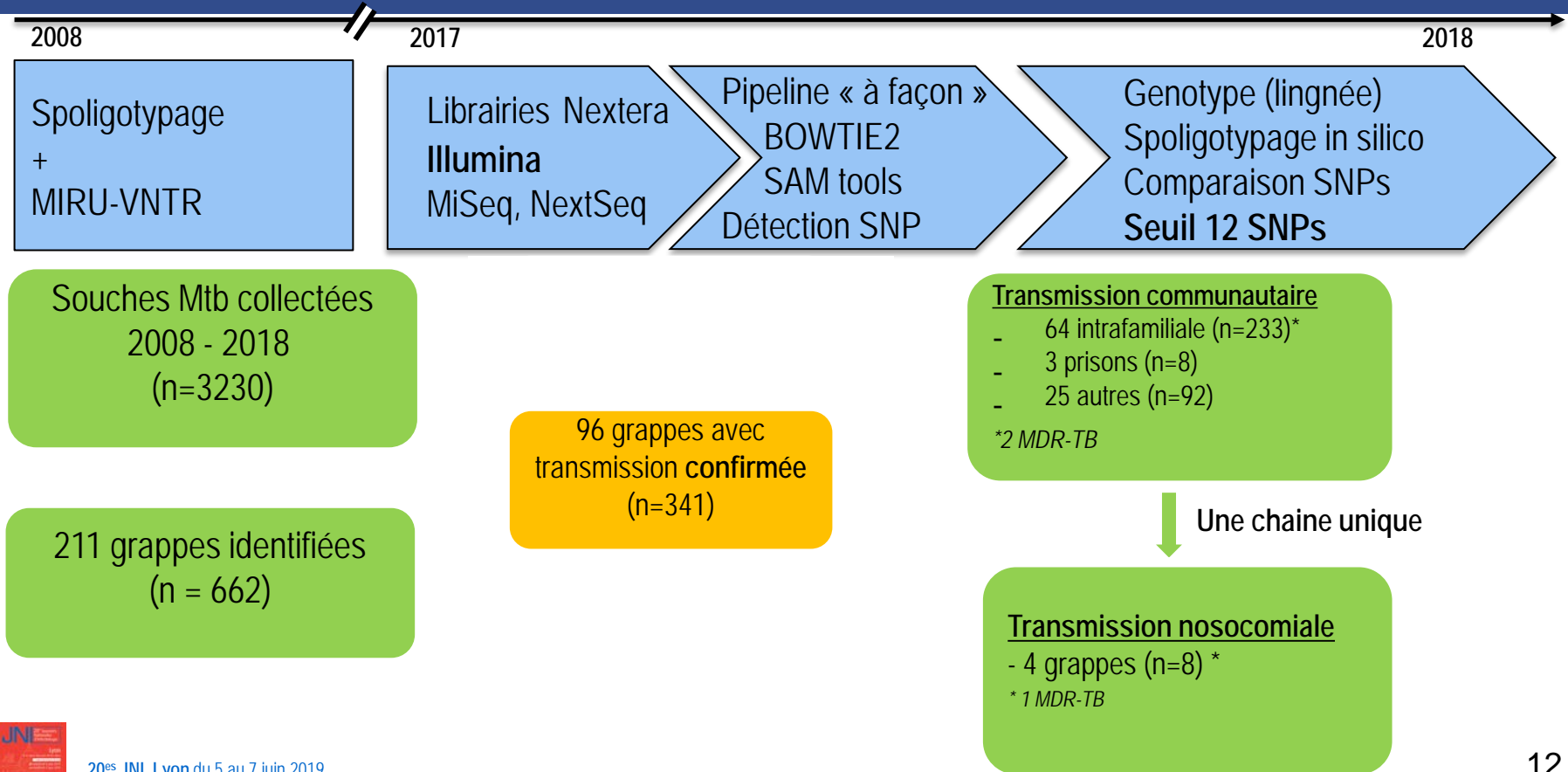
Nouveaux outils pour le contrôle de la TB

- Stratégie nationale basée sur le dépistage des contacts (ARS, CLAT)
- Surveillance moléculaire systématique
 - Identifier des situations à risque non détectées par les enquêtes classiques
 - Identifier de patients hautement contagieux
 - Améliorer l'exhaustivité de la détection des cas secondaires (parfois liés à des circonstances non-explorées initialement)
- Observatoire Auvergne-Rhône-Alpes des mycobactéries
 - Suivi moléculaire systématique depuis 2000
 - approx. 400 isolats/ an



Bulletin épidémiologique hebdomadaire, mars 2015

Surveillance moléculaire prospective



Identification des transmissions de TB inattendues dans une population hautement réceptive

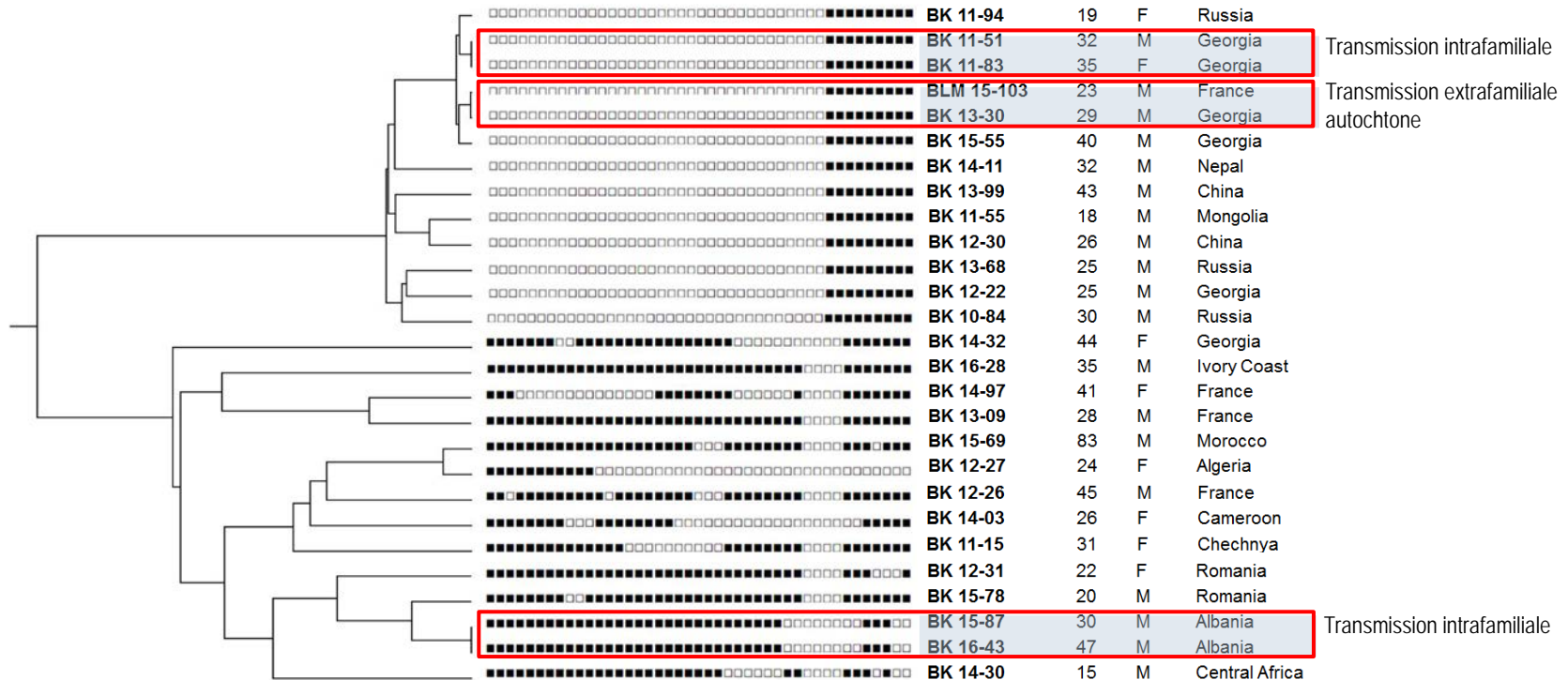
Poster BK-02

	Cas Index				Temps contact estimé	Cas secondaire			N° SNP distance
	Age	Sexe	Pathologie sous-jacente	BAAR		Age	Sexe	Pathologie sous-jacente	
1	52	M	BPCO Emphysème	+	Qqs min	24	F	Mucoviscidose Greffe pulmonaire	0
2	76	M	BPCO DNID	-	<1 heure	36	F	Mucoviscidose Greffe pulmonaire	1
3	44	M	HTA Alcoolisme	-	< 1 heure	40	F	FPI Greffe pulmonaire	4

Mise en place de mesures de prévention : éviction des patients TB des services et plateaux techniques prenant en charge les greffés

Identification de transmission autochtone de TB-MDR

Phylogénie basée sur WGS des Mtb isolés en Rhône-Alpes



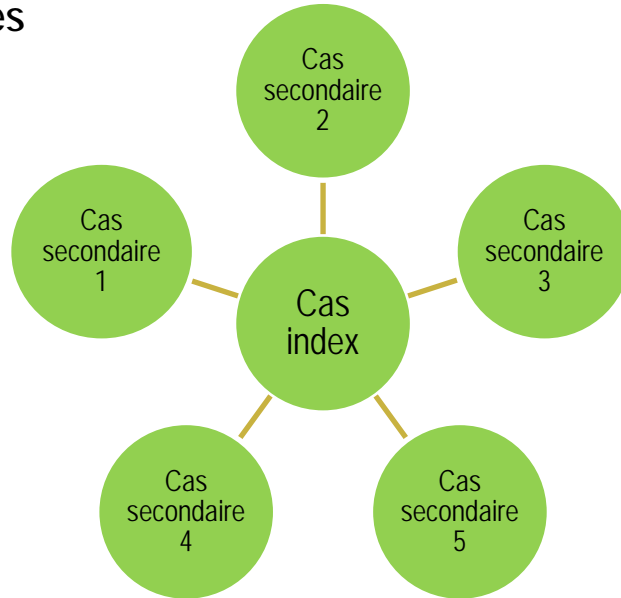
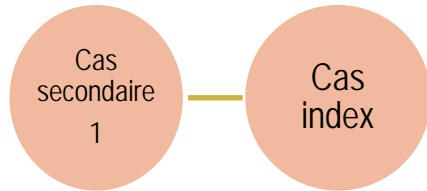
Nécessité d'améliorer les mesures d'isolement des patients bacillifères



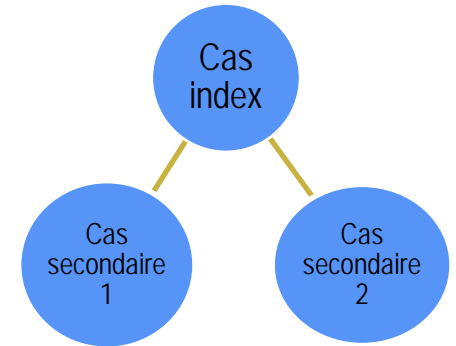
Identifier de cas index hautement contagieux

Situation supposée suite à l'interrogatoire

- Trois communautés différentes
- Transmissions intrafamiliales



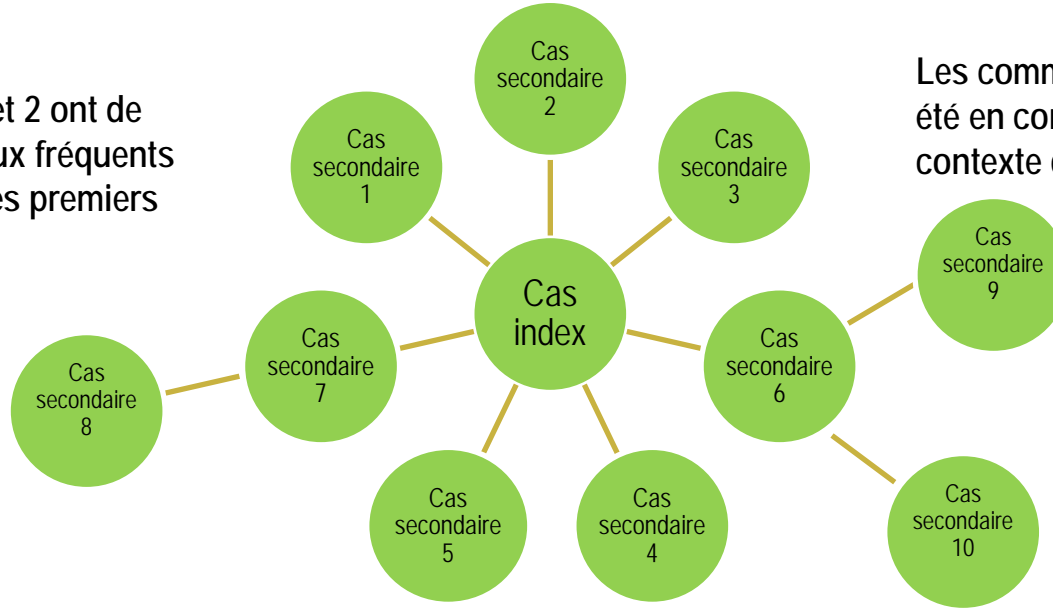
**Poster
PADS01-07**



Identifier de cas index hautement contagieux

Situation déduite après WGS (génotypage prospectif)

Les communautés 1 et 2 ont de contacts extrafamiliaux fréquents non-divulgués lors des premiers interrogatoires

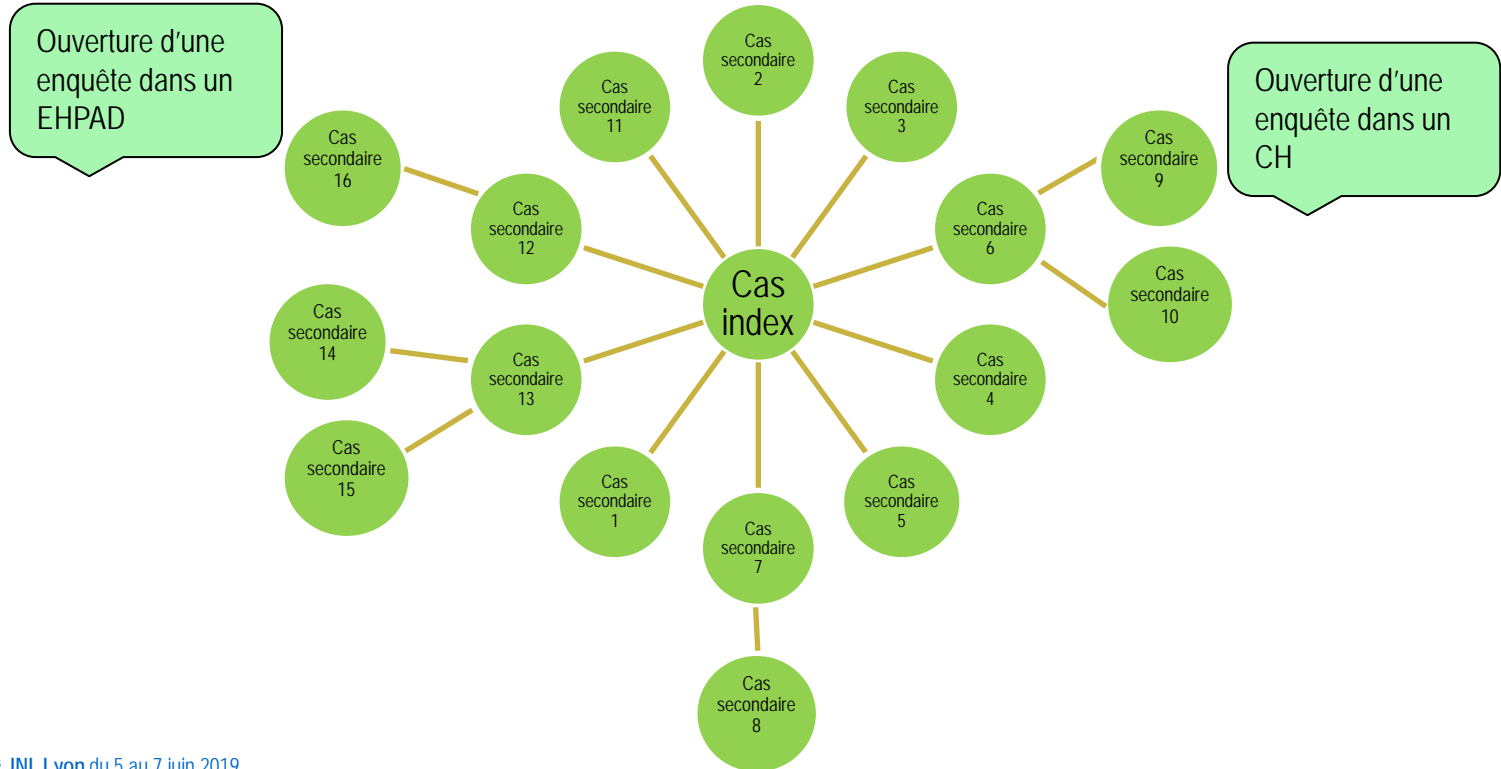


Les communautés 2 et 3 ont été en contact dans un contexte d'hospitalisation

Indication d'élargir le cercle des dépistages

Identifier de cas index hautement contagieux

Situation réactualisée après WGS et ré-interrogatoire



Conclusions : l'apport du séquençage dans le diagnostic de la TB

- En complément de l'ATB Bactec MGIT, pour la détection correcte de la résistance aux anti-TB
- Pour la détection des co-infections (attention aux co-infections Mtb-S / Mtb-MDR qui prennent en défaut tous les tests diagnostiques)
- **Surveillance moléculaire systématique**
 - En synergie avec les enquêtes classiques
 - Identifier de patients hautement contagieux et de situations à risque de transmission
 - Améliorer l'exhaustivité de la détection des cas secondaires (parfois liés à des circonstances non-explorées initialement)
 - Mettre en place de mesures de prévention adaptées

Merci pour votre attention



Équipe du laboratoire des mycobactéries HCL

Participants au réseau ORAM

ARS ARA, CLAT69, CLAT01

Lyon TB study group

