

Mycobacterium tuberculosis **et émergence de la résistance** **aux antibiotiques**

UER Microbiologie Générale 2

Olivia Peuchant

2023-2024

Caractères bactériologiques

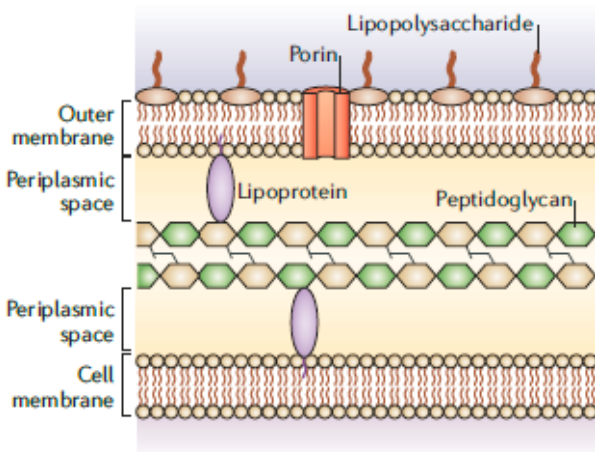
→ Ordre des *Actinomycetales*

1 seul genre *Mycobacterium*

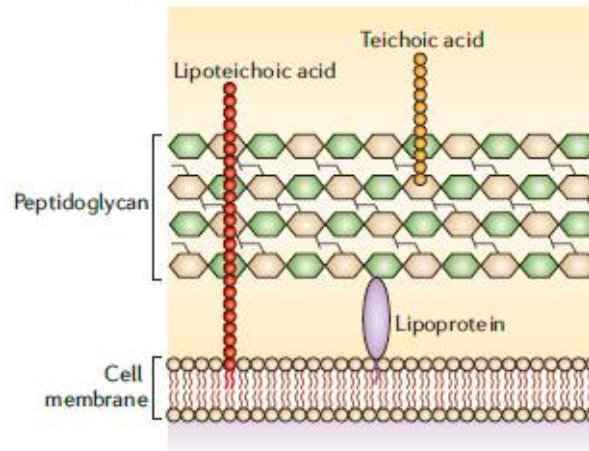
→ Caractères bactériologiques

- Paroi : acides mycoliques
- Bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR)
- Coloration de Ziehl Neelsen

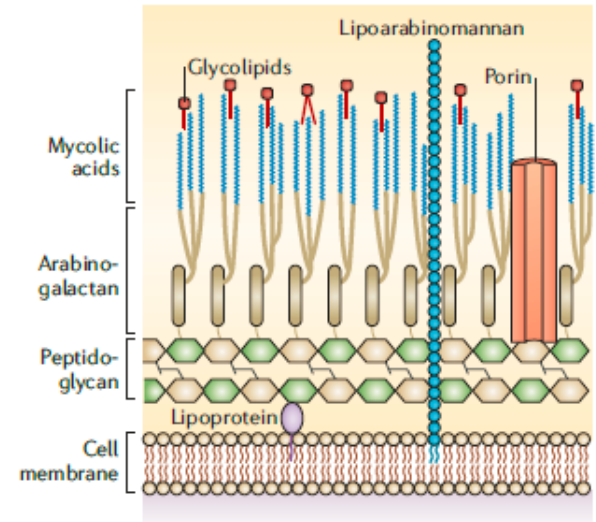
a Gram-negative bacteria



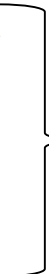
b Gram-positive bacteria

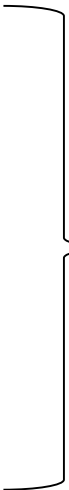


c Mycobacteria



Mycobactéries du *complexe tuberculosis*

- *M. tuberculosis*
 - *M. africanum*
 - *M. canetti*
- 
- Réservoir exclusivement humain

- *M. bovis*
 - *M. bovis* BCG
 - *M. microti*
 - *M. pinnipedii*
 - *M. caprae*
- 
- Réservoir animal, rarement transmissible à l'homme

Epidémiologie

→ Au niveau mondial (rapport OMS 2020)

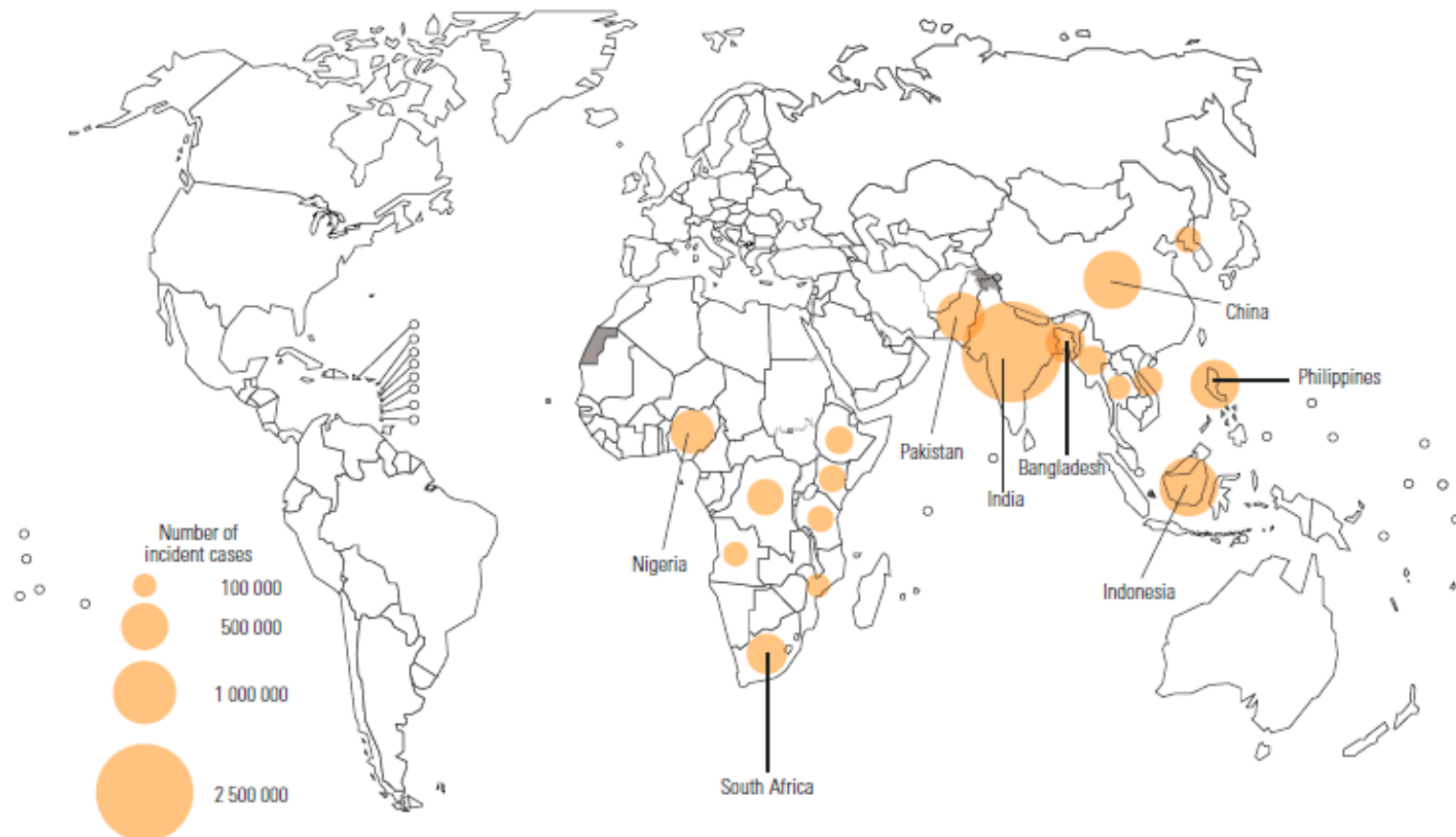
- **10 millions de nouveaux cas en 2019**
8,6% VIH+
- **1,2 millions de décès en 2019 chez VIH –**
208 000 décès chez VIH +
létalité > 50% dans certains pays africains



Epidémiologie

FIG. 4.3

Estimated TB incidence in 2019, for countries with at least 100 000 incident cases

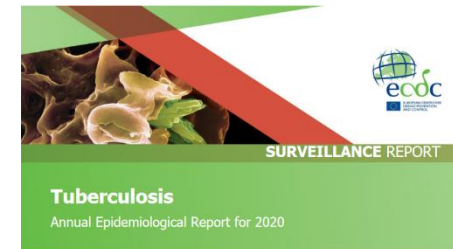
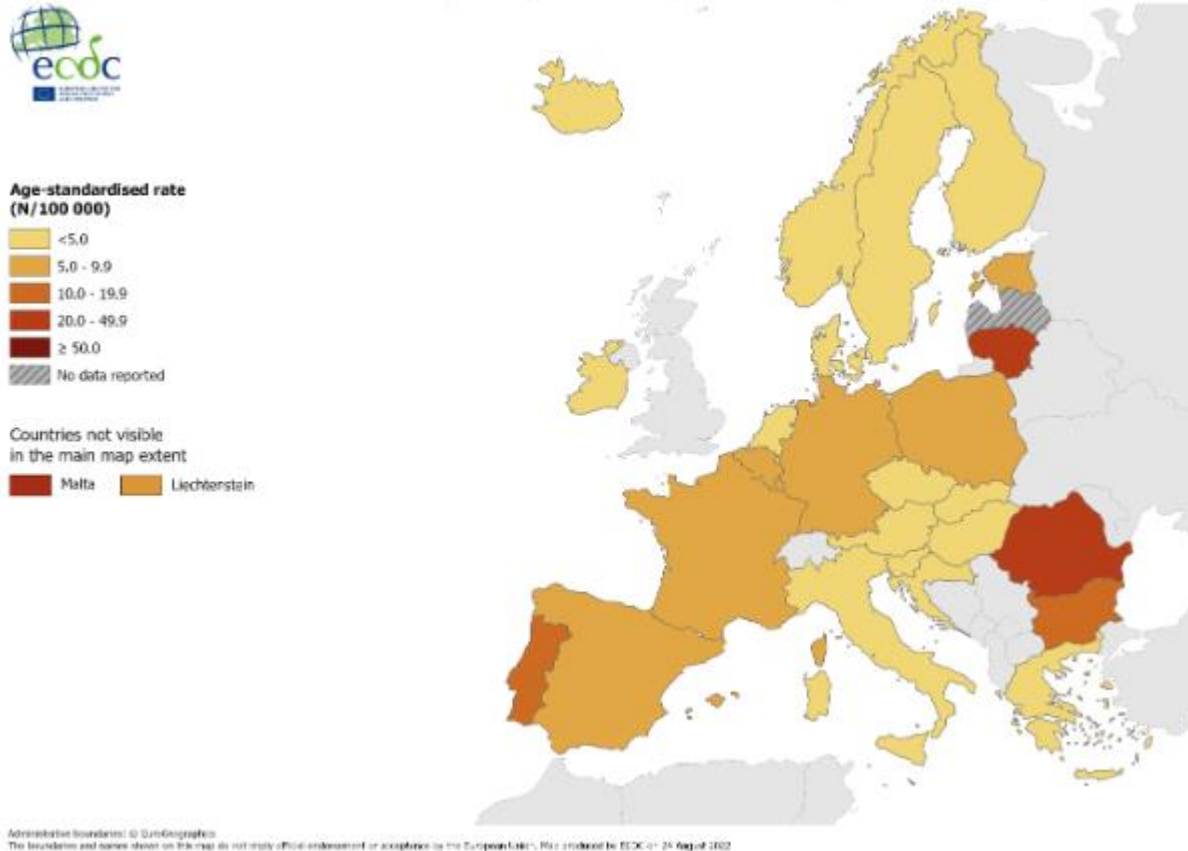


8 pays = 2/3 des cas mondiaux (Inde, Chine, Indonésie, Philippines, Pakistan, Nigeria, Bangladesh et Afrique du Sud)

Epidémiologie

→ TB notifications, EU/EEA, 2020

Figure 1. Distribution of tuberculosis cases per 100 000 population by country, EU/EEA, 2020

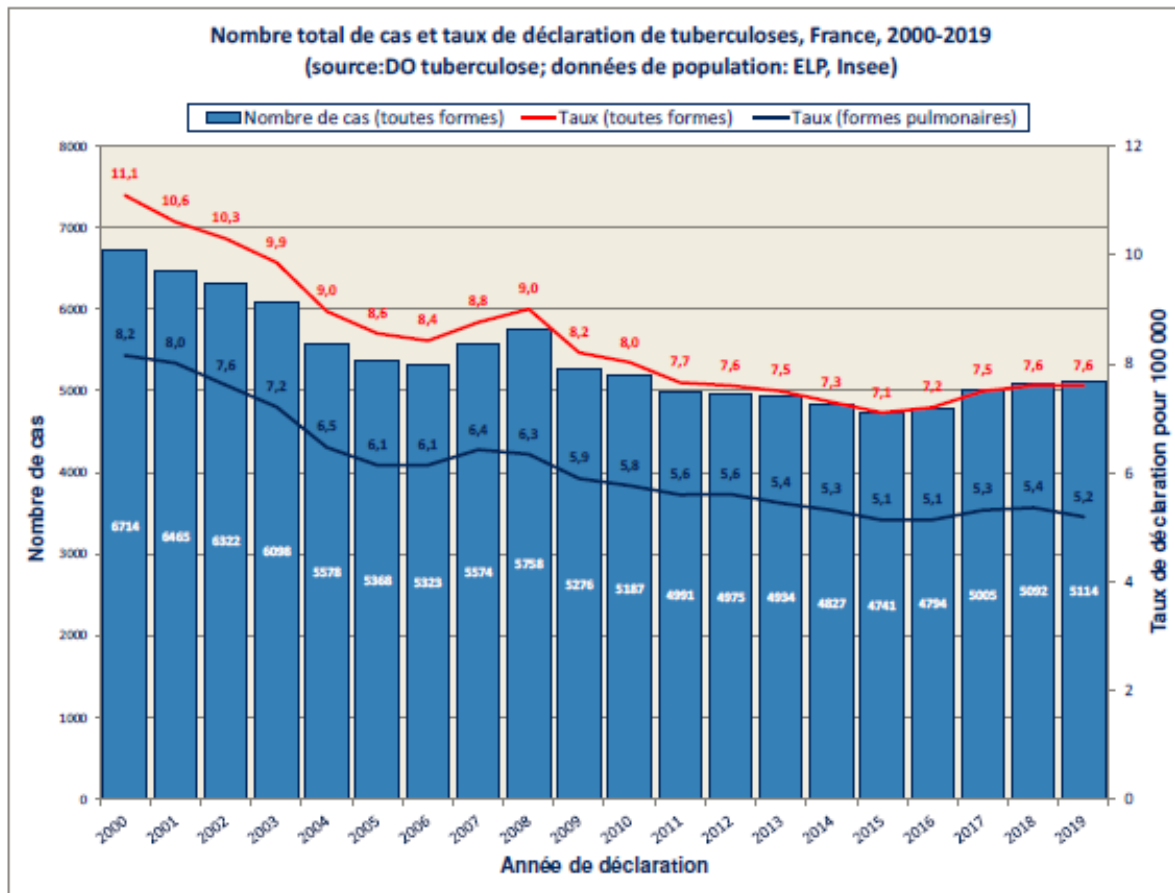


33 148 TB cases notified in 29 EU/EEA countries
Notification rate of 7.3 per 100 000 population

Epidémiologie

→ En France

- › Maladie à déclaration obligatoire (DO)
- › Données SPF 2019



Tuberculose maladie

→ Localisation pulmonaire (70 à 80% des cas)

- Source de la transmission
- Toux, fièvre, altération de l'état général, amaigrissement, sueurs nocturnes
- Signes radiologiques: nodules isolés ou multiples, infiltrats, cavernes

→ Localisations extra-pulmonaires

- Ganglionnaires
- Ostéo-articulaires (Mal de Pott)
- Plus rares mais graves : méningites, miliaries
 - ☞ Généralement pauvres en bacilles

Figure 3 : Adénopathie cervicale volumineuse (J. Mazza-Staldera, 2012)



Diagnostic bactériologique

→ Examen direct

› Coloration de **Ziehl Neelsen**

› Sensibilité

50% pour les éch. d'origine pulmonaire

< 40% pour les extra-pulmonaires

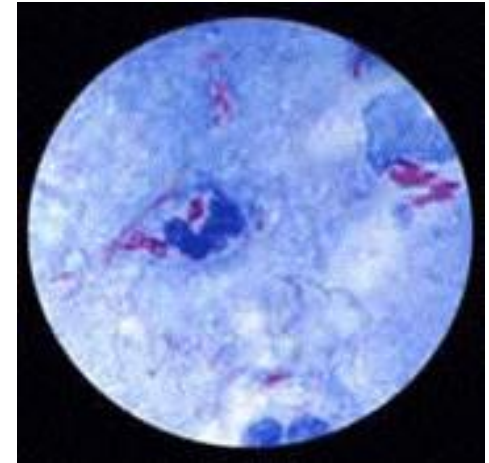
› Spécificité : ne permet pas de différencier les ≠ espèces de mycobactéries

› Avantages : **rapide et peu coûteux**

› Aspect semi-quantitatif :

Nombre de bacilles observés		Réponse
	Ziehl-Neelsen (× 1 000)	
	Aucun	Absence de BAAR
	1 à 2 en 200 champs	Équivoque, à contrôler
	1 à 10 en 100 champs	Présence de BAAR (+)
	1 à 10 en 10 champs	Présence de BAAR (++)
	1 à 10 par champ	Présence de BAAR (+++)
	> 10 par champ	Présence de BAAR (++++)

BAAR : bacille acido-alcool-résistant.



Diagnostic bactériologique

→ Culture

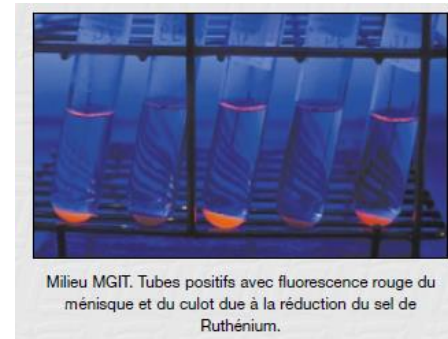
› Culture en milieu solide

- Milieu de Löwenstein-Jensen, milieu de Coletsos
- culture en 21 à 30 jours, colonie beige en choux fleur



› Culture en milieu liquide

- automatisée ou manuelle
- culture en 5 à 15 jours



Diagnostic bactériologique

→ Amplification génique

- › A partir de l'échantillon
- › Nombreux kits commercialisés (PCR en temps réel +++)

Tuberculose	Sensibilité	Spécificité
Respiratoire M+	98%	98%
Respiratoire M-	72%	96%
Extra-respiratoire (M-)	30%	98%

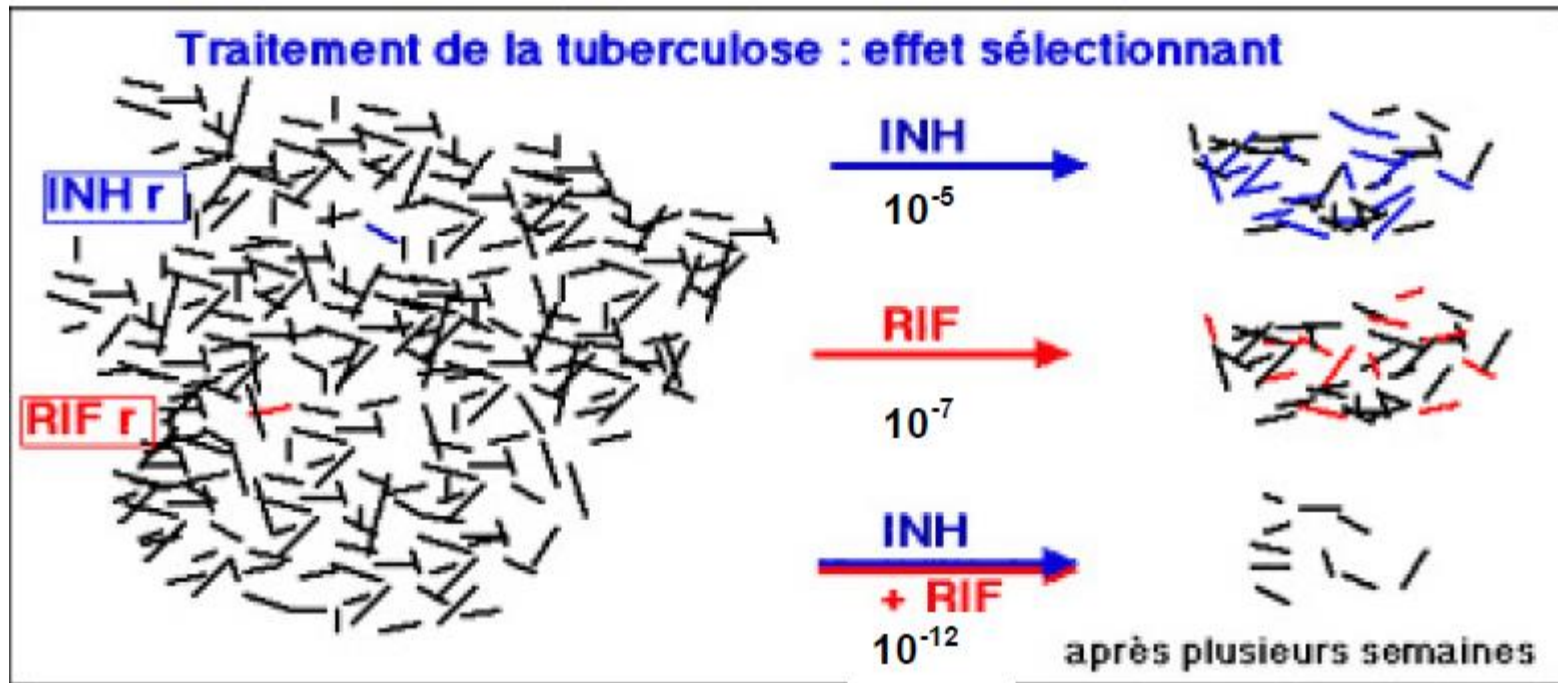
💣 Moins sensible que la culture !

Un résultat négatif n'exclut pas un diagnostic de tuberculose

👉 Indication principale :

échantillons pulmonaires M+ ↔ identification du complexe *tuberculosis*

Traitement - Bases microbiologiques



Antibiotique	Concentration	Fréquence de mutants
pyrazinamide	100mg/L	10^{-5}
isoniazide	0,2mg/L	10^{-6}
streptomycine	2mg/L	10^{-6}
rifampicine	1mg/L	10^{-8}
bedaquiline	0,5mg/L	10^{-8}
linézolide	8mg/L	10^{-9}

Traitement

- › **Isoniazide** : activité **bactéricide initiale**
- › **Rifampicine** : activité **stérilisante et bactéricide**
- › **Pyrazinamide** : activité **stérilisante**
- › **Ethambutol** : Activité **bactéricide faible**, « **protège** » la **rifampicine** en cas de résistance primaire à l'isoniazide

	caverne	caséum	Zones acides (macrophages, nécrose récente)
Isoniazide	+++	0	0
Rifampicine	++	+++	++
Ethambutol	+	0	0
Pyrazinamide	+/-	0	+++

Principes du traitement

→ Traitement curatif de la tuberculose

- INH + RIF + ETH + PZA : 2 mois
- INH + RIF : 4 mois



Diagnostic des résistances chez *M.tuberculosis*

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

→ ATB pour toute nouvelle découverte de tuberculose
pour toute souche isolée après 3 mois de traitement

› Antibiotiques de première ligne

Isoniazide : INH

Rifampicine : RIF

Ethambutol : EMB

Pyrazinamide : PZA

› Antibiotiques de deuxième intention

Streptomycine Amikacine Kanamycine

Cyclosérine Thiocétazone PAS

Capréomycine

Ethionamide

Linézolide

Ofloxacine Moxifloxacine Levofloxacine

Résistance : définitions

→ **Résistance primaire** : patient est contaminé par une souche R

→ **Résistance secondaire** : sélection de mutants R sous ttt

› **MDR : multidrug resistance**

Souche résistante à la **rifampicine** et à l'**isoniazide**

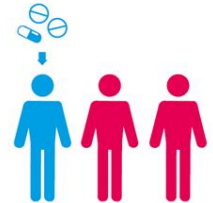
› **Pré-XDR**

Souche MDR + résistance aux **fluoroquinolones**

› **XDR : extensive drug resistance**

Souche MDR + résistance aux **fluoroquinolones** et à la bédaquiline ou au linézolide

Meeting report
of the WHO expert consultation
on the definition of extensively
drug-resistant tuberculosis,
27-29 October 2020



Méthodes phénotypiques

Méthode des proportions (Canetti, Rist et Grosset)

→ Méthode de **référence**

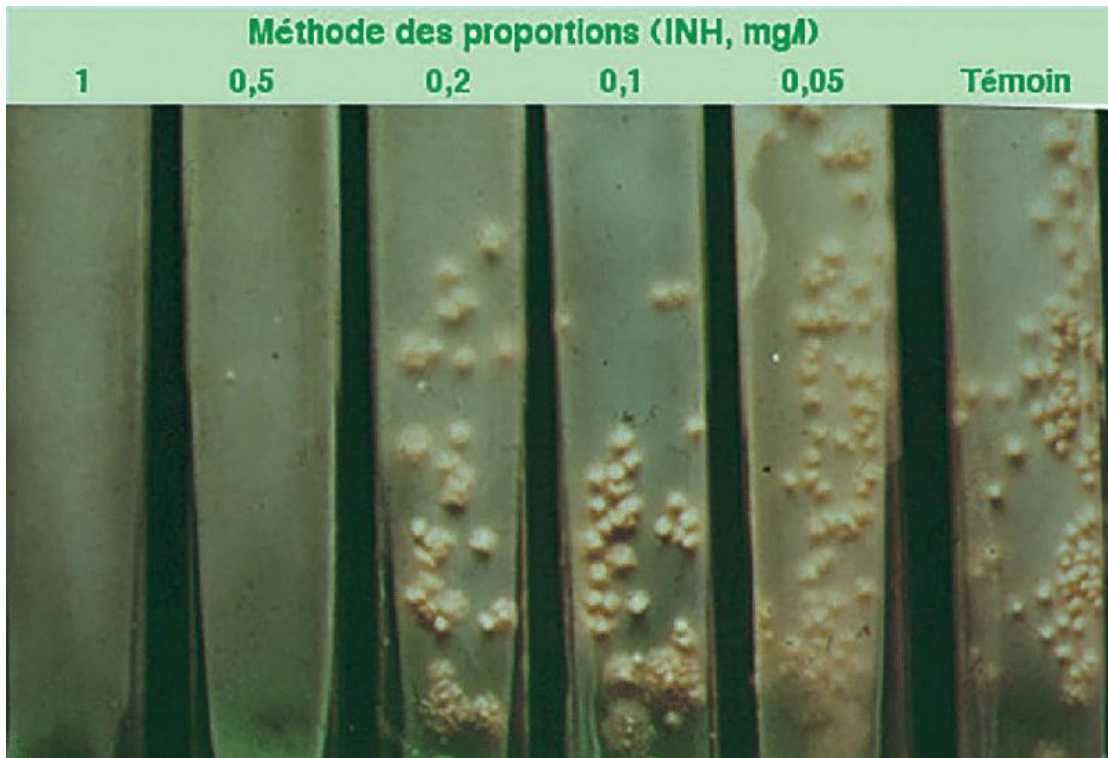
→ Tolérance d'un % de R (**proportion critique**) dans la population pour déterminer si la souche est sensible ou résistante.

→ proportion critique varie de **1% à 10%** selon l'AB



Limite : lenteur de croissance de *M. tuberculosis*

→ **Intérêt des tests génotypiques** : études des gènes codant des protéines impliquées dans la résistance



Milieux solides LJ
Lecture précoce à 21 jours
lecture définitive à 42 jours

Milieux liquides MGIT ou Versatrek
Résultats en 10-15 jours

Diagnostic moléculaire de la résistance

Support génétique de la résistance : **chromosome**

↔ résistance par **mutations**

Antibiotiques	Gène principal	Complément
Rifampicine	<i>rpoB</i>	
Isoniazide	<i>katG</i> , promoteur <i>inhA</i> , <i>inhA</i>	
Pyrazinamide	<i>pncA</i> (tout le gène)	pyrazinamidase
Ethambutol	<i>embB</i> (codon 306)	Zone intergénique <i>embC/A</i>
Ethionamide	promoteur <i>inhA</i> , <i>ethA</i>	<i>ethR</i>
Streptomycine	<i>rpsL</i> (43,88), <i>rrs</i> région 530	<i>gidB</i>
Kana, amikacine	<i>rrs</i> région 1401 et 1490	<i>eis</i>
Capréomycine	<i>rrs</i> région 1401 et 1490	<i>tlyA</i>
Fluoroquinolones	<i>gyrA</i> (codon 88 à 94)	<i>gyrB</i>
Linézolide	<i>rrl</i>	
Bédaquiline	<i>atpE</i>	Rv0678

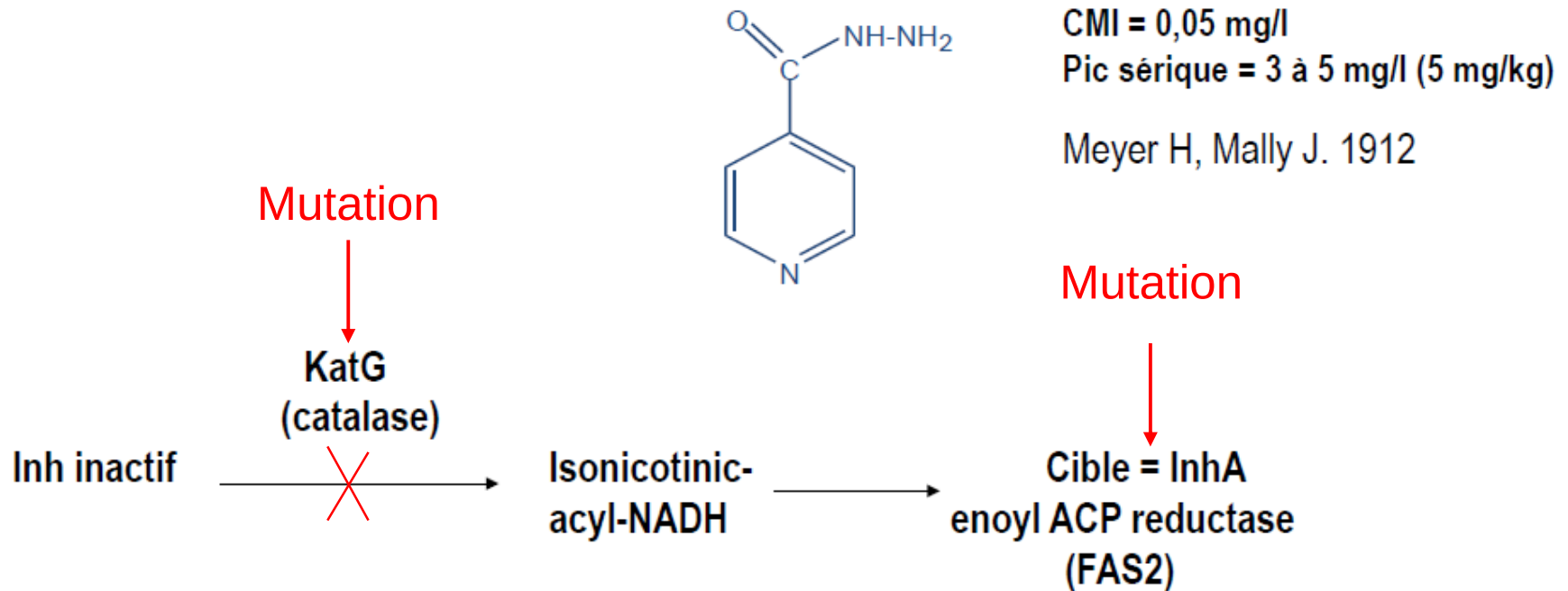
Rifampicine : mécanisme de résistance

→ 95 % des souches portent **mutations** ponctuelles dans la région ***rpoB*** codant la sous-unité beta de l'ARN polymérase, comprise entre les **codons 507 et 533**

→ Diminution de l'affinité de l'ARN polymérase pour la rifampicine

507	513	516	526	531	533
Gly	Gln	Asp	His	Ser	Leu
Asp	Leu Lys Pro	Tyr Gly Val Glu	Tyr Asp Leu Asn Arg Gln Val Cys	Leu Trp Gln Cys	Pro

Isoniazide



⇒ **Inhibition des acides mycoliques à longues chaînes (FASII)**
= inhibition synthèse de la paroi

Analyse des gènes de la résistance aux antituberculeux : RESISTOME

Antibiotiques	Gène principal	Complément
Rifampicine	<i>rpoB</i>	
Isoniazide	<i>katG</i> , promoteur <i>inhA</i> , <i>inhA</i>	
Pyrazinamide	<i>pncA</i> (tout le gène)	pyrazinamidase
Ethambutol		CIA
Ethionamide		
Streptomycine		
Kanamycine		
Capréomycine		
Fluoroquinolones		
Linézolide	<i>rrl</i>	
Bédaquiline	<i>atpE</i>	Rv0678

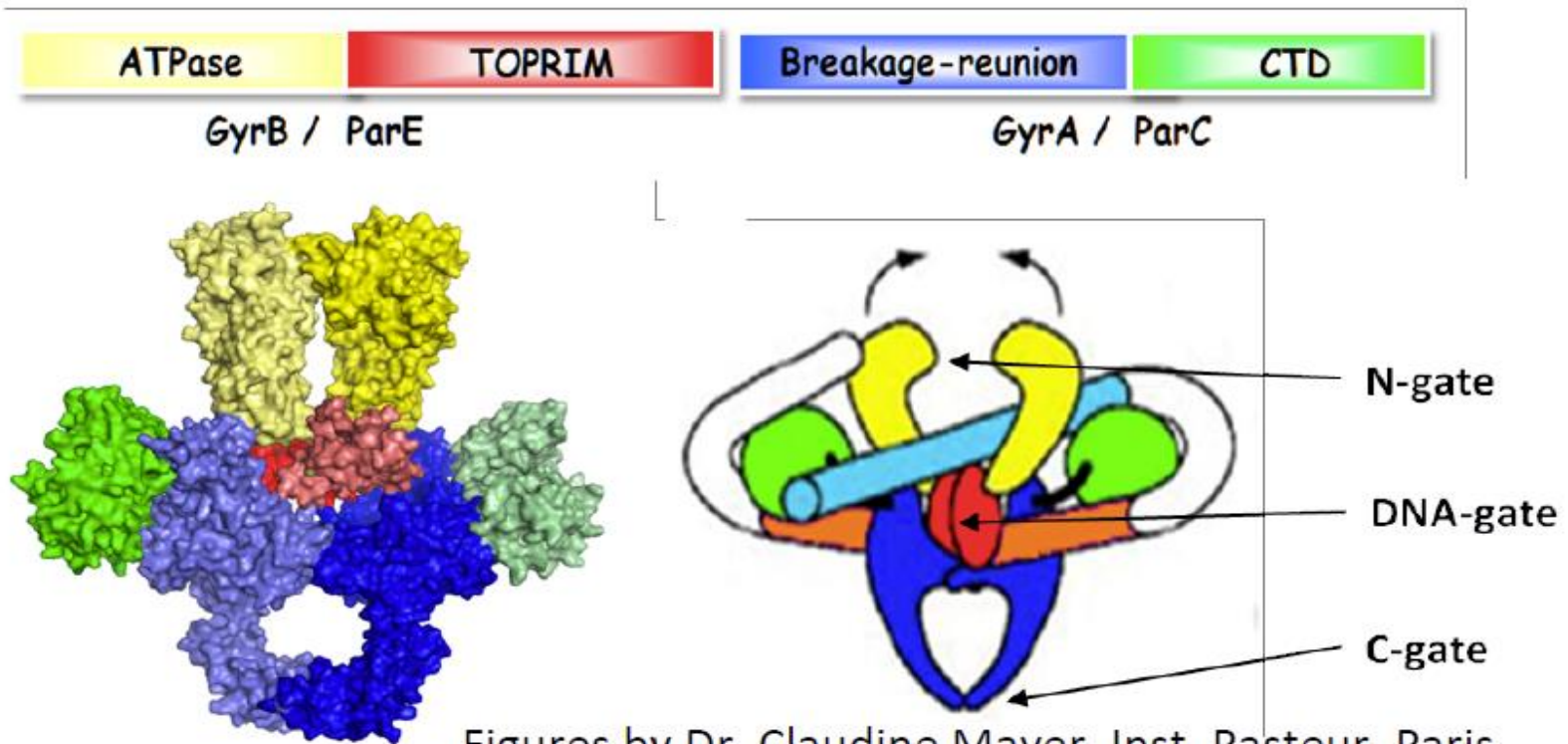
**Détection d'une souche MDR
(R rifampicine et R isoniazide)**

FQ : mécanisme de résistance

The Fluoroquinolone Target is the DNA Gyrase

Gyrase Structure

Two **GyrB** subunits and two **GyrA** subunits



Figures by Dr. Claudine Mayer, Inst. Pasteur, Paris

Analyse des gènes de la résistance aux antituberculeux : RESISTOME

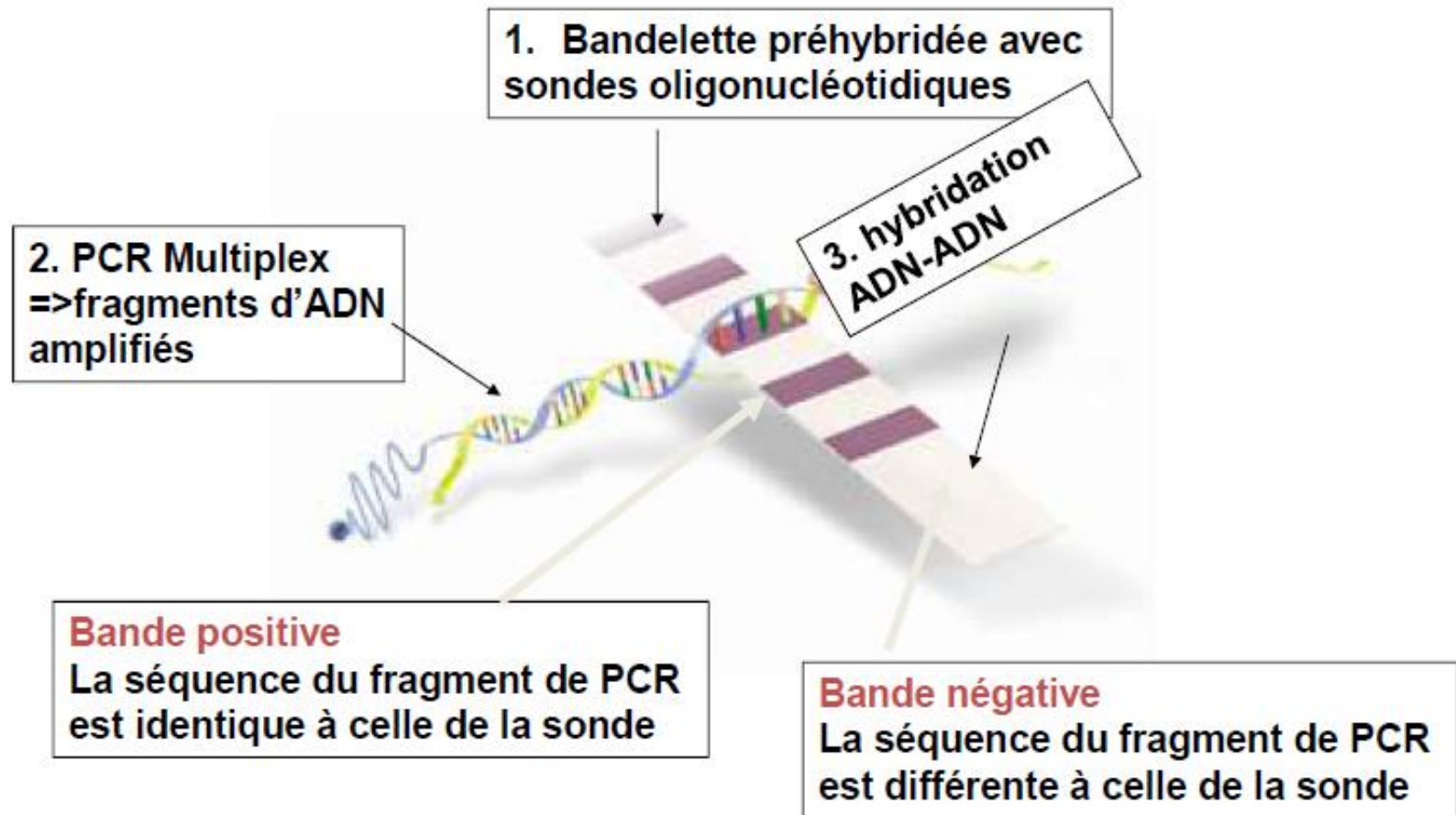
Antibiotiques	Gène principal	Complément
Rifampicine	<i>rpoB</i>	
Isoniazide	<i>katG</i> , promoteur <i>inhA</i> , <i>inhA</i>	
Pyrazinamide	<i>pncA</i> (tout le gène)	pyrazinamidase
Ethambutol	<i>embB</i> (codon 306)	Zone intergénique <i>embC/A</i>
Ethionamide	promoteur <i>inhA</i> , <i>ethA</i>	<i>ethR</i>
Streptomycine	<i>rpsL</i> (43,88), <i>rrs</i> région 530	<i>gidB</i>
Kana, amikacine	<i>rrs</i> région 1401 et 1490	<i>eis</i>
Capréomycine	<i>rrs</i> région 1401 et 1490	<i>tlyA</i>
Fluoroquinolones	<i>gyrA</i> (codon 88 à 94)	<i>gyrB</i>
Liné		
Béd		

**Détection d'une souche pré-XDR
(R rifampicine + R isoniazide + R FQ)**

Tests de biologie moléculaire

- Mise en évidence de **mutations** dans les gènes qui confèrent la **résistance** à l'antibiotique
- **Amplification** du gène (ou d'une fraction) et **étude des mutations** sur les amplifiats (hybridation sur sondes spécifiques ou séquençage)
- Leur développement dépend de **plusieurs facteurs**:
 - › **Connaissance** des mécanismes de résistance
 - › **Pertinence médicale** : impact de la résistance sur le succès du traitement
 - › **Nombre de gènes** impliqués dans la résistance
 - › **Difficultés** de l'antibiogramme **phénotypique**

Méthode 1 : PCR puis hybridation inverse

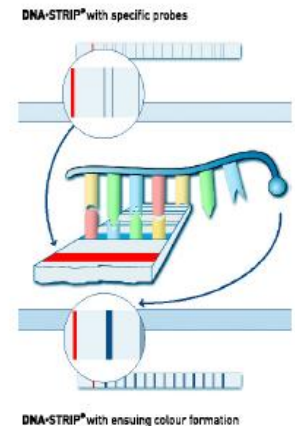


Méthode 1 : PCR puis hybridation inverse

→ **GenoType MTBDRplus** (Hain Lifesciences)

Sondes d'oligonucléotides
complémentaires aux
séquences d'ADN

.....	————	Conjugate Control (CC)
.....	————	Amplification Control (AC)
.....	————	<i>M. tuberculosis</i> complex (TUB)
.....	————	<i>rpoB</i> Locus Control (<i>rpoB</i>)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 1 (<i>rpoB</i> WT1)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 2 (<i>rpoB</i> WT2)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 3 (<i>rpoB</i> WT3)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 4 (<i>rpoB</i> WT4)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 5 (<i>rpoB</i> WT5)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 6 (<i>rpoB</i> WT6)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 7 (<i>rpoB</i> WT7)
.....	————	<i>rpoB</i> wild type probe 8 (<i>rpoB</i> WT8)
.....	————	<i>rpoB</i> mutation probe 1 (<i>rpoB</i> MUT1)
.....	————	<i>rpoB</i> mutation probe 2A (<i>rpoB</i> MUT2A)
.....	————	<i>rpoB</i> mutation probe 2B (<i>rpoB</i> MUT2B)
.....	————	<i>rpoB</i> mutation probe 3 (<i>rpoB</i> MUT3)
.....	————	<i>katG</i> Locus Control (<i>katG</i>)
.....	————	<i>katG</i> wild type probe (<i>katG</i> WT)
.....	————	<i>katG</i> mutation probe 1 (<i>katG</i> MUT1)
.....	————	<i>katG</i> mutation probe 2 (<i>katG</i> MUT2)
.....	————	<i>inhA</i> Locus Control (<i>inhA</i>)
.....	————	<i>inhA</i> wild type probe 1 (<i>inhA</i> WT1)
.....	————	<i>inhA</i> wild type probe 2 (<i>inhA</i> WT2)
.....	————	<i>inhA</i> mutation probe 1 (<i>inhA</i> MUT1)
.....	————	<i>inhA</i> mutation probe 2 (<i>inhA</i> MUT2)
.....	————	<i>inhA</i> mutation probe 3A (<i>inhA</i> MUT3A)
.....	————	<i>inhA</i> mutation probe 3B (<i>inhA</i> MUT3B)
.....	————	colored marker

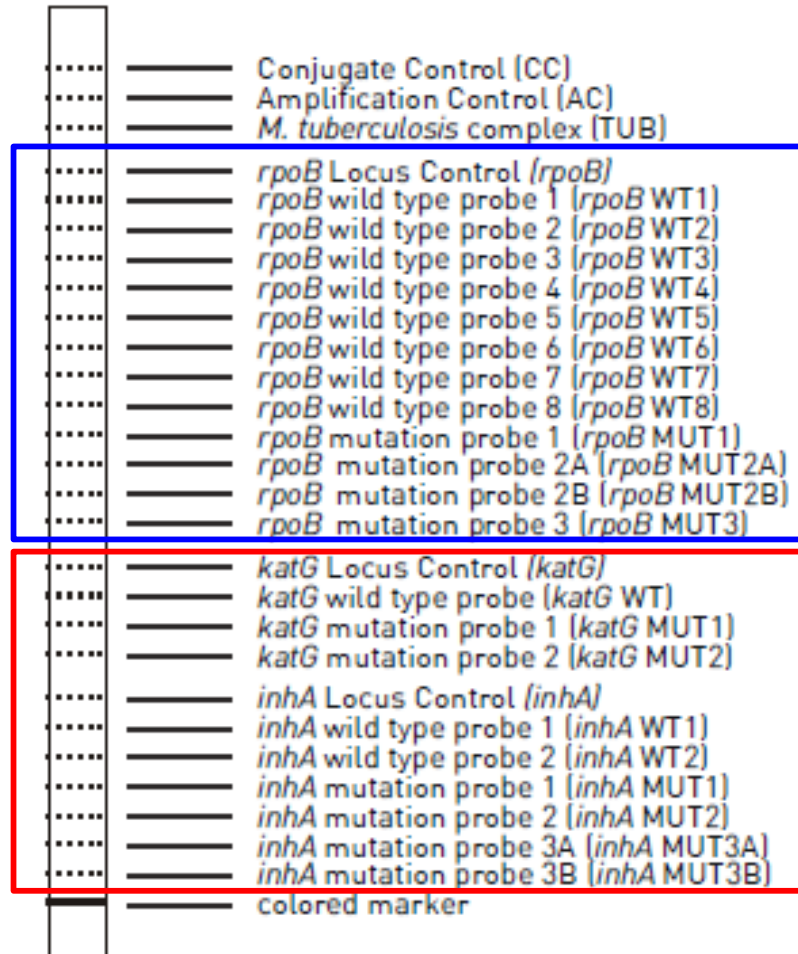


Méthode 1 : PCR puis hybridation inverse

→ GenoType MTBDRplus : détection MDR

Résistance à
la rifampicine

rpoB



katG

InhA

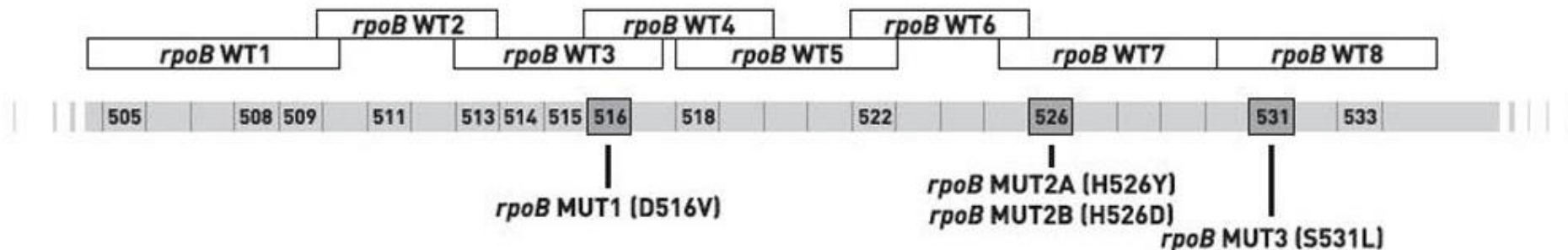
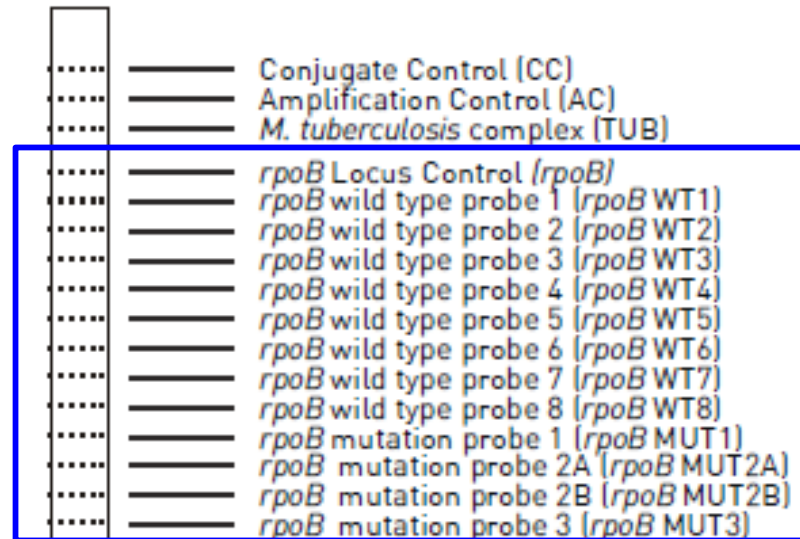
Résistance à
l'isoniazide

Méthode 1 : PCR puis hybridation inverse

→ GenoType MTBDRplus (Hain Lifesciences)

Résistance à
la rifampicine

rpoB



Méthode 1 : PCR puis hybridation inverse

→ GenoType MTBDRplus (Hain Lifesciences)

› *katG*

Sonde(s) type sauvage manquante(s)	Codon analysé	Sonde mutation	Mutation
<i>katG</i> WT	315	<i>katG</i> MUT1	S315T1
		<i>katG</i> MUT2	S315T2

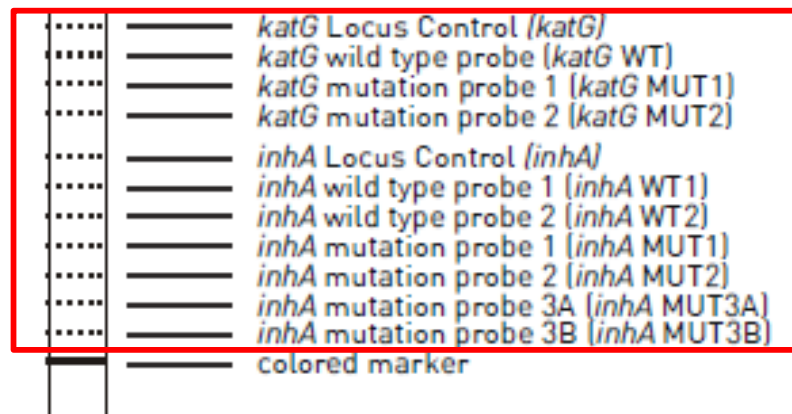
› promoteur du gène *inhA*

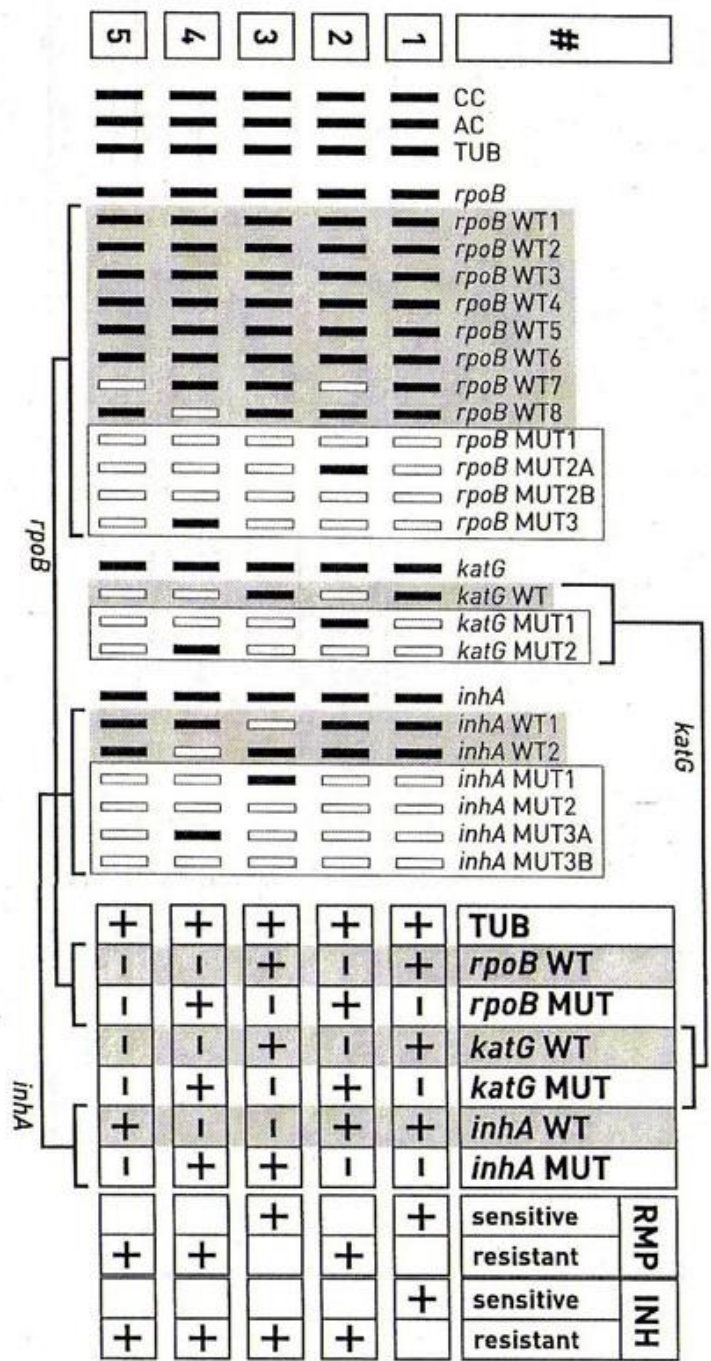
Sonde(s) type sauvage manquante(s)	Position analysée d'acide nucléique	Sonde mutation	Mutation
<i>inhA</i> WT1	-15	<i>inhA</i> MUT1	C15T
	-16	<i>inhA</i> MUT2	A16G
<i>inhA</i> WT2	-8	<i>inhA</i> MUT3A	T8C
		<i>inhA</i> MUT3B	T8A

Résistance à
l'isoniazide

katG

InhA





→ GenoType MTBDRs/ V2.0 : détection pré-XDR

- › FQ: gènes *gyrA* et *gyrB*
- › Aminosides: *rrs* et *eis*

Résistance aux
fluoroquinolones

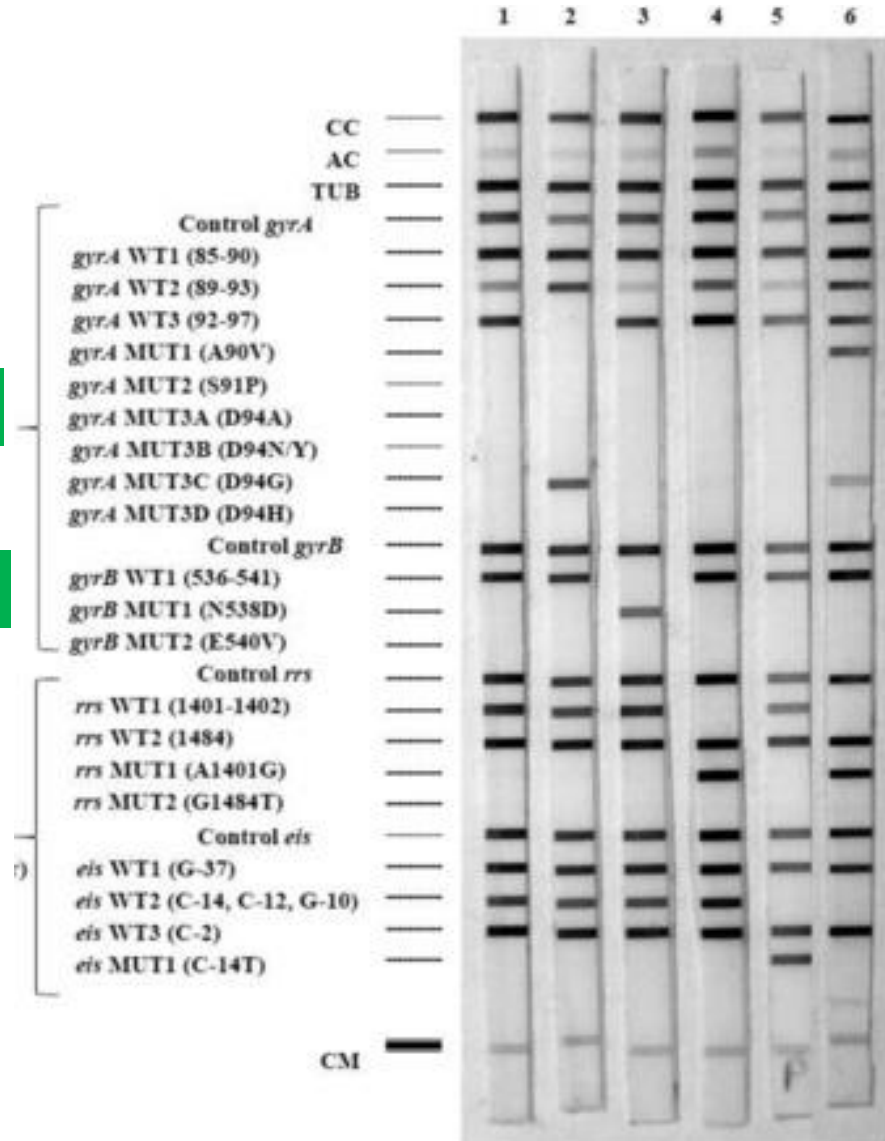
gyrA

gyrB

Résistance aux
aminosides / peptides
cycliques

rrs

eis



Méthode 1 : PCR puis hybridation inverse

→ Avantages

- › Diagnostic **rapide**
- › Souches, échantillons pulmonaires
- › Taux de réussite du test: 100% culture
80% échantillons M+
<50% échantillons M-

→ Limites

Ne détectent pas toutes les mutations associées à la résistance aux antibiotiques testés

Exemple de rendu de résultats:

Mutation dans le gène *gyrA*: Absence, en faveur d'une sensibilité aux FQ.

→ Antibiogramme indispensable pour donner la sensibilité d'une souche

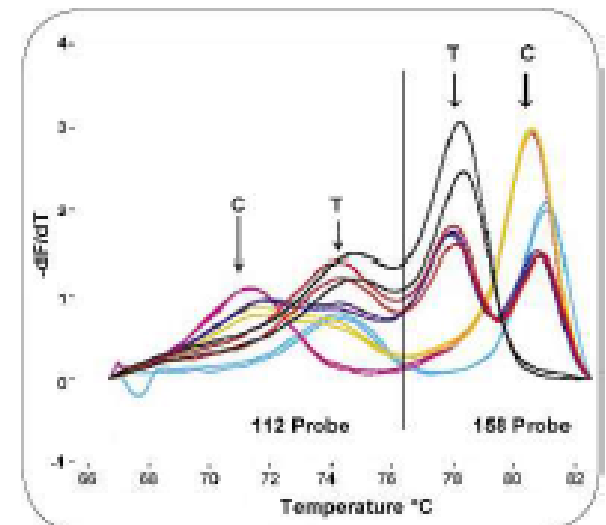
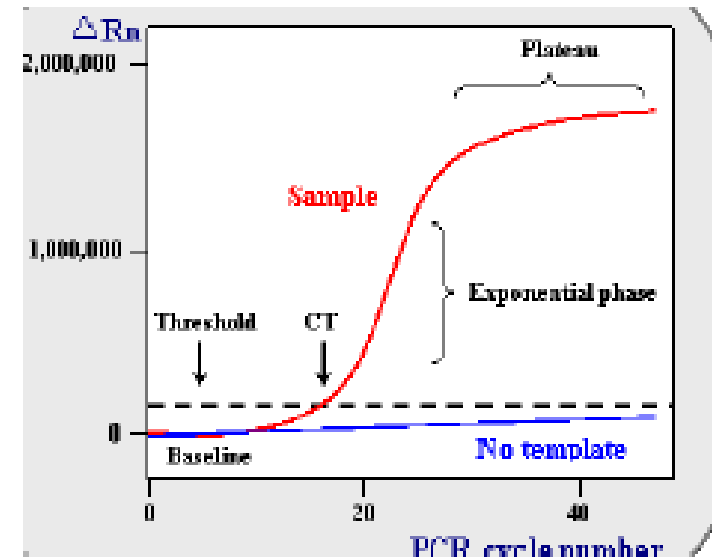
Méthode 2 : PCR en temps réel

→ PCR

→ **Détection de mutations** pendant l'amplification (sondes, température de fusion, HRMA)

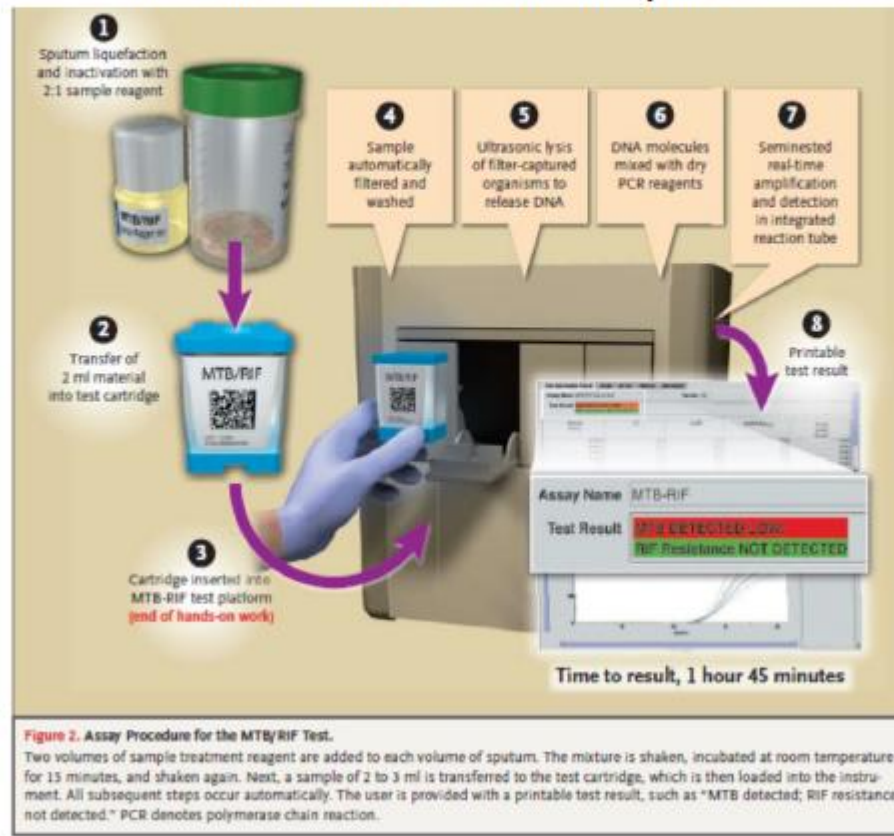
→ Trousses

- › Magicplex MDR-TB-Real-Time Detection (Seegene)
- › Roche Light Cycler
- › BD Max
- › Technique Maison



Méthode 2 : PCR en temps réel

Gene Xpert[®] MTB/RIF Cepheid (USA)
gène *rpoB* => résistance à la rifampicine
méthode facilement praticable



Résultat
en 2 heures
après réception
au laboratoire

Boehme CC et al.
NEJM 2010

La détection d'une résistance à la rifampicine est
hautement prédictive d'une souche MDR

Méthode 2 : PCR en temps réel

Cassette Xpert MTB/XDR



Médicament	Cible génétique	Régions du codon	Nucléotide interrogé
Isoniazide	Promoteur du gène <i>inhA</i>	S.O.	-1 à -32 intergénique
	<i>katG</i>	311–319	939–957
	<i>fabG1</i>	199–210	597–630
	Région intergénique <i>oxyR-ahpC</i>	S.O.	-5 à -50 intergénique (ou -47 à -92) ^{a,b}
Éthionamide	Promoteur du gène <i>inhA</i>	S.O. 87–95	-1 à -32 intergénique 261–285
Fluoroquinolones	<i>gyrA</i> <i>gyrB</i>	531–544 (ou 493–505) ^{a,c}	1596–1632
Amikacine, kanamycine, capréomycine	<i>rrs</i>	S.O.	1396–1417
	Promoteur du gène <i>eis</i>	S.O.	-6 à -42 intergénique

Méthode 3 : séquençage génome complet

Whole genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* for detection of drug resistance: a systematic review

Table 1

Drugs tested in the reports [4–7,12,14,22–35], genes associated with drug resistance and whole genome sequencing performance characteristics^a

Drug	No of studies	No of strains	Genes and other relevant <i>Mycobacterium tuberculosis</i> genome regions	Sensitivity, % (range)		Specificity, % (range)	
				Low	High	Low	High
Rifampicin	19	6286	<i>rpoB</i> , <i>rpoA</i> , <i>rpoC</i>	89.2	100.0	66.7	100.0
Isoniazid	19	5800	<i>katG</i> , <i>inhA</i> , <i>oxyR-ahpC</i> , <i>fbpC</i> , <i>Rv1592C</i> , <i>Rv1772</i> , <i>Rv2242</i> , <i>fabD</i> , <i>fabG1</i> , <i>kasA</i> , <i>accD</i> , <i>oxyR</i> , <i>ndh</i> , <i>fadE24</i> , <i>nat</i> , <i>kasA</i> , <i>mabA</i> , <i>p_inhA</i> , <i>accD6</i> , <i>efpA</i>	90.0	100.0	83.3	100.0
Ethambutol	17	6059	<i>embA</i> , <i>embB</i> , <i>embC</i> , <i>embR</i> , <i>iniA</i> , <i>iniB</i> , <i>iniC</i> , <i>Rv3124</i> , <i>manB</i> , <i>PPE49</i> , <i>rmlD</i> , <i>manB</i>	71.4	100.0	15.4	95.8
Pyrazinamide	13	6130	<i>pncA</i> , <i>p_pncA</i> , <i>rpsA</i> , <i>panD</i>	43.2	100.0	66.7	100.0
Streptomycin	16	3953	<i>rpsL</i> , <i>rrs</i> , <i>gidB</i>	57.1	100.0	40.0	100.0
Amikacin ^b	8	1471	<i>rrs</i> , <i>eis</i> , <i>gidB</i> , <i>tlyA</i>	80.0	100.0	50.0	100.0
Capreomycin ^b	8	1553	<i>rrs</i> , <i>eis</i> , <i>gidB</i> , <i>tlyA</i>	60.7	100.0	13.7	100.0
Kanamycin ^b	7	1289	<i>rrs</i> , <i>eis</i> , <i>tlyA</i>	75.0	100.0	0	100.0
Injectable drugs ^d	4	518	<i>rrs</i> , <i>eis</i> , <i>gidB</i> , <i>tlyA</i>	37.0	100.0	50.0	100.0
Ciprofloxacin	1	300	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	100.0	100.0	98.9	98.9
Ofloxacin ^c	6	1564	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	80.0	100.0	80.0	100.0
Moxifloxacin ^c	3	1318	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	60.0	90.9	68.7	100.0
Levofloxacin ^c	—	—	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	—	—	—	—
Gatifloxacin ^c	—	—	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	—	—	—	—
Fluoroquinolones ^c	9	504	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	89.2	100.0	100.0	100.0
Ethionamide	8	867	<i>ethA</i> , <i>ethR</i> , <i>p_inhA</i> , <i>inhA</i> , <i>fabG1</i>	16.7	100.0	50.0	100.0
Prothionamide	3	502	<i>p_ethA</i> , <i>ethA</i>	40.0	100.0	29.4	80.0
Rifabutin	1	2	<i>rpoC</i>	100.0	100.0	—	—
Para-aminosalicylic acid ^f	1	11	<i>thyA</i> , <i>folC</i> , <i>ribB</i>	75.0	75.0	100.0	100.0
Trimethoprim/sulfamethoxazole	1	2	<i>dhfrA</i>	—	—	100.0	100.0
Minocycline	1	2	<i>whiB7</i>	100.0	100.0	100.0	100.0
Linezolid	2	5	<i>Rrl</i> , <i>rplC</i>	—	—	100.0	100.0
Bedaquiline	—	—	<i>Rv0678</i>	—	—	—	—
Clofazimine	—	—	<i>Rv0678</i>	—	—	—	—

^a Not all genes were tested in all studies

➔ Performances très hétérogènes, besoin de standardisation

Méthode 3 : séquençage génome complet

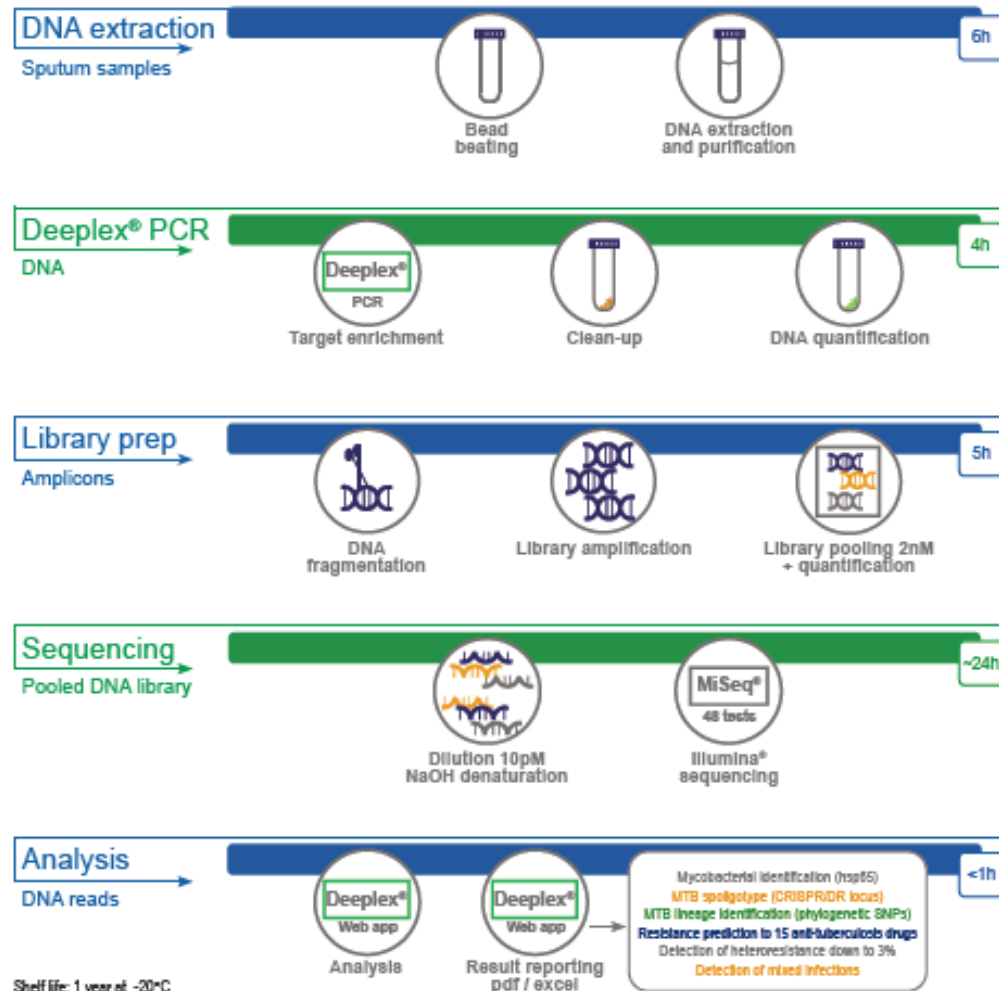
Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance

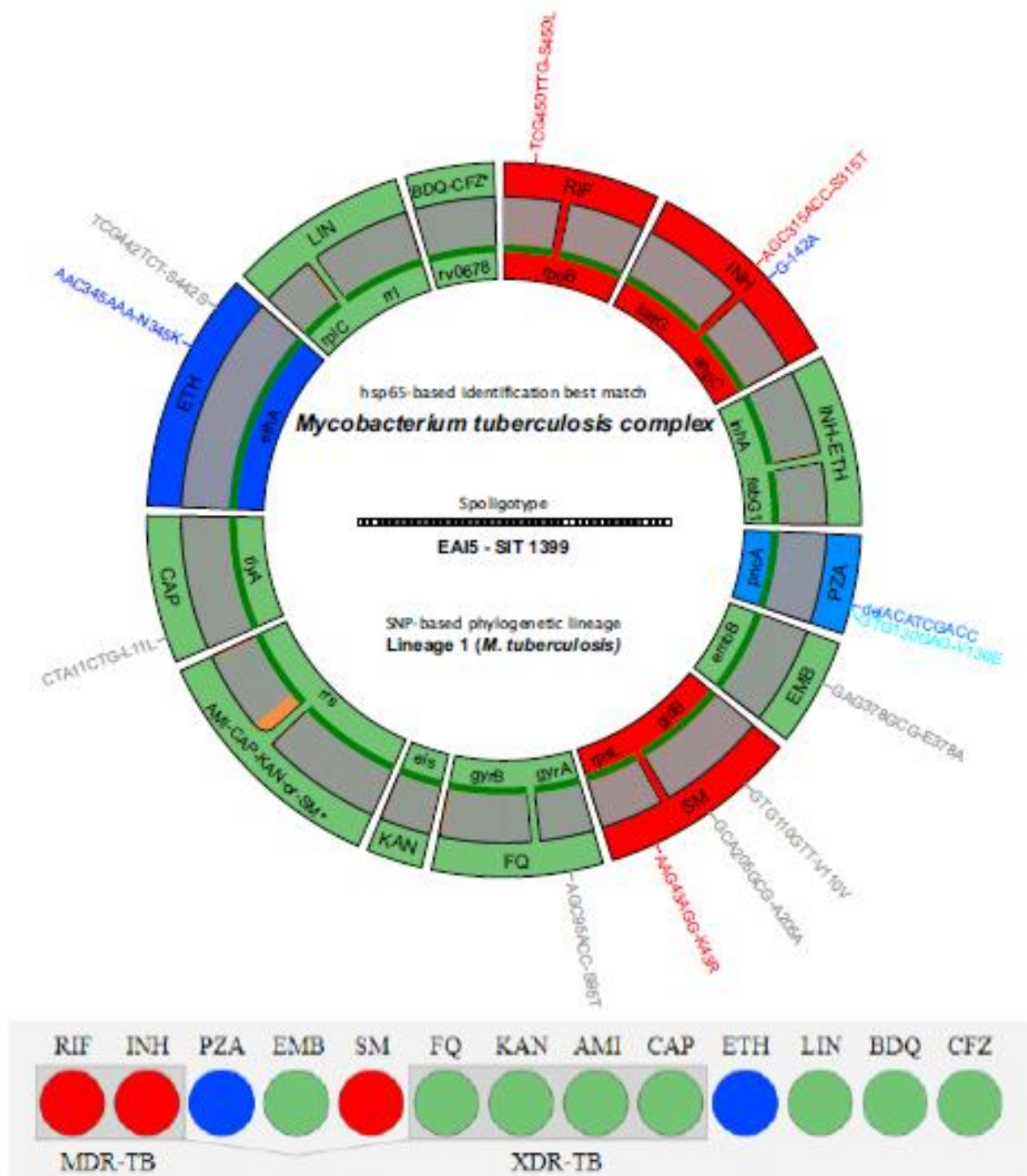


Mutation catalogue	11
Reading the tables	11
An illustrative example	13
Rifampicin	15
Isoniazid	20
Ethambutol	22
Pyrazinamide	25
Levofloxacin and moxifloxacin	36
Bedaquiline and clofazimine	39
Linezolid	41
Delamanid	42
Amikacin	43
Streptomycin	45
Ethionamide	48

Méthode 3 : séquençage génome complet

Deeplex® Myc-TB workflow





<i>rpoB</i>	Rifampicin	1 st line antibiotics
<i>ahpC, fabG1, katG, inhA</i>	Isoniazid	
<i>pncA</i> *	Pyrazinamide	
<i>embB</i>	Ethambutol	

<i>hsp65</i>	Species ID	Identification
CRISPR/DR	Spoilotyping	
phyloSNPS	Genotyping	

2 nd line antibiotics	Fluoroquinolones	<i>gyrA, gyrB</i>
	Amikacin	<i>rrs</i> *
	Kanamycin	<i>eis, rrs</i> *
	Capreomycin	<i>tlyA</i> *, <i>rrs</i> *
	Streptomycin	<i>gidB</i> *, <i>rrs</i> *, <i>rpsL</i> *
	Ethionamide	<i>ethA</i> *, <i>inhA</i> , <i>fabG1</i>
New antibiotics	Bedaquiline, Clofazimine	<i>rv0678</i> *
	Linezolid	<i>rrl, rplC</i>

	Smear microscopy	Xpert MTB/RIF	Phenotyping	WGS (nanotechnology)
Sensitivity	Limit of detection 10^5 cfu/ml	Limit of detection 10^2 cfu/ml	Limit of detection 10 cfu/ml	Limit of detection falling
Turnaround time	Same day	Same day	Weeks	Promise of same day
Clinical information	- First line treatment given if acid fast bacilli seen - Second line treatment given on epidemiological grounds	- First line treatment given on detection of Mtbc DNA - Second line treatment offered if rpoB mutation detected	Treatment individualised	Treatment individualised
Cost considerations	Low cost per smear	Subsidised to ~ \$10 in priority high-burden countries	High capital investment costs for laboratory and staff training costs	Potentially no need for a laboratory or specialist staff
Skills base required	Operator dependent	Operator independent	Operator dependent	Operator independent

Fig. 2. Comparison of currently available diagnostic modalities to nanotechnology-based whole-genome sequencing.

Recommandations (HCSP, 2015)

→ Nouveau patient échantillon M+ ou culture + (échantillon M-):

- › Test moléculaire pour **détection complexe tuberculosis**
et
- › recherche de **mutations** conférant la résistance à la **rifampicine** (*rpoB*), ± **isoniazide**.

→ Dès détection de cas MDR/XDR

Envoi de l'échantillon / souche au CNR:

Tests phénotypiques de sensibilité pour tous les antituberculeux existants (1^{ère} et 2^{nde} ligne)

et

Détection moléculaire de tous les gènes connus pour être impliqués dans la résistance aux antituberculeux (**résistome**)

⇒ **Traitement adapté**

Mutations ≠ Résistance

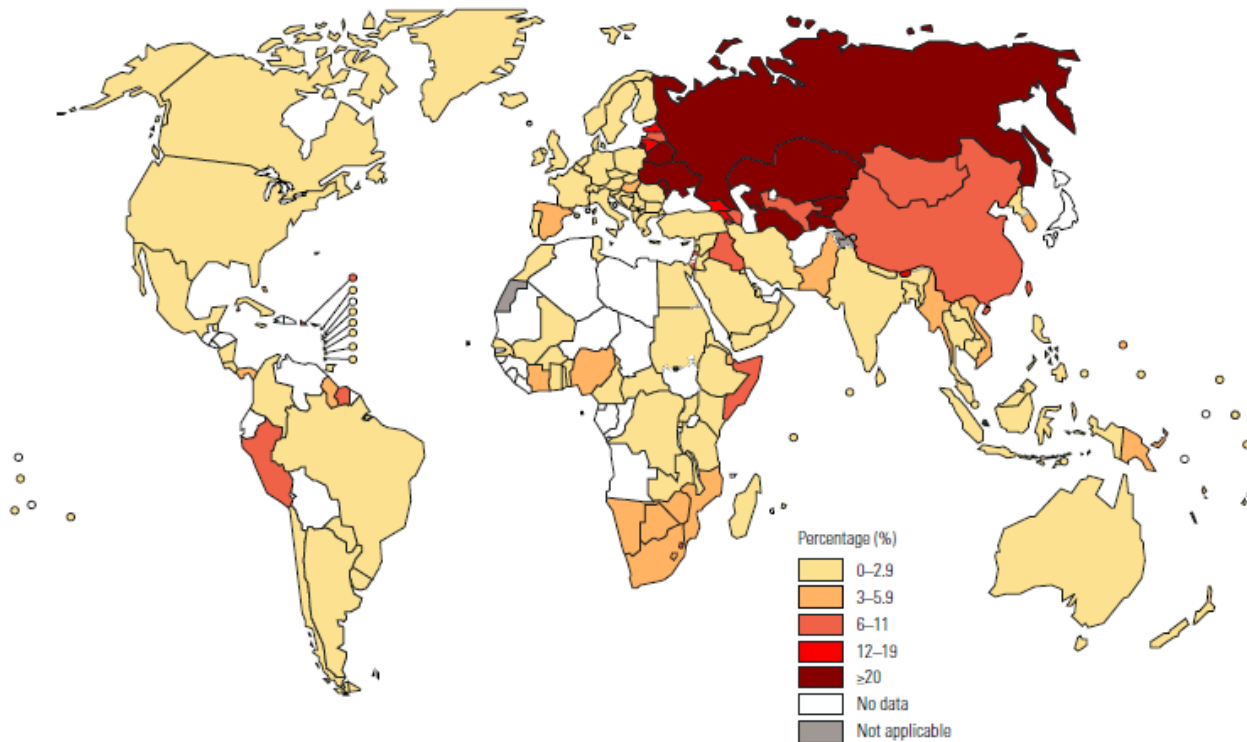
- Bernard, AAC 2015
 - Etude prospective des mutations *gyrA* et *gyrB* impliquées ou pas dans la résistance aux fluoroquinolones chez *M. tuberculosis*
 - 605 souches reçues au CNR entre 2007 et 2012
 - Mutations *gyrA* : 78% associées à résistance
 - Mutations *gyrB* : 36% associées à résistance

Epidémiologie MDR et XDR

- 558 000 nouveaux cas de MDR/ TB Rifam R; 250 000 décès
- 50% diagnostiqués en Chine, Inde et Russie
- Environ 8,5% des patients MDR sont XDR

FIG. 4.30

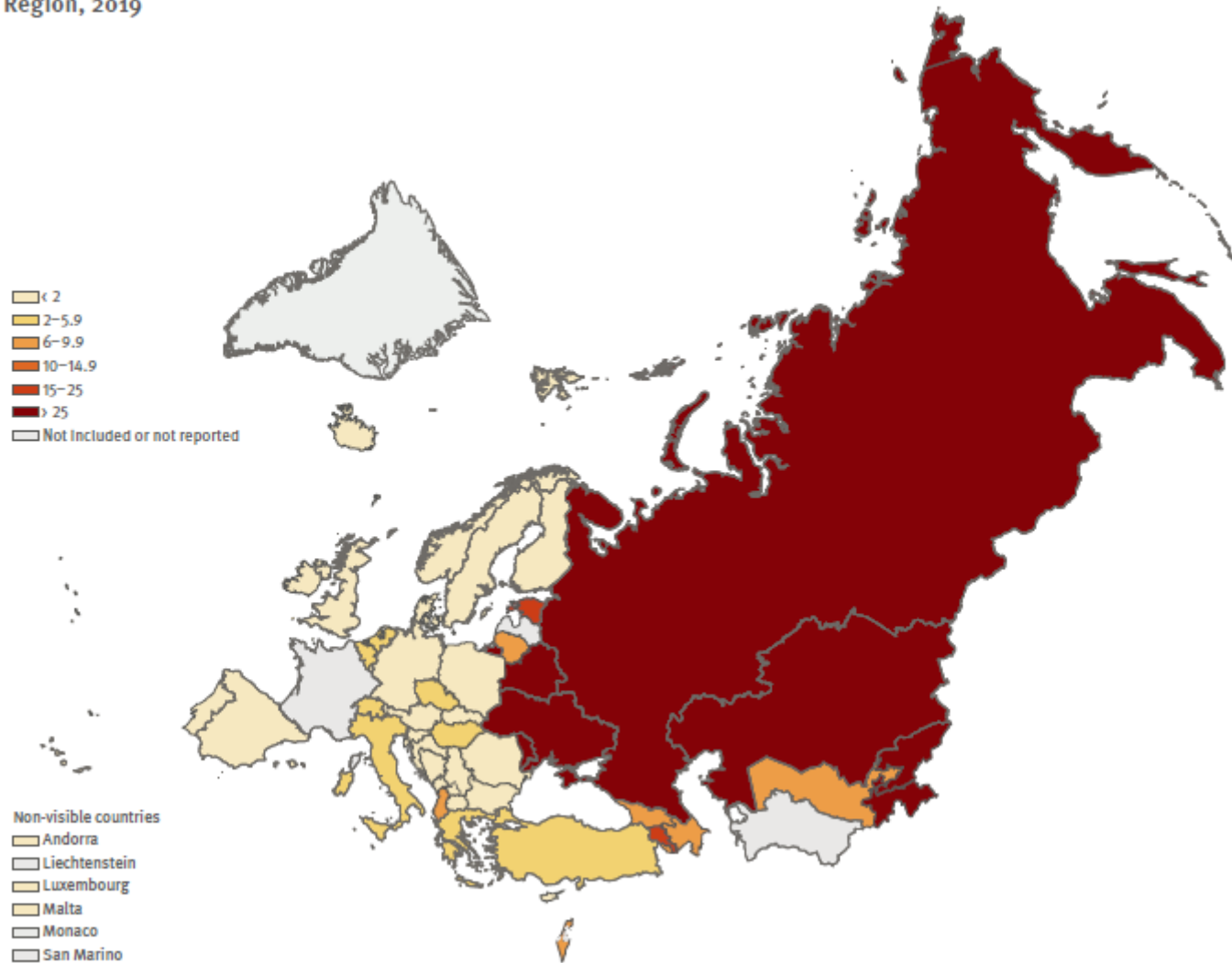
Percentage of new TB cases with MDR/RR-TB^a



^a Percentages are based on the most recent data point for countries with representative data from 2005 to 2020. Model-based estimates for countries without data are not shown. MDR-TB is a subset of RR-TB.

Multidrug-resistant TB (MDR TB), EU/EEA, 2019

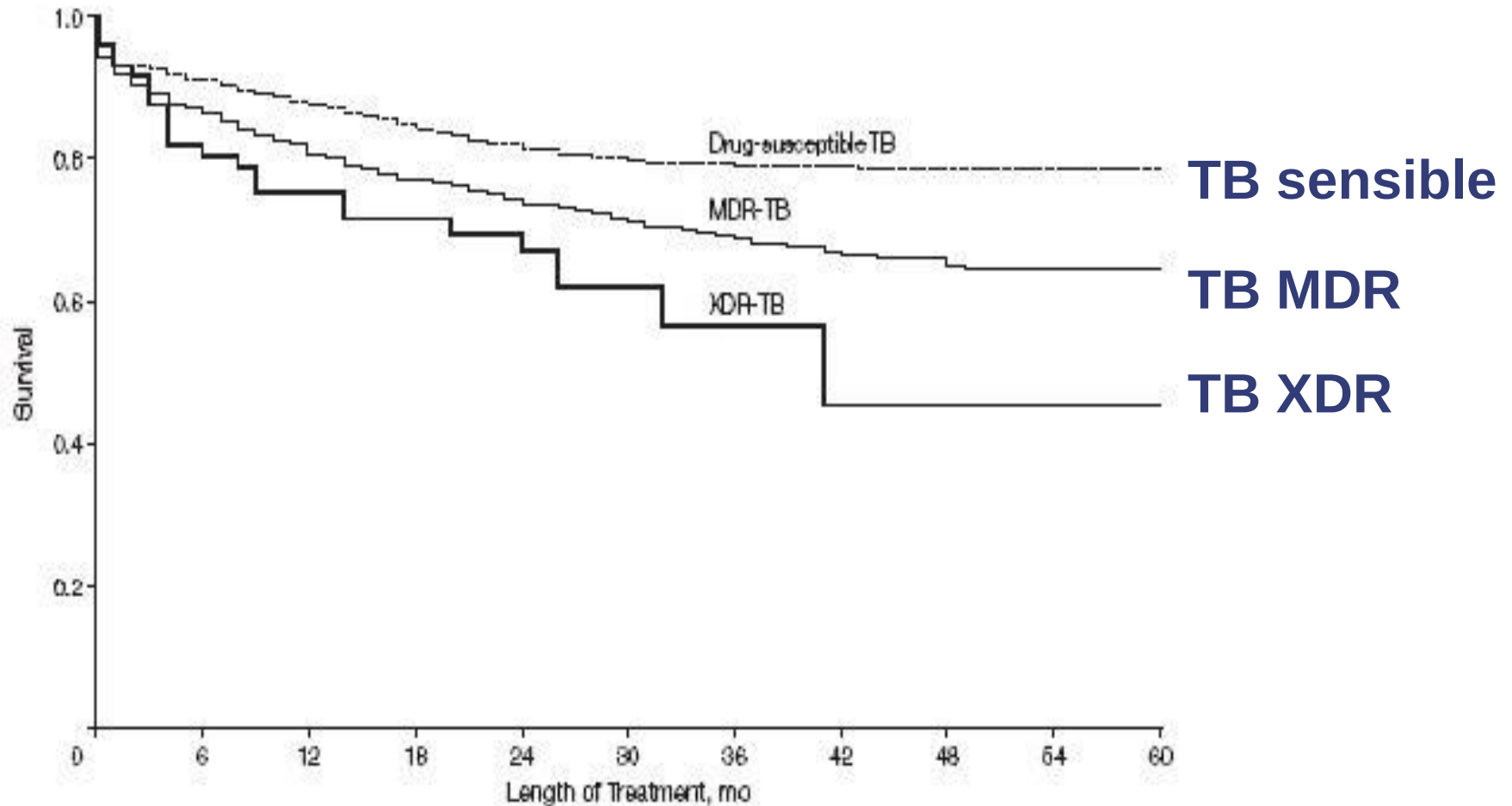
Map 2. Percentage of notified TB cases with MDR-TB among new pulmonary laboratory-confirmed TB cases, European Region, 2019



Source: ECDC/WHO (2018). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2018–2016 data

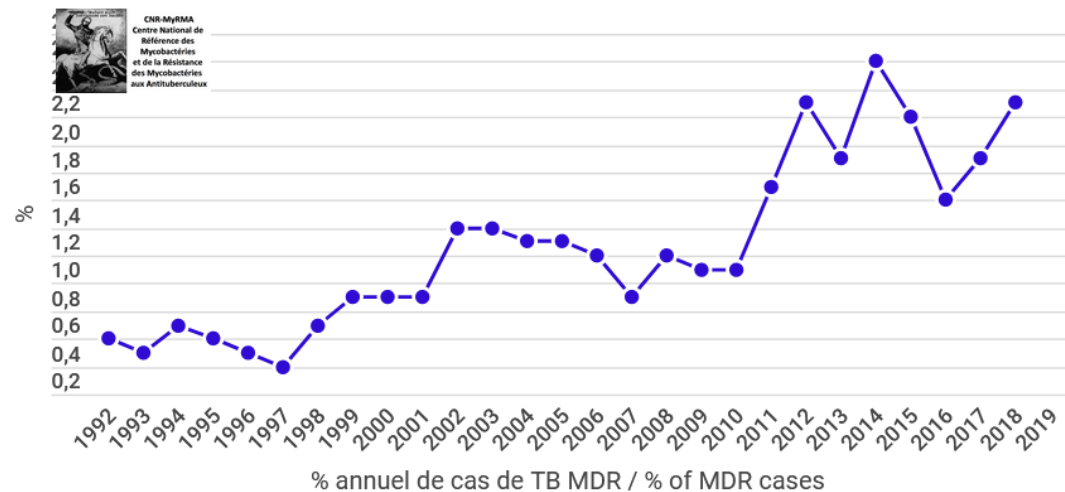
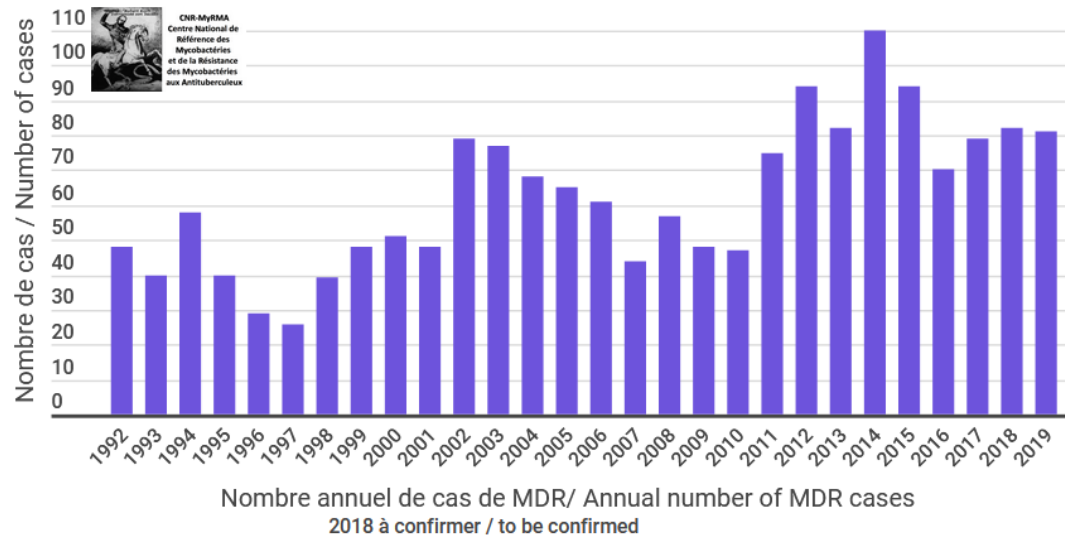
- **999** MDR TB cases notified in 30 EU/EEA countries

Pronostic des cas MDR et XDR



Tuberculose MDR en France

Evolution - Time trend



Traitement des TB MDR/XDR



**Tuberculoses
à bacilles résistants :
diagnostic
et prise en charge**
Lignes directrices

Collection
Aide à l'usage

Table 2.1. Grouping of medicines recommended for use in longer MDR-TB regimens¹

Groups & steps	Medicine	
Group A: Include all three medicines	levofloxacin OR	Lfx
	moxifloxacin	Mfx
	bedaquiline ^{2,3}	Bdq
	linezolid ⁴	Lzd
Group B: Add one or both medicines	clofazimine	Cfz
	cycloserine OR	Cs
	terizidone	Trd
Group C: Add to complete the regimen and when medicines from Groups A and B cannot be used	ethambutol	E
	delamanid ^{3,5}	Dlm
	pyrazinamide ⁶	Z
	imipenem–cilastatin OR	Ipem–Cln
	meropenem ⁷	Mpm
	amikacin	Am
	(OR streptomycin) ⁸	(S)
	ethionamide OR	Eto
	prothionamide ⁹	Pto
	<i>p</i> -aminosalicylic acid ⁹	PAS

***M. tuberculosis* : ce qu'il faut retenir**

- ✓ **Problème majeur de santé publique**
- ✓ **Transmission aérienne, contagiosité**
- ✓ **Tuberculose pulmonaire dans 70% des cas**
- ✓ **Emergence de souches résistantes aux antituberculeux**
- ✓ **Maladie à déclaration obligatoire**

