

Apport du séquençage de routine du génome complet de *Mycobacterium tuberculosis* pour la détection de la résistance

Oana Dumitrescu, Lyon TB study group

RICAI, Paris 17 - 18 décembre 2018



© réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

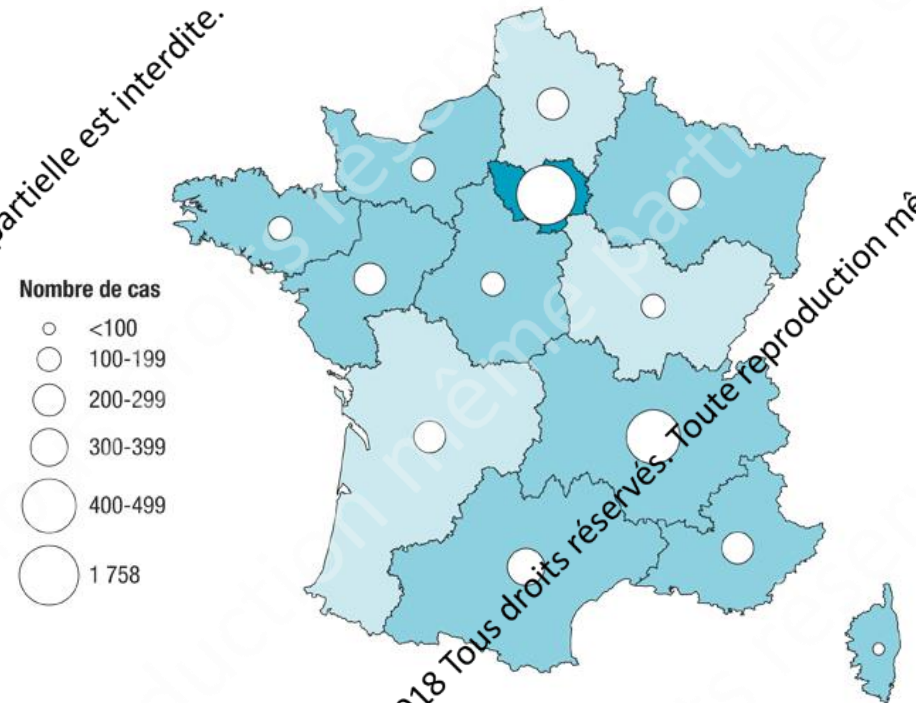
© réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018

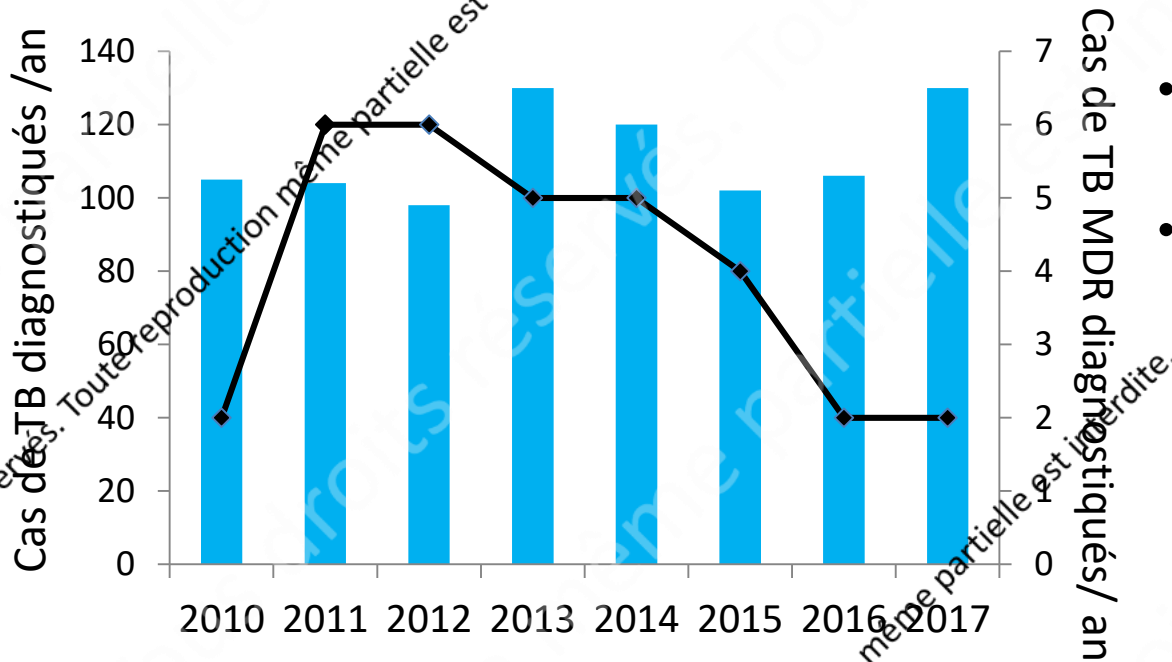
La tuberculose (TB) maladie en France

- Pays de faible prévalence: 4 741 cas/an (7.1 cas/100 000 hab.)
- Auvergne-Rhône-Alpes : deuxième région de France métropolitaine concernée (9% cas déclarés)
 - 8 cas / 100 000 hab.

- ORAM (Observatoire Auvergne Rhône Alpes des Mycobactéries)
 - 350-400 souches génotypés/ an
 - Biomnis Eurofins
 - CHU Lyon (Hospices Civils de Lyon HCL), Saint Etienne, Clermont Ferrand et Grenoble

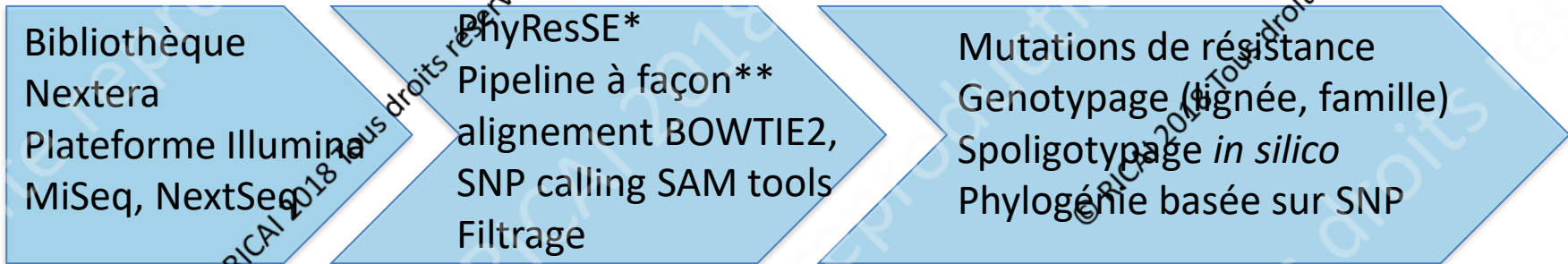


Diagnostic de la TB maladie au HCL



- 100 – 130 nouveaux cas de TB/ an
- 2 – 6 nouveaux cas de TB-MDR/an

- Détection génotypique de la résistance GenoType MTBDRplus (Hain®)
- Antibiogramme phénotypique BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE PZA
- Séquençage du génome complet de *M. tuberculosis* (WGS)



* <https://bioinf.fz-borstel.de/mchips/phyresse/>

** Genestet et al, *Emerging Infectious Diseases* in press

Matériel et Méthodes

- Objectif: comparer les performances des différentes techniques pour la détection de la résistance
- 75 isolats cliniques successifs de MTB ont été inclus: de Nov 2016 à juillet 2017

Line probe assay

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

Antibiogramme

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

WGS

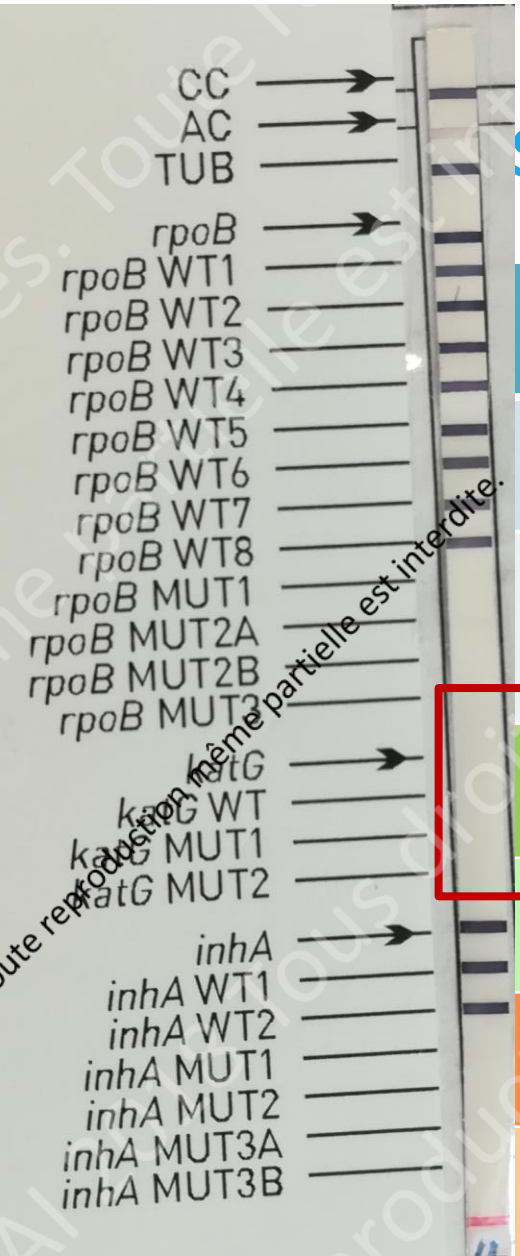
- PhyResSE/ pipeline à façon
- Culture
- Délai: 10 à 14 jours

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

Résultats: dé

sistance INH

Souches résistantes (GS)	Type de test	Statut	Variant non-détectés						
Bas niveau R n = 3	LPA		<i>katG</i> Q88P						
Haut niveau R n = 5				<i>katG</i> L343STOP					
Bas niveau R n = 3					<i>katG</i> Δ1-492				
Haut niveau R n = 5						N.A.			
Bas niveau R n = 3							N.A.		
Haut niveau R n = 5								N.A.	
Bas niveau R n = 3									N.A.
Haut niveau R n = 5									



Résultats : détection de la résistance EMB

Souches résistantes (GS)	Type de test	Souches résistantes détectées	Variants non-détectés
n = 3	ATB	0/3	<i>embB</i> M306I <i>embB</i> Q497R
n = 3	WGS	3/3	N.A.

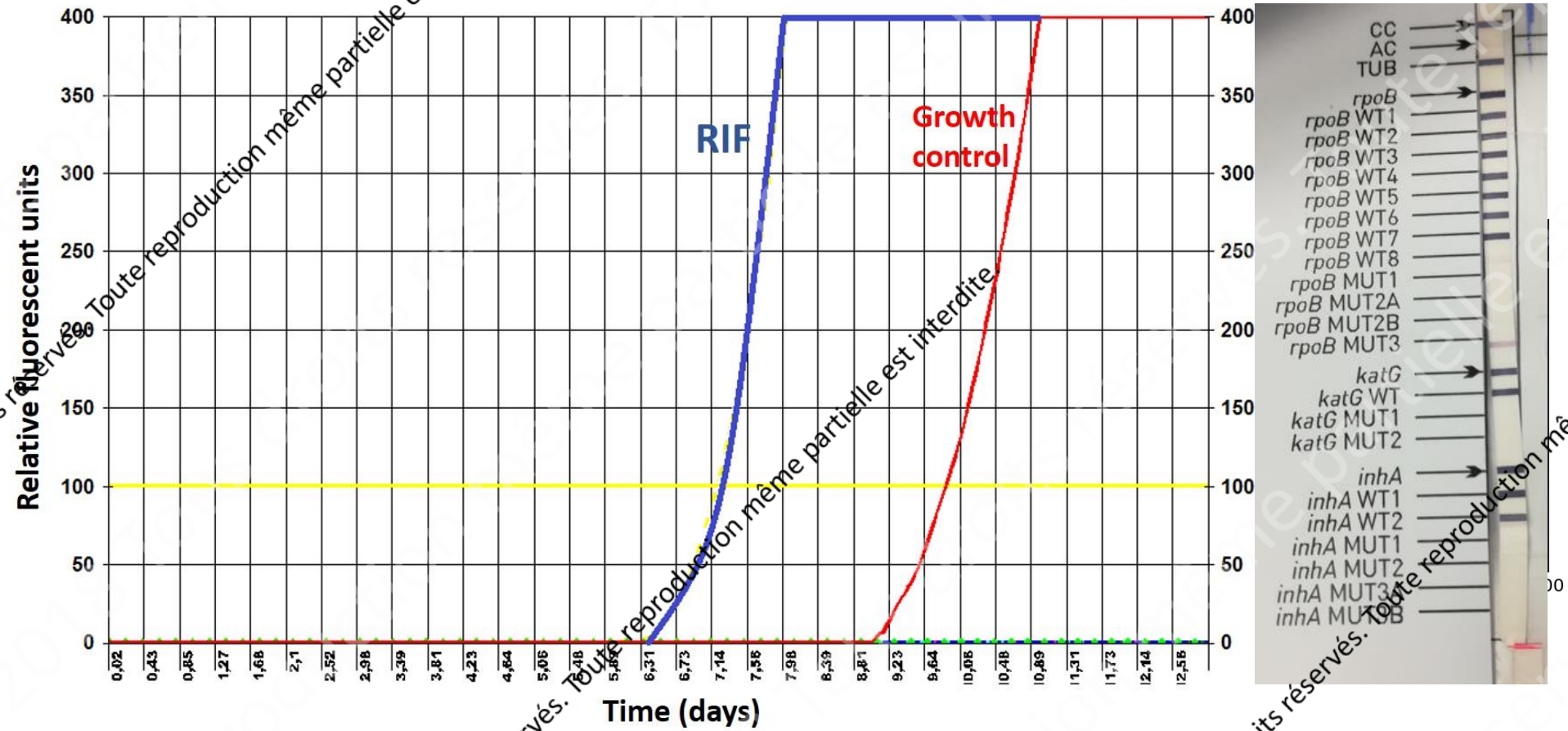
- L'interprétation prudente des mutations *embB* :
 - Polymorphismes sans lien causal avec la résistance EMB
 - Bio-marqueurs de résistance EMB (due à d'autres mutations ou au dérèglement de pompes à efflux)
 - Discordance entre les techniques ATB : Bactec MGIT (cc 5 mg/L) versus méthode proportions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

Résultats : détection de la résistance RIF

Souches résistantes (GS)	Type de test	Souches résistantes détectées	Variants non-détectés
n = 3	LPA	1/3	<i>rpoB</i> L452P* (L533P) <i>rpoB</i> S450L (S531P)
n = 3	ATB	2/3	<i>rpoB</i> L452P* (L533P)
n = 3	WGS	3/3	N.A.

- **rpoB* L452P résistance de bas niveau RIF (“disputed” Miotto et al., *Clin. Microbiol.* 2018)
 - Non-détectées par le système Bactec MGIT
 - Parfois détectées par GenoType MTBDRplus (signal faible de la bande *rpoB* WT8)

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 3/3 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 3/8 souches INH-R

Pour la détection de la résistance ETB :

- Trois souches ETB-R détectées en WGS et non détectées par Bactec MGIT SIRE
- Apport indiscutable du WGS de routine pour MTB, en complément de l'ATB Bactec MGIT, pour la détection correcte de la résistance aux anti-TB et pour la détection des co-infections
- Besoin d'un algorithme combinant les données ATB et WGS pour guider le traitement anti-TB et éviter l'échec thérapeutique

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

Merci pour votre attention

Laboratoire des mycobactéries, HCL



Lyon TB study group



Charlotte
Genestet



Jean Luc
Berland



Christophe
Ginevra



Florence
Ader



Gérard
Lina



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