

# 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.

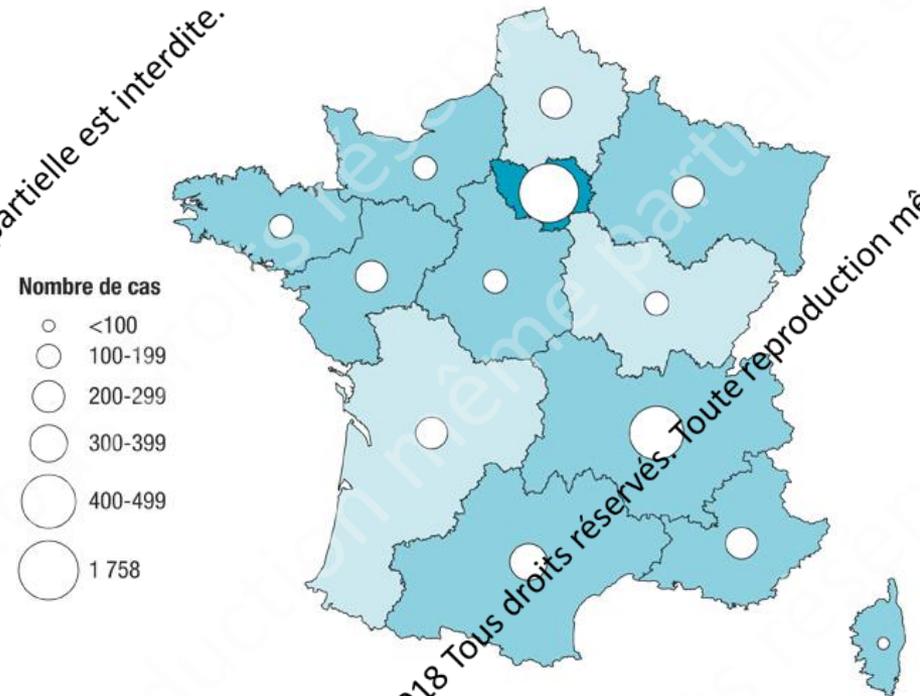
© réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

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

# La tuberculose (TB) maladie en France

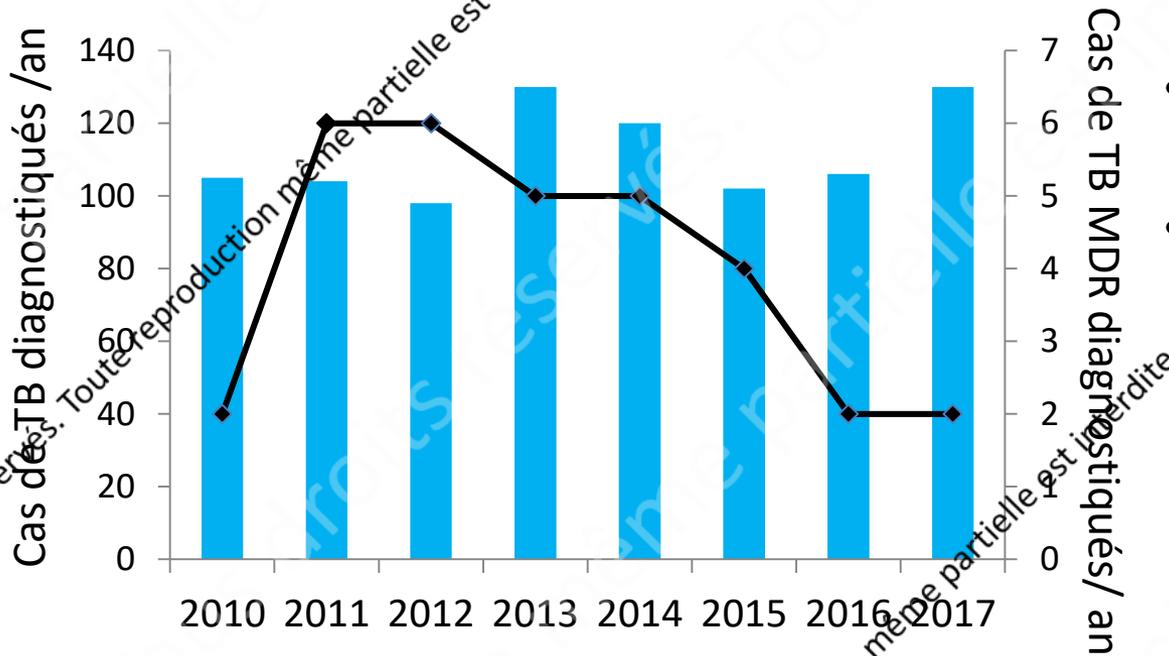
- Pays de faible prévalence: 4 741 cas/an (7.1 cas/100 000 hab.)
- Auvergne-Rhône-Alpes : deuxième région de France métropolitaine concernée (9% cas déclarés)
  - 8 cas / 100 000 hab.

- 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



BEH, mars 2017

# 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

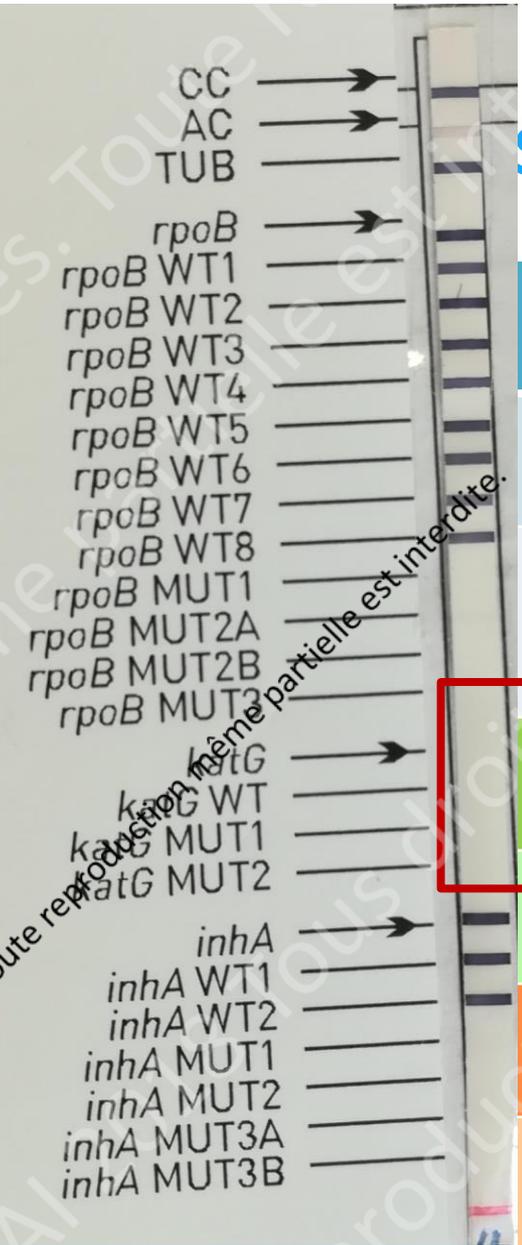
- PhyResSE/ pipeline à façon
- Culture
- Délai: 10 à 14 jours

- 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	Variants 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.

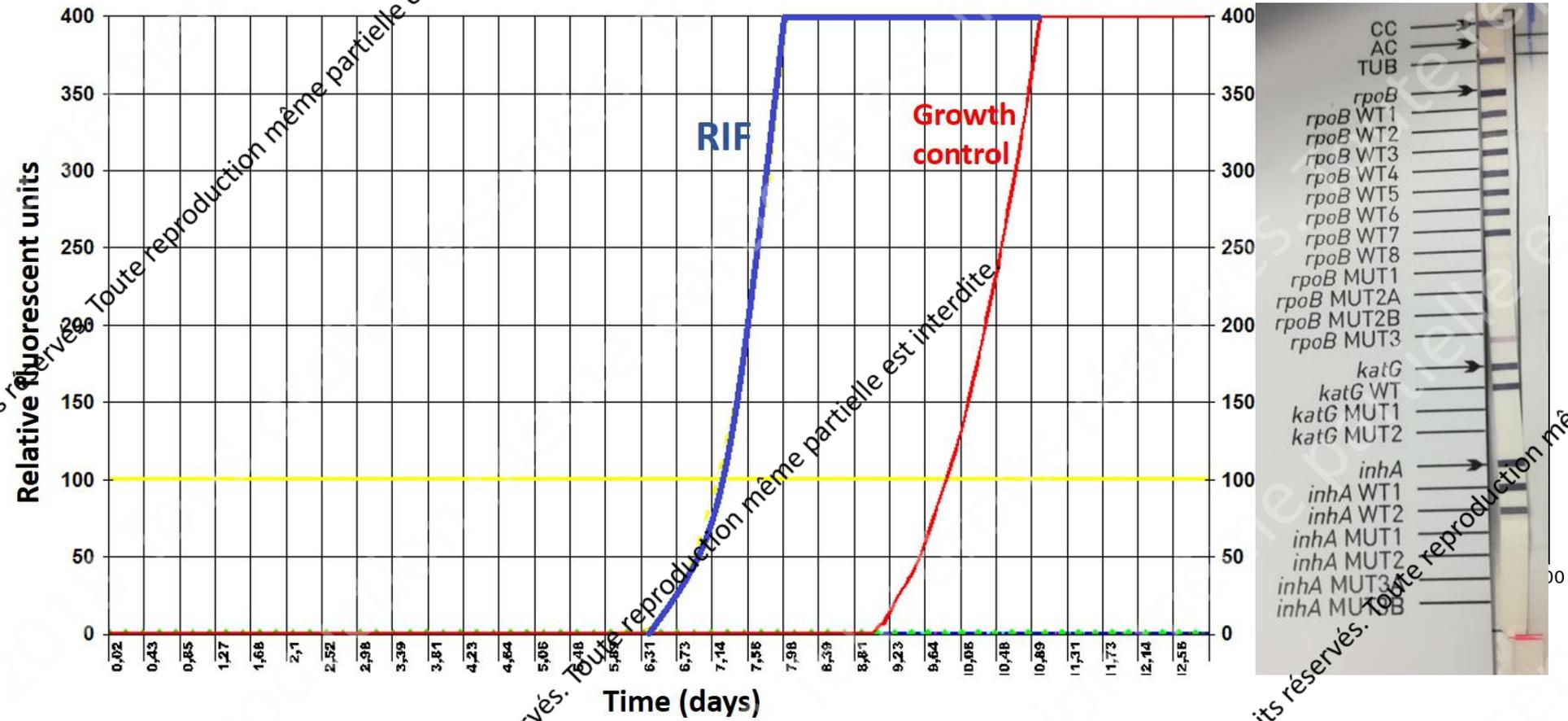
- L'interprétation prudente des mutations *embB* :
  - Polymorphismes sans lien causal avec la résistance EMB
  - Bio-marqueurs de résistance EMB (due à d'autres mutations ou au dérèglement de pompes à efflux)
  - Discordance entre les techniques ATB : Bactec MGIT (cc 5 mg/L) versus méthode proportions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

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