
**Centre National de Référence
des Mycobactéries et
de la Résistance des Mycobactéries
aux Antituberculeux (CNR-MyRMA)**

Laboratoire coordinateur

Laboratoire de Bactériologie - Hygiène
Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière
Site Pitié-Salpêtrière
Responsable : Pr Vincent JARLIER

Laboratoire associé

Laboratoire de Bactériologie- Hygiène
Groupe Hospitalier Saint Louis - Lariboisière - Fernand Widal
Site Lariboisière
Responsable : Pr Emmanuelle CAMBAU

Rapport d'activité pour l'année 2015

Septembre 2016

Table des matières

Fiche d'identité du laboratoire coordonnateur et du laboratoire associé du CNR-MYRMA.....	1
Résumé analytique des résultats 2015 et mise en perspective.....	2
1. Structure du CNR-MyRMA.....	2
2. Améliorations techniques en 2015.....	3
2.1. Identification moléculaire de la résistance à l'éthambutol par séquençage de l'opéron embCAB de M.tuberculosis.....	3
2.2. Trousse MTBDRsl V2.0 pour le dépistage moléculaire de la résistance aux fluoroquinolones et aminosides et antibiotiques injectables chez M.tuberculosis.....	4
2.3. Nouvelle méthode de typage moléculaire complémentaire du MIRU-VNTR 24 loci pour les souches de M.tuberculosis de la lignée Beijing.....	4
2.4. Identification des mycobactéries non tuberculeuses par séquençage de la région Intergénique ITS.....	4
2.5. Standardisation des tests phénotypiques et génotypiques pour la détection de la sensibilité et résistance aux antibiotiques des souches cliniques de M.abscessus en fonction du sequevar du gène erm(41).....	4
2.6. Développement d'une trousse de détection génotypique de la résistance aux macrolides et aux aminosides chez les mycobactéries non tuberculeuses.....	4
2.7. Utilisation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	5
3. Contrôle de qualité – Accréditation.....	5
4. Nombre de souches et prélèvements reçus au CNR-MyRMA et nombre d'analyses faites en 2015.....	5
5. Principaux résultats des expertises menées sur les souches reçues en 2015.....	5
5.1 Espèces.....	5
5.2 Résistance phénotypiques acquise des souches reçues.....	6
5.3 Mutations impliquées dans la résistance acquise chez les souches reçues.....	6
6. Surveillance de la résistance aux antituberculeux à travers les réseaux partenaires.....	7
6.1. Surveillance de la résistance 1aire et 2aire à travers le réseau Azay-mycobactéries (AZAY).....	7
6.2. Surveillance à visée exhaustive de la tuberculose à bacilles multirésistants (MDR à travers le réseau CNR-MyRMA.....	7
7. Surveillance de formes particulières de tuberculose.....	8
8. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux de la tuberculose en 2015.....	8
9. Surveillance de la lèpre en France.....	8
10. Etude génotypique des souches de M.tuberculosis pour l'investigation de cas groupés.....	8
10.1. Tuberculose non MDR.....	9
10.2. Tuberculose MDR.....	9
11. Alertes.....	9
12. Information et formation, organisation de contrôle de qualité externe pour les laboratoires.....	9
13. Conseils thérapeutiques pour la prise en charge des infections à mycobactéries.....	10
14. Conseils auprès des autorités sanitaires et scientifiques en 2015.....	10
15. Publications et communications en relation directe avec le travail mené au CNR.....	11
16. Santé animale et environnement.....	11
1. Missions et organisation du CNR-MyRMA. Techniques disponibles.....	12
1.1. Missions et organisation.....	12
1.2. Techniques introduites en 2015.....	12
1.2.1. Identification moléculaire de la résistance acquise chez M.tuberculosis.....	13
1.2.2. Nouvelle méthode de typage moléculaire complémentaire du MIRU-VNTR 24 loci pour les souches de M.tuberculosis de la lignée Beijing.....	13
1.2.3. Identification des mycobactéries non tuberculeuses par séquençage de la région intergénique ITS.....	13
1.2.4. Mise en place en routine du séquençage du génome entier pour M.tuberculosis.....	16
1.2.5. Standardisation des tests phénotypiques et génotypiques pour la détection de la sensibilité	

et résistance aux antibiotiques des souches cliniques de Mycobacterium abscessus.....	14
1.2.6. Développement d'une trousse de détection génotypique de la résistance aux macrolides et aux aminosides chez des mycobactéries non tuberculeuses.....	16
2. Activités d'expertise menées en 2015.....	18
2.1. Champs des activités d'expertise sur les souches et prélèvements reçus au CNR-MyRMA en 2015.....	18
2.2. Identification des souches.....	18
2.2.1. Souches de M.tuberculosis complex.....	18
2.2.2. Souches de mycobactéries non tuberculeuses.....	20
2.3. Tests phénotypiques de sensibilité aux antibiotiques.....	23
2.3.1. Tests phénotypiques de sensibilité des souches de M.tuberculosis complex.....	23
2.3.2. Tests phénotypiques de sensibilité des souches de mycobactéries non tuberculeuses, tendances évolutives.....	30
2.4. Détection de mutations impliquées dans la résistance acquise aux antibiotiques.....	31
2.4.1. Mutations impliquées dans la résistance de M.tuberculosis complex, tendances évolutives 2006-2015.....	31
2.4.2. Mutations impliquées dans la résistance des mycobactéries non tuberculeuses, tendances évolutives 2006-2015.....	38
2.4.3. Détection de la résistance aux antibiotiques dans les cas de lèpre diagnostiqués en France, tendances évolutives.....	39
3. Activités de surveillance.....	44
3.1. Surveillance des caractéristiques de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux.....	41
3.1.1. Surveillance de la résistance primaire et secondaire à travers le réseau Azay-mycobactérie des CHU, tendances évolutives depuis 1995.....	41
3.1.2. Surveillance à visée exhaustive de la tuberculose à bacilles multirésistants à travers le réseau CNR-MyRMA.....	45
3.1.3. Etude de la prise en charge et du suivi des tuberculoses multirésistantes en France.....	50
3.1.4. Surveillance de la tuberculose à M.bovis.....	51
3.1.5. Surveillance de la méningite tuberculeuse à travers le réseau CNR-MyRMA, tendances évolutives.....	51
3.1.6. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens, de la tuberculose.....	52
3.2. Surveillance de la lèpre en France.....	53
3.3. Etude génotypique des souches de M.tuberculosis : détection et investigation des cas groupés.....	53
3.3.1. Complément bactériologique des enquêtes épidémiologies « autour d'un cas non MDR ».....	53
3.3.2. Suspicion de rechute.....	56
3.3.3. Suspicion de contamination inter-prélèvements au laboratoire.....	56
3.3.4. Souches multirésistantes (MDR) et ultrarésistantes (XDR).....	57
4. Alertes.....	62
4.1. Tuberculose.....	62
4.2. Mycobactérioses.....	62
5. Activités de d'information, de formation et de conseil	64
5.1. Information.....	64
5.2. Formation.....	64
5.2.1. Accueil de stagiaires et missions de formation en 2015.....	64
5.2.2. Enseignement sur les mycobactéries et la tuberculose.....	65
5.2.3. Organisation de la Journée nationale d'information sur la lutte antituberculeuse en France (CNR-MyRMA, DGS, InVS, Inpes), 19 mai 2015.....	65
5.3. Activités de conseil.....	65
5.3.1. Réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP) du Groupe thérapeutique.....	65
5.3.2. Activités de conseil « directes » (hors RCP) pour la tuberculose.....	67
5.3.3. Conseils pour la prise en charge des infections à mycobactéries non tuberculeuses et des cas de lèpre.....	68
5.3.4. Conseils et expertises auprès des autorités sanitaires, médicales et scientifiques nationales et internationales.....	68

6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR-MyRMA.....	70
6.1. Publications et communications.....	70
7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiènes alimentaires et environnementale.....	74
7.1. Santé animale.....	74
7.2. Environnement.....	74
7.2.1. Développements techniques.....	74
7.2.2. Expertise lors d'évènements.....	75
7.2.3. Evaluation de risque pour des agences de santé.....	75
7.3. Alimentation.....	75
Annexe 1 : Missions, équipes, locaux, équipements, démarche qualité.....	76
1. Missions : cahier des charges de l'appel d'offre pour la période 2012-2016.....	76
2. Equipes.....	77
3. Locaux.....	78
4. Principaux équipements.....	78
5. Démarche qualité.....	80
Annexe 2 : Capacités techniques du CNR-MyRMA.....	83
1. Technique de référence disponibles du CNR-MyRMA.....	83
1.1. Techniques phénotypiques.....	83
1.2. Techniques génotypiques.....	83
2. Marqueurs épidémiologiques disponibles.....	85
3. Collections de souches de référence.....	85
4. Liste des techniques (diagnostic/identification, sensibilité aux anti-infectieux...) recommandées par le CNR-MyRMA pour les laboratoires de Bactériologie médicale désirant pratiquer la mycobactériologie.....	86
Annexe 3 : Cas de tuberculose multirésistante, rapport trimestriel destiné aux autorités sanitaire : exemple du 4^{ème} trimestre 2015	88

Fiche d'identité du laboratoire coordonnateur et du laboratoire associé du CNR-MyRMA

- **Laboratoire coordonnateur**

Laboratoire de Bactériologie - Hygiène

Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière-Charles Foix (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris)

Site Pitié-Salpêtrière

47-83 Boulevard de l'hôpital

75634 PARIS cedex 13

Téléphone : +33 (0) 1 42 16 20 70 secrétariat, +33 (0) 1 42 16 20 83 bureau CNR-MyRMA

Fax : +33 (0) 1 42 16 20 72

Email : cnr.myctb@psl.aphp.fr

Site Internet : <http://cnrmyctb.free.fr>

Responsable scientifique : Pr Vincent JARLIER

Téléphone : +33 (0) 1 42 16 20 70, +33 (0) 6 80 08 59 68

Email : vincent.jarlier@aphp.fr

Responsable administratif : Mr Serge MOREL, Directeur du groupe hospitalier, assisté de Mme Béatrice LE BALANGER, gestion financière

- **Laboratoire associé**

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène

Groupe Hospitalier Saint Louis - Lariboisière - Fernand Widal (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris)

Site Lariboisière

2, rue Ambroise Paré

75010 Paris

Téléphone : +33 (0) 1 49 95 65 51 secrétariat, +33 (0) 1 49 95 65 54 bureau CNR-MyRMA

Fax : +33 (0) 1 49 95 85 37

Responsable scientifique: Pr Emmanuelle CAMBAU

Téléphone : +33 (0) 1 49 95 65 54, +33 (0) 6 80 42 25 08

Email : emmanuelle.cambau@aphp.fr

Responsable administratif : Mme Bénédicte ISABEY, Directrice de l'hôpital Lariboisière-Fernand Widal, Directrice adjointe du Groupe Hospitalier Saint Louis - Lariboisière - Fernand Widal, assistée de Mme Marie Noëlle PHILIPPON, gestion financière.

Résumé analytique des résultats 2015 et mise en perspective

1. Structure du CNR-MyRMA

Le CNR-MyRMA repose sur 2 laboratoires de bactériologie médicale

Un laboratoire coordinateur : laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière – Charles Foix à Paris, **site Pitié-Salpêtrière**, responsable **Pr Vincent Jarlier**.

Un laboratoire associé : laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Groupe hospitalier Saint Louis-Lariboisière à Paris, **site Lariboisière**, responsable **Pr Emmanuelle Cambau**.

Chacun maîtrise les techniques phénotypiques et génotypiques en mycobactériologie médicale (tuberculose, lèpre, infections à mycobactéries non tuberculeuses), sont équipés de **secteurs de sécurité L3** permettant la manipulation de *M.tuberculosis*, et bénéficient d'un personnel compétent en mycobactériologie. **Ceci permet à ces deux laboratoires de se suppléer mutuellement et d'assurer la continuité des activités d'expertise** (périodes de maintenance et de contrôle du secteur L3 de l'un d'eux, problème technique, déficit momentané en personnel, périodes de congés...).

Ces deux laboratoires mettent aussi en commun des centres d'intérêt complémentaires :

Laboratoire coordonnateur Pitié-Salpêtrière : aspects diagnostiques, thérapeutiques, mécanismes de résistance aux antibiotiques et génotypage pour *M.tuberculosis* ; surveillance épidémiologique des infections à travers les réseaux partenaires ; conseils thérapeutiques pour les infections inhabituelles (ex. tuberculose MDR...).

Laboratoire associé Saint Louis-Lariboisière : aspects diagnostiques, thérapeutiques, mécanismes de résistance aux antibiotiques et génotypage pour les mycobactéries non tuberculeuse et *M.leprae* ; mycobactériologie environnementale ; conseils et alertes pour les infections liées aux soins ou à un réservoir environnemental ; tests immunologiques de la tuberculose.

Cette complémentarité permet de répondre à l'ensemble du cahier des charges et d'optimiser (i) les appuis aux collègues microbiologistes et cliniciens, (ii) les interactions avec les autorités sanitaires (Santé Publique France, DGS, ARS, CLAT).

Le CNR-MyRMA dispose d'équipes médicales et techniques

Laboratoire coordonnateur (Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière)

- 1 PU-PH chef de service, 1 PU-PH adjoint, 3 MCU-PH, et 1 PH du service de Bactériologie-Hygiène du Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière – Charles Foix et Université Paris 6 (AP-HP (1,45 ETP, financement APHP)
- **1 médecin contractuel (PHC, 1ETP) financé par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA**
- **2 techniciens financés par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA (2 ETP)**
- 2 techniciens (1 ETP, financement AP-HP)
- 1 secrétaire (0,25 ETP, financement AP-HP)
- 1 cadre (0,1 ETP, financement AP-HP)
- 1 technicien de recherche en chimiothérapie expérimentale (financement fonds associatifs)
- 1 technicien de recherche en biologie moléculaire (financement Université Paris 6)
- 1 animalier (financement fonds associatifs)

Laboratoire associé (Groupe hospitalier Saint Louis-Lariboisière)

- 1 PU-PH chef de service et 1 PH, du service de Bactériologie du Groupe Hospitalier Saint Louis - Lariboisière et Université Paris 7 (0,35 ETP, financement AP-HP)
- **1 praticien attaché (0,1 ETP) financé par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA**
- **1 Technicien financé par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA (1 ETP)**
- 2 Techniciens (0,5 ETP, financement AP-HP)

Le CNR-MyRMA s'appuie sur 2 réseaux partenaires

Le réseau Azay-Mycobactéries

Depuis 1995, le CNR-MyRMA conduit la surveillance annuelle de la **résistance primaire et secondaire aux antibiotiques des bacilles tuberculeux** grâce à la collaboration volontaire d'une **quarantaine de laboratoires hospitalo-universitaires** couvrant toutes les régions métropolitaines sauf la Corse qui n'a pas de CHU. La surveillance assurée à travers ce réseau est standardisée, en particulier pour ce qui est du recueil des informations cliniques et des résultats des épreuves de sensibilité aux antibiotiques de première ligne.

La qualité du réseau AZAY-Mycobactéries a fait l'objet de travaux approfondis publiés qui ont montré que la sensibilité du réseau et la concordance des données avec celles de la DO étaient satisfaisantes.

Ce réseau permet de recueillir des informations sur ~1.500 cas de tuberculose /an.

Le réseau CNR-MyRMA

Depuis 1992, le CNR-MyRMA conduit, à travers le réseau créé spécifiquement pour cela et qui réunit **l'ensemble des laboratoires pratiquant la mycobactériologie (222 en 2015)**, la surveillance annuelle à visée exhaustive du nombre de cas de **tuberculose bactériologiquement confirmée** (culture positive) et, parmi ces cas, du nombre de ceux qui sont porteurs d'une souche de bacille tuberculeux résistant à l'isoniazide et à la rifampicine (« **multirésistants** » ou MDR).

Ce réseau est aussi mis à contribution pour surveiller certaines formes particulières de tuberculose (**méningites, M. bovis...**).

Ce réseau permet de recueillir des informations sur ~4.200 cas de tuberculose /an.

Le CNR-MyRMA est adossé à des unités de recherche labélisés

Laboratoire coordinateur

Equipe INSERM « Mécanismes d'émergence et de diffusion de la multirésistance chez les Mycobactéries et les entérobactéries » intégrée à l'UMRS CR7-INSERM 1135 « Centre d'immunologie et des maladies infectieuses (CIMI) », Paris 6, site Pitié-Salpêtrière).

Laboratoire associé

UMR1137 IAME, Paris 7.

2. Améliorations techniques en 2015

Le CNR-MyRMA dispose de toutes les techniques phénotypiques et génotypiques utiles (cf annexe 2) et met au point ou évalue chaque année de nouvelles techniques. Il évalue les nouvelles troupes et systèmes mis sur le marché par l'industrie du réactif en matière de diagnostic (colorants, milieux de culture, troupes d'identification et de détection de la résistance...).

En 2015, le CNR-MyRMA a mis en place en routine les techniques ci-dessous.

2.1. Identification moléculaire de la résistance à l'éthambutol par séquençage de l'opéron embCAB de M.tuberculosis

Cette nouvelle approche **qui améliore très significativement la détection moléculaire de la résistance à l'éthambutol** lorsqu'elle est utilisée en complément du test commercial Genotype® MTBDRsl.

2.2. Trousse MTBDRsI V2.0 pour le dépistage moléculaire de la résistance aux fluoroquinolones et aminosides et antibiotiques injectables chez M.tuberculosis

Nous avons introduit en routine la trousse Genotype®MTBDRsI V2.0 après avoir montré sa supériorité sur la V1 pour la détection des mutations impliqués dans la résistance aux fluoroquinolones (FQ) et aux antituberculeux injectables de 2ème ligne (amikacine, kanamycine, capréomycine), antibiotiques clés pour le traitement des tuberculoses MDR : meilleure sensibilité pour la détection de la résistance aux FQ (94,8 vs 89,6%) et à la kanamycine (90,5 vs 59,5%), meilleures sensibilité et spécificité pour la détection des souches pré-XDR (83,3 vs 75,0% et 88,6 vs 67,1%, respectivement), meilleure sensibilité pour la détection des souches XDR (83,0 vs 49,1%).

2.3. Nouvelle méthode de typage moléculaire complémentaire du MIRU-VNTR 24 loci pour les souches de M. tuberculosis de la lignée Beijing

Parce que les souches de la lignée Beijing, qui représentent ~1/2 des cas MDR des cas en France, sont en grande partie regroupées en clusters de profil phylogénétiques non différenciables sur la base de leur profil MIRU-VNTR 24 loci, alors qu'elles n'ont en fait pas de lien épidémiologique, montrant que cette méthode de génotypage a un pouvoir discriminant insuffisant, nous avons introduit une approche complémentaire qui repose l'analyse de 4 loci MIRU hypervariables supplémentaires. Ceci a permis d'améliorer significativement l'identification des cas de transmission de tuberculose MDR liée aux souches Beijing.

2.4. Identification des mycobactéries non tuberculeuses par séquençage de la région intergénique ITS

La mise en place du **séquençage de la région intergénique ITS** (Internally Transcribed Sequence) localisée entre les gènes codant pour les ARNr 16S et 23S a permis d'améliorer l'identification moléculaire de certaines espèces de mycobactéries non tuberculeuses, par exemple *M.chimaera* qui est difficilement différenciable de *M. intracellulare* par séquençage des gènes *hsp65* et *rpoB*.

2.5. Standardisation des tests phénotypiques et génotypiques pour la détection de la sensibilité et résistance aux antibiotiques des souches cliniques de M.abscessus en fonction du sequevar du gène erm(41)

Nous avons mis au point un algorithme d'interprétation des tests de sensibilité de *M.abscessus* complexe à la clarithromycine et l'amikacine (antibiotiques recommandés pour cette espèce).

Clarithromycine, deux mesures de la CMI (a) **précoce** à 5 jours, (b) **tardive** à J14.

- CMI>16 mg/L dès la lecture précoce : **résistance acquise à haut niveau** par mutation en positions 2058 ou 2059 du gène *rrl*, quelque soit le sequevar *erm(41)*.

- CMI≤16 mg/L à la lecture précoce mais >16 mg/L à la lecture : **résistance naturelle inductible**, pour les sequevars *abscessus erm(41)* T28 et *bolletii*. Les macrolides peuvent éventuellement être prescrits sans certitude sur leur efficacité.

- CMI≤4 mg/L aux lectures précoce et tardives : **sensibilité naturelle**, pour les sequevars *abscessus erm(41)* C28 et *massiliense*. Associer clarithromycine et amikacine pour éviter la sélection de mutants résistants.

Pour l'**amikacine**,

- CMI>64 mg/L : **résistance acquise à haut niveau** par mutation du gène *rrs* (a1408g).

- CMI≤64 mg/L : **sensibilité**. Associer clarithromycine et amikacine pour éviter la sélection de mutants résistants.

2.6. Développement d'une trousse de détection génotypique de la résistance aux macrolides et aux aminosides chez les mycobactéries non tuberculeuses

Nous avons développé une trousse prête à l'emploi, en collaboration avec l'industriel Hain Lifesciences, basée sur l'hybridation inverse sur bandelettes de produits de PCR pour (a) détecter les mutations des gènes *rrl* et *rrs* conférant, respectivement, la résistance acquise aux macrolides et aux aminosides chez *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae* et *M. abscessus*, et (b) permettre l'identification des différents sequevars de *M. abscessus* et donc du phénotype naturel de sensibilité vis-à-vis des macrolides par l'étude des polymorphismes du gène *erm(41)*.

La concordance entre les résultats obtenus avec la trousse et le séquençage des gènes de résistance à la clarithromycine et aux aminosides était de 96.6%. La trousse, maintenant commercialisée sous le nom GenoType NTM-DR®, a été introduite en routine au CNR-MyRMA

2.7. Utilisation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF

Les deux laboratoires sont équipés de spectromètre de masse MALDI-TOF dans le cadre de leurs activités de bactériologie médicale hospitalières. Ces équipements sont progressivement mis à profit (a) pour améliorer et simplifier l'identification des mycobactéries, (b) pour analyser des métabolites de mycobactéries, par exemple dans le cadre de la détection de résistance (cf ci-dessous §15.3).

Mise en place du séquençage du génome entier de *M.tuberculosis*

Cf ci-dessous § 15.3. « *Etudes génotypiques de M.tuberculosis* ».

3. Contrôle de qualité – Accréditation

Le CNR-MyRMA a participé en 2015 à des contrôles de qualité externe (CQE) européens: (a) prélèvements et souches pour examen microscopique, culture, identification, tests de sensibilité, amplification génique et détection moléculaire de la résistance, CQE organisé par la société Instand (Dusseldorf, Allemagne) dans le cadre du réseau européen des CNR de tuberculose et mycobactéries ERLN-TB (ECDC); (b) suspensions d'ADN de *M.tuberculosis* pour génotypage MIRU-VNTR, CQE organisé par le RIVM (Bilthoven, Pays-Bas) dans le cadre du « Global Network for the Molecular Surveillance of Tuberculosis ». **Les résultats étaient conformes.**

Les deux laboratoires du CNR-MyRMA se sont inscrits depuis quatre ans dans la **démarche d'accréditation** dans le cadre du processus général enclenché par les Pôles de biologie médicale de leur hôpital respectif. **Chacun des deux laboratoires est, tout au long du processus, accrédité à travers le pôle de biologie médicale auquel il appartient, considéré par le COFRAC comme un laboratoire unique (cf certificats d'accréditation en pièces jointes).**

4. Nombre de souches et prélèvements reçus au CNR-MyRMA et nombre d'analyses faites en 2015

Le nombre total de souches et prélèvements reçus au CNR-MyRMA chaque année depuis 2010 est resté **globalement stable autour de 1200-1400 (1150 en 2015).**

Au total, en **2015**, le CNR-MyRMA a effectué **4514 analyses** génotypiques (gènes étudiés pour identification ou recherche de mutations de résistance) et **phénotypiques** (antibiogrammes) **sur les 1150 souches et prélèvements reçus.**

Il faut noter entre 2010 et 2015 une augmentation importante des activités d'expertise menées sur chaque souche et prélèvement reçus, liée d'une part à l'évolution des techniques et des connaissances et d'autre part à la complexification des besoins thérapeutiques.

Ceci s'est traduit par :

- **doublement** du nombre de souches pour lesquelles une étude génotypique de sensibilité a été mise en œuvre (**+23% pour *M.tuberculosis* ; triplement pour les mycobactéries non tuberculeuses**).
- **+80% du nombre total de tests génotypiques de résistance** (augmentation du nombre de gènes analysés).
- **+50% du nombre de souches de *M.tuberculosis* soumises à un antibiogramme de 1^{ère} ligne.**
- **+50% du nombre de souches de *M.tuberculosis* soumises à un antibiogramme de 2^{ème} ligne**, qui demande beaucoup de travail par l'utilisation de nombreux milieux de culture spécifiques non commercialisés, qui doivent donc être préparés localement puis soumis à des contrôles de qualité.
- **triplement** du nombre de biopsies soumises à la détection de *M.leprae* et du nombre de souches identifiées et analysées génotypiquement.

5. Principaux résultats des expertises menées sur les souches reçues en 2015

5.1. Espèces

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

M. tuberculosis complex

La moitié des 417 souches du complexe *M.tuberculosis* reçues pour identification ont été identifiées jusqu'au niveau de l'espèce : 88% *M.tuberculosis*, principale espèce responsable de tuberculose humaine, 3% *M.bovis* et 7% *M.africanum*, proportions stables depuis plusieurs années. Pour ces deux dernières espèces, la proportion est surestimée car l'identification jusqu'au niveau de l'espèce à partir des souches reçues est essentiellement entreprise au CNR pour les souches non typiques de l'espèce *M.tuberculosis* (souches lisses, dysgoniques...). Cf. § 6 ci-après pour une évaluation plus précise du nombre de tuberculoses à *M.bovis*.

Mycobactéries « atypiques » ou « non tuberculeuses (NTM)

- distribution des 384 souches reçues pour identification : 38% complexe *M.avium-intracellulare*, 10% *M.xenopi*, 3% *M.kansasii*, 30% espèces dites « à croissance rapide », (*M.chelonae*, *M.fortuitum*, *M.abscessus*), 14 % espèces rares ou nouvellement décrites.
- 76% des souches ont été considérées comme responsables d'infections, pourcentage élevé en cohérence avec la volonté du CNR-MyRMA de concentrer ses efforts sur les souches importantes au plan médical.
- 4 souches étaient isolées d'adénites chez des enfants de moins de 5 ans, en diminution par rapport aux années antérieures, indicateur surveillé dans le cadre du suivi des infections à mycobactéries non tuberculeuses depuis de l'obligation vaccinale par le BCG en 2007.

5.2. Résistance phénotypique acquise des souches reçues

M. tuberculosis

- 66% des 240 souches de *M. tuberculosis* reçues pour tests de sensibilité étaient résistantes à au moins 1 des antituberculeux de 1^{ère} ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol, streptomycine), parmi lesquels les 2/3 étaient multirésistants (MDR) c'est-à-dire résistantes à l'isoniazide et la rifampicine. Ces chiffres sont très différents de ceux générés par la surveillance systématique menée à travers les deux réseaux partenaires du CNR (cf § 6.2. ci-après) et ce n'est donc pas à partir des souches reçues au CNR-MyRMA pour expertise que l'on peut établir des statistiques représentatives de résistance en France car ces souches sont souvent adressées précisément pour suspicion de résistance. En revanche, l'analyse des souches reçues permet une étude précise des mécanismes de résistance prévalents en France.
- La confrontation du nombre de souches MDR reçues pour expertise et des données issues de la surveillance spécifique à visée exhaustive à travers le réseau du CNR-MyRMA permet de déduire que le CNR reçoit la quasi-totalité des souches MDR-XDR identifiées en France, ce qui en permet une étude quasi exhaustive.
- Augmentation du nombre de souches MDR depuis 2012 : ce nombre, qui était resté stable entre 2006 et 2010 autour de ~51 par an, a atteint une centaine par an depuis 2012, ce qui est lié aux patients nés dans les pays d'ex-URSS et d'Europe de l'Est (~10 /an en 2006 – 2010, 40 à 60 depuis 2012). Le nombre de cas MDR de patients nés en France ou en Europe de l'ouest, rares jusqu'en 2013 (≤ 10 /an), a augmenté en 2014 (n=14) et 2015 (n=23).
- Résistance aux principaux antituberculeux de 2^{ème} ligne parmi les souches MDR : 26% à un aminoside de réserve (kanamycine, amikacine, capréomycine) et 20% aux fluoroquinolones.
- Proportion de XDR (MDR résistants aussi aux aminosides et fluoroquinolones) parmi les MDR : 2-3% en 2002 - 2005, 10% en 2010-2011, 20-25% en 2013-2014 mais retour en 2015 au niveau de 2010-11.

Mycobactéries non tuberculeuses

Au sein des 268 souches reçues pour tests de sensibilité, la résistance acquise n'est trouvée que chez les souches de patients déjà traités (résistance 2^{aire} par sélection de mutants résistants) : 10% à la clarithromycine pour *M.avium-intracellulare* complex, 0% à la clarithromycine pour *M.xenopi*, 0% à la rifampicine pour *M.kansasii*, 15% à l'amikacine pour *M.abscessus* subsp. *abscessus*.

5.3. Mutations impliquées dans la résistance acquise chez les souches reçues

En 2015, un total de 1.730 tests génomiques pour recherche de mutations impliquées dans la résistance (*M. tuberculosis* 1.502, mycobactéries non tuberculeuses 150, *M.leprae* 78) ont été effectués pour 461 souches (285 *M. tuberculosis*, 150 mycobactéries non tuberculeuses, 26 *M.leprae*). Les résultats ont été les suivants :

M. tuberculosis

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Principales mutations (répartition stable ces dernières années) : gène *rpoB* chez **toutes** les souches résistantes à la rifampicine (dont 2/3 mutation S531L) ; gène *katG* (77%) dont 2/3 mutation S315T (résistance de haut niveau), et/ou région régulatrice du gène *inhA* (33%) (dont 21% de mutation isolée dans ce gène ce qui génère une résistance de bas niveau) pour l'isoniazide ; grande diversité des mutations dans le gène *pncA* pour le pyrazinamide ; gènes *gyrA* (81%), essentiellement à la position 94, ou *gyrB* (19%) chez **toutes** les souches résistantes aux fluoroquinolones ; grande diversité de mutations dans le gène *ethA* pour l'éthionamide.

Mycobactéries « atypiques » ou « non tuberculeuses (NTM)

Mutations dans le gène *rrl* codant l'ARN 23S pour la clarithromycine et A1408G du gène *rrs* codant l'ARNr16S pour l'amikacine.

M.leprae : aucun cas de résistance aux antiléproux parmi les 26 cas de lèpre bactériologiquement confirmés recensés en France en 2015. **Résultats cumulés 2001-2015** : 152 cas confirmés, 7,4% résistance 1aire (sur 122 nouveaux cas), 20,7 % résistance 2aire (sur 30 rechutes).

6. Surveillance de la résistance aux antituberculeux à travers les réseaux partenaires

6.1. Surveillance de la résistance 1aire et 2aire à travers le réseau Azay-mycobactérie (CHU)

- 1570 cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en 2014 par 38 CHU (recueil mené en 2015)
- caractéristiques principales des cas : 8,8 % antécédents de traitement ; 6,1 % VIH+ ; 67,2 % nés à l'étranger.
- proportion basse et stable des patients avec antécédents de traitement, en faveur d'une prise en charge convenable de la tuberculose en France (indicateur de qualité),
- proportion basse et stable de patients VIH+ qui montre que la co-infection tuberculose-VIH est peu fréquente en France et que l'impact de l'épidémie du VIH sur l'épidémiologie de la tuberculose est modeste.
- proportion de nés à l'étranger en augmentation : 35% dans les années 1990, ~50% en 2002 et 67,2% en 2014. La plupart des pays d'Europe de l'Ouest constatent cette évolution (cf rapports OMS).
- taux de résistance « 1aire » (pas d'antécédent de traitement) en 2014 : 13,3 % à au moins un des 4 antituberculeux de première ligne, 8 % à l'isoniazide, 2,5 % à la rifampicine,
- taux de résistance « 1aire » à l'isoniazide : augmentation régulière significative (3,7 % en 1995, 8% en 2014) ce qui confirme l'importance de maintenir en France les recommandations de quadrithérapie pour les nouveaux cas (c.a.d. avec éthambutol),
- le taux de multirésistance 1aire était en 2014 (2,4 %) soit plus du double de celui de 2009 et 2010 (1%).
- le taux de résistance « 1aire » différait, comme toujours, selon le pays de naissance : 10 % chez les patients nés en France mais 15 % chez ceux nés à l'étranger ($p < 0,02$) ;
- le taux de résistance « 2aire » (patients avec antécédents de traitement) en augmentation depuis 20 ans : 35,8% à au moins un des 4 antituberculeux de première ligne (3,5 fois le taux vu plus haut pour les nouveaux cas), 32,1% à l'isoniazide (16,7 % en 1995), 27,6% à la rifampicine (7,9% en 1995)
- l'augmentation importante des taux de résistance « 2aire » était associée à un quadruplement du nombre de cas de tuberculose MDR (7% en 1995, 26,1% en 2014) chez les patients ayant déjà reçu un traitement.
- le taux de résistance « 2aire » différait, comme toujours, selon le pays de naissance : les 35 cas de multirésistance diagnostiqués dans les CHU concernaient des patients nés à l'étranger ; le taux de résistance à chacun des 4 antituberculeux était bas chez les patients nés en France.
- le taux global de multirésistance était en 2014 de 4,4% dans les CHU.
- la quasi-totalité des cas résistants à la rifampicine sont aussi résistants à l'isoniazide ce qui en fait un bon marqueur de multirésistance.

6.2. Surveillance à visée exhaustive de la tuberculose à bacilles multirésistants (MDR) à travers le réseau CNR-MyRMA

- 4196 cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en 2014 à travers les 222 laboratoires du réseau

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

(recueil mené en 2015), dont **56% concentrés dans 20 laboratoires** (15 CHU, 2 CHG d'Ile-de-France, 2 gros laboratoires privés, 1 laboratoire de sanatorium Ile de France).

- **110 cas MDR en 2014, soit 2,6 %** (IC95 : 2,2-3,2%) **du total des cas.**
- **cas MDR de 2014 répartis dans 45 laboratoires (2/3 dans des laboratoires diagnostiquant plus de 50 cas de tuberculose/an mais 1/4 dans ceux diagnostiquant moins de 20 cas/an)** ce qui **justifie l'effort d'intégrer dans le réseau tous les laboratoires** qui pratiquent la mycobactériologie.
- % de cas MDR (2,6%) calculé sur les 4196 cas diagnostiqués par les laboratoires qui pratiquent la mycobactériologie (réseau CNR-MyRMA) inférieur à celui calculé sur les 1,570 cas diagnostiqués par les laboratoires de CHU du réseau Azay-Mycobactéries (4,4%), probablement en raison du caractère spécialisé des services de pneumologie et d'infectiologie des CHU. Ceci montre l'**intérêt de travailler avec deux réseaux complémentaires.**
- **le % de cas MDR a quadruplé depuis le début de la surveillance en 1992 : 0,4-0,7% en 1993-1998 ; 0,9% en 1999-2001 ; 1,1-1,4 % en 2002-2010 ; 1,7% en 2011 ; 2,3% en 2012, 2,6% en 2014.**
- le nombre de cas **MDR a augmenté dans quelques régions** (Rhône Alpes, Provence-Côte d'azur et Nord-Pas de Calais). **L'Ile-de-France cumule la moitié des cas MDR.**
- **caractéristiques des cas MDR** : 70% d'hommes, 90% nés à l'étranger (dont 57% en Europe de l'Est, 18% en Afrique sub-saharienne, 5% au Maghreb, 8% en Asie), âge médian 32 ans, 6% VIH+, 85 % forme pulmonaire, 45% sans antécédents de traitement (MDR « primaire »).
- **les caractéristiques des cas MDR se sont beaucoup modifiées** durant les 20 années de la surveillance en ce qui concerne les **antécédents de traitement** (diminution de 73% à 43%), et les **patients nés à l'étranger** (augmentation de 53% à 91%), essentiellement en Europe de l'est et ex-URSS.

7. Surveillance de formes particulières de tuberculose

- **Tuberculose à *M.bovis*** (à travers le réseau AZAY-Mycobactéries des CHU) : les cas à *M. bovis* représentaient **1,4% des 1179 cas de tuberculose humaine** diagnostiqués en 2014 et pour lesquels l'espèce a été identifiée au sein du complexe tuberculosis, ce qui permet **d'extrapoler à une cinquantaine le nombre de cas à *M.bovis* en France.**
- **3 cas de méningite tuberculeuse chez les enfants de ≤ 5 ans** (indicateurs pour juger de l'impact de la politique de vaccination par le BCG), **à travers le réseau CNR-MyRMA** : Il **semble y avoir une légère augmentation du nombre de cas ces dernières années** (0 à 2 cas/an avant 2011 mais 3 à 4 cas/an de 2012 à 2014).

8. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux de la tuberculose en 2015

- Les données du réseau Azay-Mycobactéries sur la résistance 1aire/2aire ont été envoyées à l'ECDC et à l'OMS.
- Les données de génotypage des souches MDR ont été envoyées à l'ECDC pour la surveillance des clusters « transfrontaliers » par le réseau ERLN-TB des CNR européens.

9. Surveillance de la lèpre en France

26 cas de lèpre ont été bactériologiquement confirmés en 2015 par le CNR-MyRMA sur le territoire français : 11 à Mayotte, 3 en Nouvelle Calédonie, 2 à Tahiti et 10 en métropole chez des migrants de régions où la lèpre est encore présente.

L'analyse rétrospective des 158 cas de lèpre diagnostiqués au CNR-MyRMA entre 2001 et 2015 (50 France métropolitaine, 108 DOM-TOM) permet d'établir **les taux de résistance 1aire (7,4 % parmi les 122 nouveaux cas) et 2aire (26,7% parmi les 30 rechutes) (p= 0,006).** Les 3 cas de résistance à la rifampicine étaient 2aires alors les 2 cas de résistance aux quinolones étaient 1aires.

10. Etude génotypique des souches de *M. tuberculosis* pour l'investigation de cas groupés

10.1. Tuberculose non MDR

- le génotypage a permis de **confirmer une relation entre les cas dans 16 des 24 situations non MDR** soumises à enquête (**total 39 cas**) qui comportaient chacune de **2 à 4 cas reliés** : **4 fois au sein de familles** (2, 2, 3 et 3 cas) ; **1 fois au sein d'une entreprise** (2 cas) ; 1 fois au sein d'une école (1 cas lié à des cas antérieurs), **7 fois dans un contexte amical ou de travail** (1 cas lié à 3 cas connus des années antérieures ; 1 cas lié à 1 cas connu des années antérieures ; 5 fois 2 cas) ; **3 fois en milieu de soins** (2, 2 et 4 cas).
- les clades (lignées, phylums) dominants en cause étaient : « nt » (n=7), Haarlem (n=2), LAM (n=2).

10.2. Tuberculose MDR

L'étude systématique de toutes les souches MDR reçues en 2015 a permis de montrer :

- la **proportion de souches MDR appartenant à la lignée Beijing a augmenté** de 19 à 35 % entre 2006 et 2015, en relation avec l'augmentation de la part des cas MDR chez des patients nés en ex-URSS.
- l'existence de **17 clusters génotypiques de souches (codes MIRU 24 loci identiques) pour un total de 48 des 98 souches MDR-XDR étudiées (49%)**. La technique **MIRU24 n'étant pas très discriminante au sein de la lignée Beijing**, le regroupement de souches en clusters doit être analysé avec prudence avant de conclure à un lien bactériologique, et encore plus à un lien épidémiologique. Chaque cluster a donc été analysé **en tenant compte de marqueurs supplémentaires : 4 loci MIRU « hypervariable complémentaires », les phénotypes et génotypes de résistance**.
- l'**analyse détaillée des 17 clusters** a permis de **confirmer un lien bactériologique et épidémiologique pour 9 d'entre eux** : 4 de lignée LAM (1 en foyer, 3 familles) ; 2 de lignée Haarlem (1 famille, 1 famille/travail) ; 1 de lignée X (famille/communauté) ; 2 de lignée nt (1 famille, 1 dans le cadre d'une épidémie communautaire de 11 cas sur 8 ans en Corse).
- le nombre de **cas de transmission de souches MDR en France est passé de 1 ou 2** pour la période 2006-2009 **à 4** en 2010-2012, **7** en 2013 et **9-11** en 2014-2015.

11. Alertes

Le CNR-MyRMA a été mis à contribution par les autorités sanitaires (ARS, InVS, DGS) pour :

- **9 des 27 clusters de tuberculose** pour lesquels des liens bactériologiques et épidémiologiques avaient été démontrés par génotypage et enquêtes de terrain (cf § 10.2 ci-dessus), ce qui a fait l'objet de **nombreux échanges téléphoniques et courriers**.
- **5 événements d'infections à mycobactéries non tuberculeuses en situation iatrogène** :
 - (a) **endocardites à mycobactéries non tuberculeuses** avec l'InVS, la DGS et l'ANSM : **6 cas identifiés en France pour la période 2011-15** (diverses espèces). Un message d'alerte sanitaire (MARS) a été adressé à tous les services de chirurgie cardiaque et laboratoires du territoire national.
 - (b) **alerte européenne lancée par l'ECDC en avril 2015 concernant les infections post-circulation extra-corporelle à *M. chimaera* : 2 cas confirmés en France pour la période 2010-15** à travers les enquêtes menées conjointement avec l'InVS.
 - (c) **2 cas d'infections à *M. chelonae* post tatouage**, contamination par l'eau du robinet.
 - (d) **1 cas d'infection à *M. abscessus* post cholangio-pancréatographie rétrograde**, mode de contamination inconnu.
 - (e) **1 cas d'infection à *M. fortuitum* sur cicatrice d'implantation d'enregistreur cardiaque Holter**, contamination probable post-opératoire par les douches effectuées au domicile.

12. Information et formation, organisation de contrôle de qualité externe pour les laboratoires

- le **site internet <http://cnrmyctb.free.fr>** a été régulièrement mis à jour pour : (a) fiche d'information pour demande d'expertise, (b) fiches des enquêtes annuelles, (c) résultats annuels de la surveillance résistance, (d) publications du CNR-MyRMA, (e) rapports d'activité du CNR-MyRMA, (f) diapositives des formations organisées par le CNR-

MyRMA.

- en 2015 accueil de **7 stagiaires** pour une durée totale de **22 mois**, soit une **moyenne de 1,8 stagiaires présents tout au long de l'année**.

- en 2015 (19 mai) nous avons co-organisé avec la DGS, l'InVS et l'Inpes la Journée nationale d'information sur la lutte antituberculeuse en France destinée, comme les précédentes, aux professionnels de santé impliqués dans la lutte contre la tuberculose.

- Nous avons organisé en 2015 un contrôle de qualité externe (CQE) des tests de sensibilité aux antituberculeux dans le cadre de l'enquête sur la résistance primaire et secondaire effectuée chaque année par les laboratoires universitaires du réseau Azay-mycobactéries (cf « Surveillance de la résistance primaire et secondaire »).

Les résultats étaient tous conformes pour 34/37 laboratoires, 2 laboratoires ayant fourni 91% et 73% de résultats conformes, respectivement.

13. Conseils thérapeutiques pour la prise en charge des infections à mycobactéries

- **112 patients MDR ou XDR** ont fait l'objet de conseils thérapeutiques et de prise en charge lors de **11 réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP, ou TB-consilium)** (total 160 revues de dossiers car chaque patient est discuté plusieurs fois tout au long du traitement, pour modifications et adaptations). Les participants aux RCP étaient (a) l'équipe du CNR-MyRMA, (b) des praticiens du Centre Médical de Bligny, (c) des pédiatres (hôpital Trousseau), (d) un pneumologue (Pitié-Salpêtrière), (e) un membre du SAMU social de Paris, (f) un infectiologue (Pitié-Salpêtrière) et un spécialiste des dosages d'antibiotiques (hôpital Saint-Joseph).

- l'activité de RCP, qui avait déjà augmenté de 50% de 2009 à 2011 (n=46 à 70 dossiers), puis doublée entre 2011 et 2012 (n=148), a encore augmenté (n= 160) en 2015.

- de nombreux avis (traitement de tuberculose MDR ou de mycobactérioses, problèmes diagnostiques...) ont été donnés hors RCP lors de 1.310 appels téléphoniques ou e-mails avec les membres du CNR, correspondant à 1 mois d'équivalent temps-plein.

- Au total, que ce soit au travers des réunions plénières des RCP ou de contacts téléphoniques directs, les **4/5 des cas de tuberculose MDR-XDR identifiés en 2015 ont fait l'objet de conseils thérapeutiques par la CNR-MyRMA**.

14. Conseils auprès des autorités sanitaires et scientifiques en 2015

Nationales

- **MSA** (Mutuelle de Santé Agricole) pour la tuberculose bovine.

- **ANSM et InVS** : surveillance des cas d'endocardites à mycobactéries non tuberculeuses et suivi de l'épidémie européenne à *M.chimaera*.

- **INSERM - AVIESAN** : participation au pilotage de « l'Action Tuberculose » de l'institut thématique multi-organisme « Immunologie, inflammation, infectiologie et microbiologie » (ITMO I3M) : élaboration des programmes des réunions scientifiques, organisation du symposium « Traitement de la tuberculose multi-résistante » (mars 2015, INSERM, Paris).

Internationales

- **ERLN-TB** : les 2 laboratoires participent au réseau des laboratoires nationaux de référence « Mycobactéries-Tuberculose » de la communauté européenne, pour l'élaboration du programme « tuberculose » de l'ECDC.

- **EUCAST** (European Union Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) et **EMA** (European Agency for Medicine) et **ESGMYC** (ESCMID study group for mycobacterial infections) : élaboration de la méthodologie d'étude des nouveaux antituberculeux.

- consortium des 4 sociétés internationales impliquées dans les infections à mycobactéries (**ATS, ERS, ESCMID, IDSA**) : élaboration des recommandations pour le traitement des infections respiratoires à mycobactéries non tuberculeuses.

- **OMS** « Réseau OMS de surveillance de la résistance aux antituberculeux » et au « Technical Advisory Group » : élaboration du programme de lutte mondiale contre la lèpre.

- **ESCMID** : pilotage du « European Study Group for Mycobacteria (ESGMYC) ».

16. Publications et communications en relation directe avec le travail mené au CNR

- 7 publications nationales
- 20 publications internationales
- 5 communications nationales
- 7 communications internationales
- 14 conférences nationales sur invitation
- 11 conférences internationales sur invitation

17. Santé animale et environnement

- Participation à une réunion avec les vétérinaires de Maisons Alfort et la Mutuelle de Santé agricole sur l'infection tuberculeuse animale
- Poursuite de l'étude du lien entre les mycobactéries de l'eau et les amibes
- Mise au point d'un protocole de recherche de *M. chimaera* dans l'eau de matériels tels que les heater/coolers pour CEC afin de pouvoir l'appliquer dans le cadre de l'alerte européenne d'infections post CEC.

1. Missions et organisation du CNR-MyRMA

Techniques disponibles

1.1. Missions et organisation

Pas de modification des missions depuis l'année précédente (cf. Annexe 1)

Pas de modification des équipes, locaux et équipements depuis l'année précédente (cf. Annexe 1)

1.2. Techniques introduites en 2015

La liste des techniques disponibles depuis les années précédentes sont listées en Annexe 1

1.2.1. Identification moléculaire de la résistance acquise chez *M.tuberculosis*

Identification moléculaire de la résistance à l'éthambutol par séquençage de l'opéron *embCAB* de *M.tuberculosis*

Le test commercial existant à ce jour pour le diagnostic génotypique de la résistance à l'éthambutol chez *M.tuberculosis* (Genotype® MTBDRsl), basé exclusivement sur l'analyse du codon 306 dans *embB*, a une sensibilité insuffisante (65% sur la base des données du CNR-MyRMA) pour détecter la résistance phénotypique à cet antibiotique. Si les mutations au niveau du codon 306 de la protéine EmbB (Arabinosyl transférase impliquée dans la synthèse de l'arabinogalactane de la membrane externe) restent de loin les mutations les plus fréquemment observées dans les souches cliniques de *M. tuberculosis* résistantes à l'éthambutol (ETB-R), d'autres mutations dans le locus *embCAB* et dans le gène *embR*, un activateur transcriptionnel putatif du locus *embCAB*, peuvent aussi être impliquées dans la résistance à l'éthambutol.

Nous avons montré dans une étude récente (*Brossier, Antimicrob Agents Chemother. 2015, 4800-8, (cf section 5 travaux de recherche)*) que la sensibilité du test génotypique pourrait être significativement augmentée (jusqu'à 80-90%) en incluant les positions G406 et Q497 de *embB*, ainsi que la zone intergénique *embC-embA*.

En 2015, nous avons testé en grandeur nature l'apport du **séquençage du gène *embB* et la zone intergénique *embC-embA*** des souches MDR de *M. tuberculosis* pour lesquelles le résultat du test Genotype®MTBDRsl indiquait une absence de mutation au niveau du codon 306. Sur l'ensemble des souches testées pour lesquelles la résistance à l'éthambutol a été confirmée par les tests phénotypiques (N=26), nous avons mis en évidence la présence de mutations dans *embB* et/ou dans la zone intergénique *embC-embA* pour 1/3 d'entre elles. **Cette nouvelle approche qui améliore très significativement la détection moléculaire de la résistance à l'éthambutol** lorsqu'elle est utilisée en complément du test commercial Genotype® MTBDRsl, **a été introduite en routine.**

Evaluation des performances de la bandelette MTBDRsl V2.0 dans le dépistage moléculaire de la résistance aux fluoroquinolones et aminosides et antibiotiques injectables chez *M.tuberculosis*

La détection de la résistance aux fluoroquinolones (FQ) et aux antituberculeux injectables de deuxième ligne (amikacine (AMK), kanamycine (KAN) et capréomycine (CAP)) est cruciale pour choisir le traitement de la tuberculose multirésistante (MDR).

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Une nouvelle version du test GenoType MTBDRsl, dite 2.0, a été développée en collaboration avec l'industriel allemand Hain Lifesciences pour améliorer le diagnostic génotypique de la résistance aux FQ (détection de mutations dans *gyrA* et *gyrB*) et aux antituberculeux injectables de deuxième ligne (détection des mutations dans *rrs* et le promoteur de *eis*). Une collection de 127 souches MDR a été testée par la première (V1) et deuxième (V2.0) version du test de MTBDRsl, ainsi que par séquençage pris comme référence.

La spécificité de la détection de la résistance était similaire pour V1 et V2.0, alors que la sensibilité de la V2.0 était supérieure pour la détection de la résistance aux FQ (94,8 vs 89,6%) et à KAN (90,5 vs 59,5%), mais similaire pour la détection de la résistance à AMK (91,3%) et CAP (83,0%). La sensibilité et la spécificité de la V2.0 étaient supérieures à celles de la V1 pour la détection des souches pré-XDR (83,3 vs 75,0% et 88,6 vs 67,1%, respectivement). La sensibilité de la V2.0 était supérieure à celle de V1 pour la détection de l'ultrarésistance (XDR) (83,0 vs 49,1%). Ce travail a été **publié** récemment dans Journal of Clinical Microbiology.

En conclusion, **le test MTBDRsl V2.0** est supérieur à MTBDRsl V1 pour la détection des mutations les plus fréquemment impliqués dans la résistance aux FQ et aux antituberculeux injectables de deuxième ligne et **est, depuis sa commercialisation, utilisé en routine au CNR-MyRMA.**

Cependant, en raison de mutations non encore caractérisées, en particulier celles impliquées dans la mono-résistance à AMK, à KAN ou à CAP, les résultats obtenus avec le test MTBDRsl V2 suggérant un génotype sauvage (pas de mutation détectée par le test) seront, par sécurité, confirmés par séquençage.

1.2.2. Nouvelle méthode de typage moléculaire complémentaire du MIRU-VNTR 24 loci pour les souches de *M. tuberculosis* de la lignée Beijing

Nous avons montré les années précédentes (cf rapport 2015 pour l'exercice 2014) (i) que les souches de la lignée Beijing étaient devenues prédominantes parmi les souches de TB-MDR (~1/2 des cas) et (ii) que de nombreuses souches sont regroupées en clusters de profil phylogénétiques non différenciables sur la base de leur profil MIRU-VNTR 24 loci, alors qu'elles n'avaient en fait pas de lien épidémiologique, ce qui suggérait que cette méthode de génotypage avait un pouvoir discriminant insuffisant.

En 2015, nous avons mis en place pour ce type de souches une approche complémentaire permettant **d'améliorer le pouvoir discriminant** du typage MIRU-VNTR 24 loci. Cette approche repose sur l'utilisation **d'un kit complémentaire** proposé par la société Genoscreen qui commercialise le kit MIRU-VNTR 24 loci. Ce kit (MIRU-VNTR Hypervariable kit®) permet un génotypage « de 2ème ligne » des souches Beijing par l'analyse de **4 loci MIRU hypervariables** en plus du MIRU standard 24 loci. La mise en place en 2015 de cette approche complémentaire pour les souches Beijing a permis **d'améliorer significativement l'identification des cas de transmission de tuberculose MDR liée aux souches Beijing** (cf section 3 « Surveillance »).

1.2.3. Identification des mycobactéries non tuberculeuses par séquençage de la région intergénique ITS

En 2015, nous avons mis en place le séquençage de la région intergénique ITS (Internally Transcribed Sequence) localisée entre les gènes codant pour les ARNr 16S et 23S **pour améliorer l'identification moléculaire de certaines espèces de mycobactéries non tuberculeuses**, en particulier *M. chimaera* qui est identifiée comme *M.intracellulare* par le test commercial GenoType®CM et qui reste difficilement différenciable de *M. intracellulare* par séquençage des gènes *hsp65* et *rpoB*. Cette approche est aujourd'hui systématiquement appliquée lorsque la bandelette GenoType®CM identifie *M.intracellulare*.

1.2.4. Mise en place en routine du séquençage du génome entier pour *M.tuberculosis*

L'augmentation du nombre de gènes à séquencer pour la détermination de l'antibiogramme moléculaire des souches MDR reçues au CNR-MyRMA, ainsi que l'analyse MIRU-VNTR réalisée dans le cadre de la phylogénie et de recherche des cas contacts, dont le pouvoir discriminant reste d'ailleurs insuffisant pour certaines lignées (en particulier Beijing, cf supra), justifient de développer de nouvelles stratégies.

Le séquençage du génome devrait permettre de mieux comprendre les dynamiques d'émergence d'une partie des cas de tuberculose MDR observés en France, ainsi que les caractéristiques moléculaires des souches qui y sont associées. De nombreuses solutions techniques robustes permettent aujourd'hui de réaliser le séquençage de

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

génomés complets et l'analyse des résultats, mais à des coûts et délais très variables selon les approches et les plateformes.

Suite à nos travaux de recherche (cf section 5), notre activité en 2015 s'est centrée sur l'**implantation progressive du séquençage et de l'analyse des génomes complets de souches MDR** de *M. tuberculosis* dans un contexte de routine.

Dans un **1er temps**, nous avons **évalué les moyens bio-informatiques disponibles pour l'analyse des données issues du séquençage génomique**. L'objectif était de définir les outils les plus adaptés pour (a) explorer, sur la base du nombre de génomes visé (au moins les ~100 souches de TB-MDR annuelles), les variations génomiques, (b) en déduire les SNP (single nucleotide polymorphism) impliqués dans la résistance acquise aux anti-tuberculeux, et (c) en déduire les relations phylogénétiques existant entre les souches analysées.

Nous avons pour cela évalué plusieurs outils bio-informatiques soit disponibles sur le web (par exemple PolyTB, <http://pathogenseq.lshtm.ac.uk/polytb>), soit proposées par des sociétés spécialisées en analyse bio-informatique (par exemple, NetGENe de Softgenetics, BioNumerics de AppliedMaths).

Nous avons **sélectionné l'outil BioNumerics** de AppliedMaths en raison des possibilités très larges offertes qui permettent de stocker et traiter non seulement les données génomiques mais toutes les autres données liées aux souches séquencées : caractéristiques médicales et épidémiologiques des patients...

Dans un **2ème temps**, le CNR-MyRMA ne disposant pas en propre de séquenceur Illumina Miseq, nous avons **évalué les aspects logistiques** (coûts, rythme d'envoi des génomes à séquencer, délais d'obtention des données brutes et de l'analyse des données et fluidité, pour les plateformes (a) disponibles sur le campus Pitié-Salpêtrière ou (b) proposées par des prestataires de service extérieurs. Nous avons aussi évalué l'apport potentiel du séquençage complet comme outil épidémiologique moléculaire en prenant en compte le taux d'erreurs liées à la méthode (en particulier les faux SNPs générés par les logiciels d'assemblage des génomes au niveau des régions répétées) et en corrélant les résultats génomiques aux données épidémiologiques. Nous avons enfin évalué les prérequis de la mise en place et de la gestion d'une base de données génomiques accessible à la communauté médicale et scientifique.

Dans un **3ème temps** nous avons **évalué la robustesse des données obtenues en 2014-15 par séquençage des génomes complets de 27 souches MDR Beijing** sur une plateforme MiSeq Illumina d'un prestataire extérieur (GATC Biotech, European Genome and Diagnostics Centre, Constance, Allemagne) dans le cadre de nos travaux de recherche (cf section 5). **Pour cela, nous avons effectué un nouveau séquençage**, sur la plateforme MiSeq Illumina **d'un autre prestataire** extérieur (GenoScreen, Lille). **Les deux jeux de séquences sont en cours de comparaison** pour dénombrer les différences qui, idéalement, devraient être minimales. Nous identifierons en particulier **les faux SNPs** générés par les logiciels d'assemblage au niveau des régions répétées des génomes.

Dans un **4ème temps** nous avons enclenché, à visée d'évaluation, un programme d'envoi régulier à la société GATC Biotech (<https://www.gatc-biotech.com/fr/gatc/lentreprise-gatc>) de suspensions d'ADN préparées de manière prospective à partir des souches MDR reçues au CNR.

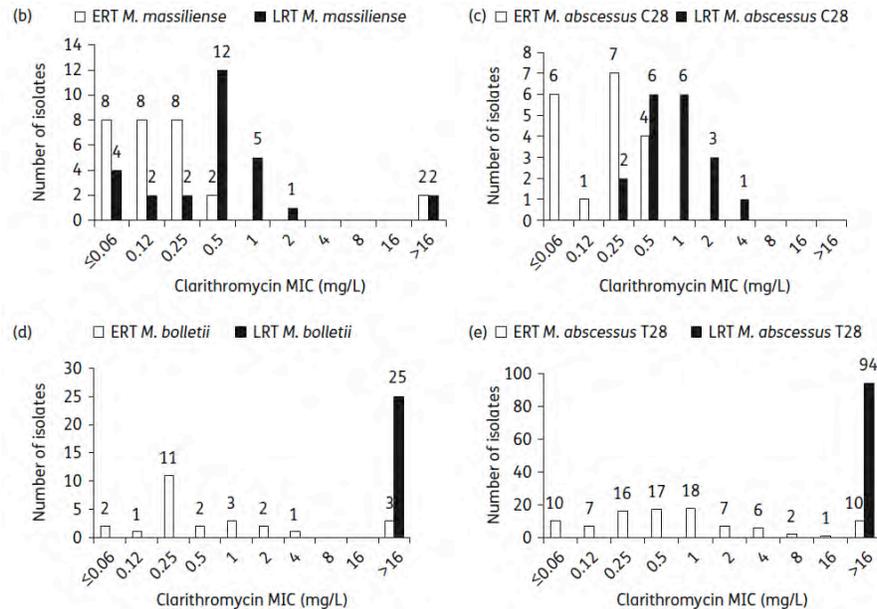
1.2.5. Standardisation des tests phénotypiques et génotypiques pour la détection de la sensibilité et résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Mycobacterium abscessus*

La clarithromycine et l'amikacine sont les antibiotiques recommandés dans le traitement des infections à *M.abscessus*, agent d'infections respiratoires, souvent prescrits en association avec la cefoxitine ou l'imipénème. Malgré ce traitement recommandé par l'ATS/IDSA en 2007, des échecs sont régulièrement observés dus, on le sait maintenant, au fait que *M.abscessus* porte naturellement un gène *erm(41)* codant une méthylase de l'ARN23S, produite de façon inductible en présence de macrolides (clarithromycine ou azithromycine).

Nous étudions depuis plusieurs années les mécanismes et l'expression de la résistance à la clarithromycine chez *M. abscessus* et nous avons montré que cette espèce **comprendait en fait quatre variants ou sequevars de *erm(41)***, chaque variant ayant un caractère propre de résistance ou de sensibilité à la clarithromycine : le sequevar *erm41 abscessus* C28 et le sequevar *massiliense* sont associés à une sensibilité à la clarithromycine et l'azithromycine, le sequevar *erm41 abscessus* T28 et le sequevar *bolletii* sont associés à une résistance inductible (Bastian, Antimicrob Agents Chemother. 2011).

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Nous avons en 2015 comparé pour 165 souches cliniques de *M. abscessus* reçues au CNR-MyRMA (a) les résultats des tests phénotypiques de sensibilité *in vitro* obtenus par la méthode actuellement recommandée de microdilution (CLSI 2011) en utilisant une trousse commerciale (RAPMYCO-Versatrek®) et (b) les résultats de l'étude des gènes connus pour conférer une résistance aux macrolides et aminosides : *erm(41)* pour la résistance naturelle, et *rrl* et *rrs* pour la résistance acquise. Les résultats obtenus avec la clarithromycine sont présentés graphiquement ci-dessous.



Représentation graphique des distributions des CMI de la clarithromycine en fonction des séquevars *erm(41)* : (b) *M. abscessus* subsp. *massiliense*, (c) *M. abscessus* subsp. *abscessus* *erm(41)* sequevar C28, (d) *M. abscessus* subsp. *bolletii*, (e) *M. abscessus* subsp. *abscessus* *erm(41)* sequevar T28.

Concernant la **clarithromycine**, nous avons montré que la valeur de la **CMI doit être mesurée à deux temps de lecture** : (a) lecture précoce dès la positivité du témoin de croissance sans antibiotique (en moyenne à 5 jours) et (b) lecture tardive à J14 pour la détection de résistance inducible. Suivant les résultats obtenus, **nous recommandons l'interprétation suivante** :

- une CMI >16 mg/L dès la lecture précoce est le plus souvent corrélé à une **résistance acquise** avec mutation en positions 2058 ou 2059 du gène *rrl*. Ceci peut être observé pour tous les sequevars *erm(41)*. Dans ces cas-là, les souches sont « **résistantes à haut niveau** » à la clarithromycine et l'azithromycine, qui ne doivent pas être prescrits car ils n'ont plus d'effet antibactérien suffisant.
- une CMI ≤ 16 mg/L à la lecture précoce mais > 16 mg/L à la lecture tardive montre une **résistance naturelle inducible** observée pour les sequevars *abscessus* *erm(41)* T28 et *bolletii*. Les macrolides peuvent éventuellement être prescrits sans certitude sur leur efficacité.
- une CMI ≤ 4 mg/L aux lectures précoce et tardive correspond à la **sensibilité naturelle** observée pour les sequevars *abscessus* *erm(41)* C28 et *massiliense*. Dans ces cas-là les souches sont dites « sensibles » et il est recommandé d'utiliser la clarithromycine ou l'azithromycine mais associée à un autre antibiotique pour éviter la sélection de mutants résistants, en priorité avec l'amikacine si possible (cf infra).

Concernant l'**amikacine**, nous n'avons pas observé de différences selon les sequevars ni selon les sous espèces (*M. abscessus* subsp. *abscessus*, *M. abscessus* subsp. *bolletii* et *M. abscessus* subsp. *massiliense*). Suivant les résultats obtenus, nous pouvons recommander l'interprétation suivante :

- une CMI > 64 mg/L est le plus souvent corrélé à une **résistance acquise** par mutation du gène *rrs* (a1408g) et la résistance est de **haut niveau**. Dans ce cas-là, l'amikacine, et les aminosides en général, n'ont plus d'effet antibactérien suffisant et ne doivent pas être prescrits comme antibiotique efficace.

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- une CMI \leq 64 mg/L est généralement le signe d'une absence de mutation du gène *rrs*, et la **sensibilité est normale** pour *M. abscessus*. Il est alors recommandé d'utiliser l'amikacine (meilleur aminoside dans cette indication) en association avec la clarithromycine ou azithromycine pour éviter la sélection de résistance acquise.

Pour les **autres antibiotiques, un seul profil a été observé**, typique de la population sauvage. Il ne nous paraît donc **pas nécessaire de mesurer systématiquement les CMI de ces antibiotiques**, sous réserve que l'identification de l'espèce ait été bien menée. Les valeurs des CMI de céfoxitine, tigécycline et linézolide sont compatibles avec un usage thérapeutique mais sans preuve d'efficacité clinique.

Ces informations ont été récemment publiées : F. Mougari, R. Amarsy, L. Raskine, C. Bernard, F. Brossier, E. Cambau. Standardized interpretation of antibiotic susceptibility testing and resistance genotyping for *Mycobacterium abscessus* with regard to subspecies and *erm41* sequevar, J Antimicrob Chemother 2016.

1.2.6. Développement d'une trousse de détection génotypique de la résistance aux macrolides et aux aminosides chez des mycobactéries non tuberculeuses

Suite à nos études sur les mécanismes de résistance aux macrolides et aux aminosides chez les mycobactéries non tuberculeuses (cf rapports des années antérieures), nous avons développé en 2015 un test moléculaire, en collaboration avec l'industriel Hain Lifesciences. La méthode utilise l'hybridation inverse sur bandelettes de produits d'amplification par PCR sous forme d'une trousse prête à l'emploi. L'objectif était de détecter des mutations (positions 2058-2059) du gène *rrl* conférant la résistance acquise aux macrolides, et du gène *rrs* (position 1408), conférant la résistance acquise aux aminosides, pour les espèces *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae* et *M. abscessus* complex. De plus, l'identification des différents sequevars de *M. abscessus* (cf supra), et donc du phénotype naturel de sensibilité aux macrolides (cf ci-dessus) est assurée par l'étude des polymorphismes du gène *erm(41)*.

Après avoir identifié les gènes d'intérêt dans notre équipe, une version « prototype » de la trousse a été élaborée par l'industriel, version dont nous avons mesuré les performances.

L'identification de l'espèce et des séquevars de *M. abscessus* était concordante avec les résultats fournis par les méthodes génétiques de référence (PCR séquences des gènes conservés *rpoB* ou *hsp65*, ou ITS) pour 99 souches (15 *M. avium*, 9 *M. intracellulare*, 7 *M. chimaera*, 25 *M. abscessus* subsp. *abscessus*, 12 *M. abscessus* subsp. *bolletii*, 11 *M. abscessus* subsp. *massiliense*, and 14 *M. chelonae*).

Pour le gène *rrl*, la présence de bandes mutées (MUT1 à MUT4), ou l'absence de bande WT (wild-type, non mutées) en cas de mutation non incluse dans la trousse, était bien corrélée à la présence de mutations impliquées dans la résistance acquise à la clarithromycine (mutations a2057c, a2058g, a2058g, or a2059c) pour les 15 souches résistantes étudiées.

Pour le gène *rrs*, la présence de la bande MUT1 trouvée chez 5 souches résistantes aux aminosides était bien corrélée avec une mutation a1408. Dans trois cas, le test a permis de détecter une mutation *rrl* initialement non trouvée par la méthode de référence de PCR-séquence, mais finalement confirmée par la suite par re-séquençage.

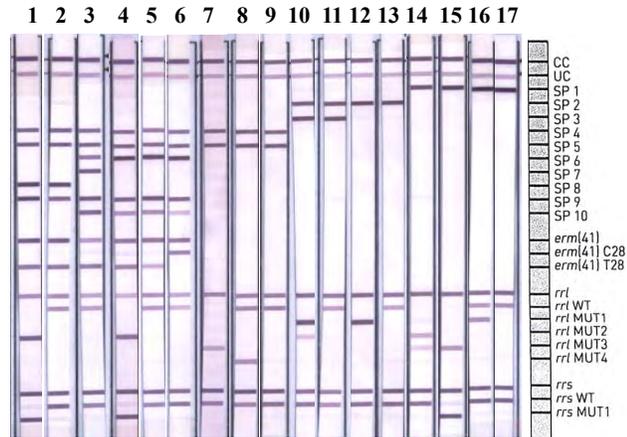
Au total, la concordance entre les résultats observés avec la trousse et le séquençage des gènes de résistance à la clarithromycine et aux aminosides était de 96.6%.

La trousse, commercialisée maintenant sous le nom GenoType NTM-DR® est donc adéquate pour détecter les mutations prédictives de la résistance à la clarithromycine et aux aminosides chez *M. avium* complex, *M. abscessus* complex et *M. chelonae*. Elle permet aussi d'identifier rapidement les sous espèces de *M. abscessus*.

Des exemples de profils génomiques sont présentés ci-dessous.

Ces résultats sont soumis pour publication à J Antimicrob Chemother : F. Mougari, J. Loiseau, N. Veziris, C. Bernard, B. Bercot, M. Eckart, W. Sougakoff, V. Jarlier, L. Raskine, E. Cambau; Clinical Evaluation of the New GenoType NTM-DR kit for Molecular Detection of Antibiotic Resistance in Nontuberculous Mycobacteria.

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)



Exemples de résultats GenoType NTM-DR (Hain Lifescience)

Profils 1 et 2, *M. abscessus* subsp. *massiliense* avec mutation *rrl* et *rrs* (profil 1) et WT (profil 2).

Profil 3, *M. abscessus* subsp. *bolletii* *rrl* WT et *rrs* WT.

Profil 4, *M. abscessus* subsp. *abscessus* *erm(41)* T28, mutations *rrl* et *rrs* (hétérogène pour *rrs* : présence d'une bande WT en plus).

Profil 5, *M. abscessus* subsp. *abscessus* *erm(41)* T28 *rrl* WT et *rrs* WT.

Profil 6, *M. abscessus* subsp. *abscessus* *erm(41)* C28 et *rrl* WT et *rrs* WT.

Profil 7, *M. chelonae* avec mutation *rrl* mutation et *rrs* WT.

Profil 8, *M. chelonae* hétérogène pour *rrl* (WT et mutation) et *rrs* WT.

Profil 9, *M. chelonae* *rrl* WT et *rrs* WT.

Profil 10, *M. chimaera* avec une double mutation *rrl* et *rrs* WT.

Profil 11, *M. chimaera* *rrl* WT et *rrs* WT.

Profil 12, *M. intracellulare* avec une mutation *rrl* et *rrs* WT.

Profil 13, *M. intracellulare* *rrl* WT et *rrs* WT.

Profil 14, *M. avium* avec une double mutation *rrl* et *rrs* WT.

Profil 15, *M. avium* avec une mutation *rrl* et une mutation *rrs* (profil hétérogène avec une faible bande WT).

Profil 16, *M. avium* hétérogène pour *rrl* (WT et mutation) et *rrs* WT.

Profil 17, *M. avium* *rrl* WT et *rrs* WT.

2. Activités d'expertise menées en 2015

2.1. Champs des activités d'expertise sur les souches et prélèvements reçus au CNR-MyRMA en 2015

En 2015, le CNR-MyRMA a reçu **1150 souches et prélèvements** pour identification et/ou étude génotypique et phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques et/ou génotypage à visée épidémiologique pour *M.tuberculosis* et mycobactéries non tuberculeuses, et biopsies pour diagnostic de lèpre et tests moléculaires de sensibilité aux antiléproux (Tableau 1). Les souches et prélèvements proviennent de tous les types de laboratoire de France métropolitaines et DOM-TOM (laboratoires hospitaliers, LABM...).

Les prélèvements reçus ne sont pas destinés à des recherche diagnostiques initiales (le CNR-MyRMA n'a pas d'activité de sous-traitance de mycobactériologie de routine) mais sont utilisés pour **mettre en œuvre rapidement, avant que les cultures soient disponibles**, des tests génotypiques et phénotypiques (identification de l'espèce, recherche de mutations de résistance, antibiogramme direct...) à partir des bacilles contenus dans les prélèvements positifs à l'examen microscopique.

Pour les résultats des expertises, nous ne différencierons pas souches et prélèvements, ces derniers n'étant considérés que comme des échantillons « primaires » de souches, disponibles avant culture (sauf pour la lèpre car il n'y a pas de culture pour cette maladie).

En 2015, le CNR-MyRMA a effectué au total 4514 analyses génotypiques (gènes étudiés pour identification ou recherche de mutations de résistance) et phénotypiques (antibiogrammes) sur les 1150 souches et prélèvements reçus.

Tendances évolutives 2010-2015

Le nombre total de souches et prélèvements reçus au CNR-MyRMA chaque année depuis 2010 est resté globalement stable autour de 1200-1400.

En revanche, il faut noter entre 2010 et 2015 une augmentation importante des activités d'expertise menées sur chaque souche et prélèvement reçu, liée d'une part à l'évolution des techniques et des connaissances et d'autre part à la complexification des besoins thérapeutiques :

- **doublement** du nombre de souches soumises à étude génotypique de résistance (**+41% pour *M.tuberculosis* ; triplement pour les mycobactéries non tuberculeuses**),
- **+80%** du nombre total de **gènes analysés pour mutations**,
- **+50%** du nombre de souches de *M.tuberculosis* soumises à un **antibiogramme de 1^{ère} ligne**,
- **+50%** du nombre de souches de *M.tuberculosis* soumises à un **antibiogramme de 2^{ème} ligne**, qui demande beaucoup de travail par l'utilisation de nombreux milieux de culture spécifiques non commercialisés, qui doivent donc être préparés localement puis soumis à des contrôles de qualité,
- **triplément** du nombre de biopsies soumises à la détection de *M.leprae* et du nombre de souches identifiées et analysées génotypiquement.

2.2. Identification des souches

801 souches de mycobactéries reçues en 2015 ont été soumises à identification : 417 souches étaient du complexe *M. tuberculosis* et 384 étaient des mycobactéries non tuberculeuses.

2.2.1. Souches de *M. tuberculosis* complex

Parmi les 417 souches de *M.tuberculosis* complex, 191 (46%) ont été identifiées jusqu'au niveau de l'espèce au sein du complexe, soit lorsque leurs caractères phénotypiques s'écartaient des caractères habituels de l'espèce

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

M.tuberculosis (ex. souches donnant des colonies lisses ou dysgoniques...), soit en tirant profit des tests de génotypage qui, pratiqué depuis quelques années par la méthode des MIRU-24 loci, permet aussi de préciser l'espèce (cf. plus loin).

Parmi ces 191 souches on note :

- **169 *M. tuberculosis* (88%)**, espèce principale responsable de tuberculose humaine,
- **6 *M.bovis* (3%)**. Depuis 2010, ce nombre est compris entre 6 et 13, suggérant qu'il n'y a pas d'augmentation évidente de tuberculose à bacille bovin en France.
- **2 *M. bovis var BCG*** (nombre en diminution, probablement en rapport avec la diminution progressive des vaccinations BCG en France),
- **14 *M.africanum* (7%)**. Depuis 2010, ce nombre est compris entre 6 et 15.

Tableau 1 : Activités d'expertise du CNR- MyRMA de 2010 à 2015

	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Souches soumises à identification^a	794	988	897	900	871	801
<i>M. tuberculosis</i>	366	385	430	492	501	417
Mycob. atypiques	428	603	467	408	370	384
Souches soumises à tests phénotypiques de sensibilité	468	551	542	464	548	508
<i>M. tuberculosis</i> ^b	160 (126)	170 (139)	217 (164)	211 (181)	236 (212)	240 (188)
Mycob. atypiques	308	381	325	253	312	268
Souches soumises à tests génotypiques de sensibilité	223	278	358	325	434	435
<i>M. tuberculosis</i>	201	232	284	267	281	285
Mycob. atypiques	22	46	74	78	153	150
Souches soumises à génotypage épidémiologique^c	153	119	276*	203	227	194
<i>M. tuberculosis</i>	153	119	267*	198	225	174
Mycob. atypiques	-	-	9	5	2	20
Biopsies lèpre^d	25 (7)	51 (22)	53 (24)	45 (25)	87 (31)	70 (30)

a : une petite partie des souches reçues (<5%) sont déjà connues ou sont contaminées ou ne sont en fait pas des mycobactéries et n'apparaissent pas dans les autres rubriques du tableau

b : dont (N) souches pour lesquelles il y a eu un **antibiogramme de 1^{re} ligne et un antibiogramme de 2^e ligne**

c : empreintes digitales génomiques (épidémiologie)

d : dont (N) biopsies positives à *M.leprae* et soumises à des tests génotypiques de résistance.

*Rattrapage de l'année 2010. Moyenne sur les 2 années =197

Tableau 2 : Identification des souches de *M.tuberculosis* complexe reçues au CNR-MyRMA de 2010 à 2015

Espèces	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Identification au sein du complexe * :	157	242	201	277	189	191
<i>M. tuberculosis</i>	140	212	164	240	153	169
<i>M. bovis</i>	6	12	13	11	11	6
<i>M. africanum</i>	6	7	8	15	8	14
<i>M. bovis var BCG</i>	5	9	13	11	16	2
<i>M. caprae</i>						
<i>M. canettii</i>		1	3			
<i>M. microti</i>		1			1	
<i>M. tuberculosis</i> complexe sans identification au sein du complexe	209	143	229	215	312	226
Total <i>M. tuberculosis</i> complexe	366	385	430	492	501	417

* L'identification au sein du complexe *M.tuberculosis* est menée par des méthodes génotypiques lorsque le laboratoire envoyeur le demande, ou lorsque les aspects culturels (milieu solide) évoquent une espèce autre que *M. tuberculosis* (*M.bovis*, *M.bovis* BCG, *M.africanum*...).

2.2.2. Souches de mycobactéries non tuberculeuses

La répartition des principales espèces parmi les 384 souches de mycobactéries non tuberculeuses reçues en 2015 était la suivante (Tableau 3) :

- **145 souches (38% du total) du complexe *M.avium* (MAC)** dont 63 *M.avium*, 53 *M.intracellulare* et 29 *M.chimaera*. Parmi ces souches, 126 (87%) ont été considérées comme responsables d'infections.
- **40 souches de *M. xenopi*** (10% du total) parmi lesquelles 27 (67%) ont été considérées comme responsables d'infections.
- **73 souches de *M. abscessus*** (19% du total) : 43 *M. abscessus* (appelé aussi *M. abscessus sensu stricto*), 13 *M.abscessus subsp. bolletii*, 17 *M.abscessus subsp massiliense* :
 - 63 étaient issues de prélèvements respiratoires (30 issues de patients atteints de mucoviscidose) dont 40 responsables d'infections.
 - 5 de prélèvements cutanéomuqueux (2), articulaire (1), bile (1), urines (1), considérés comme des infections sauf le dernier.
 - 5 reçus dans le cadre d'un CQE inter-laboratoire.
- **26 souches de *M. chelonae***, dont 12 responsables d'infections extra-respiratoires (9 cutanéomuqueuse et 3 septicémies) et 2 d'infections pulmonaires.
- **15 souches de *M. fortuitum*** dont 3 responsables d'infections cutanéomuqueuses, 1 d'arthrite, 1 d'abcès hépatique, 9 d'infections pulmonaires, 1 isolée d'un orque vivant en captivité.
- **13 souches de *M. kansasii*** (3% du total), agent classique d'infections pulmonaires mimant la tuberculose, toutes responsables d'infections.
- **7 souches de *M. simiae*** dont 5 responsables d'infection.
- **5 souches de *M. marinum***, agent classique d'infections cutanées après inoculation à partir d'aquariums ou d'animaux aquatiques. **Il n'y a pas eu en 2015 de cas groupés faisant craindre une exposition commune.**
- **5 souches de *M.gordona***, espèce saprophyte de l'eau, non pathogène, contaminant classique des cultures.

Une partie des souches de mycobactéries non tuberculeuses reçues en 2015 (n= 54 soit 14% du total) appartenaient à des espèces rares ou récemment décrites :

- 3 souches du **complexe *terrae*** (espèce à croissance lente) : 2 *M. heraklionense* espèce décrite en 2013, 1 *M. senuense* (espèce décrite en 2008), responsable d'infection dans deux cas (1 synovite et 1 infection respiratoire) et comme un contaminant dans le dernier cas.
- 4 souches de *M. lentiflavum* (espèce à croissance lente proche de *M. simiae* et *M. genavense*, décrite en 1996), dont 1 contamination et 3 infections (2 respiratoires et 1 adénite cervicale chez un enfant de 3 ans).
- 2 souches de *M. malmoense* (espèce à croissance lente) responsables d'infection respiratoire.
- 2 souches de *M. celatum* (espèce à croissance lente proche du complexe aviaire, décrite en 1993) issues d'un même patient et responsable d'infection respiratoire.
- 6 souches de *M. szulgai* (espèce à croissance lente), issues de 4 patients différents, toutes responsables d'infections respiratoires.
- 3 souches de *M.heckeshornense* (espèce à croissance lente proche de *M.xenopi*, décrite en 2000) considérées comme responsable d'infection (respiratoire dans 2 cas et spondylodiscite chez un immunodéprimé dans 1 cas sans notion d'inoculation préalable).
- 2 souches de *M. paraense* (espèce à croissance lente proche de *M.simiae*, décrite en 2015) issues d'un même patient, considérées comme responsable d'infection respiratoire.
- 5 souches de *M.genavense* (espèce à croissance lente), issues de 4 patients immunodéprimés et responsables d'infections profondes (moëlle, adénopathies).
- 1 souche de *M. riyadhense* (espèce à croissance lente proche de *M. szulgai*, décrite en 2009) considérée comme un contaminant respiratoire.
- 1 souche de *M. colombiense* (espèce à croissance lente du complexe *M. avium*, décrite en 2006) responsable d'infection digestive chez un immunodéprimé.
- 2 souches de *M. yongonense* (espèce à croissance lente proche de *M. intracellulare*, décrite en 2013) responsables d'infection respiratoire.

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- 1 souche de *M. bohemicum* (espèce à croissance lente décrite en 1998) considérée comme un contaminant.
- 3 souches de *M. timonense* (espèce à croissance lente du complexe *M. avium*, décrite en 2009) considérées comme responsables d'infection respiratoire.
- 1 souche de *M. scrofulaceum* (espèce à croissance lente) responsable d'infection respiratoire d'une adulte
- 2 souches de *M. iranicum* (espèce à croissance rapide, proche de *M. gilvum*, décrite en 2013) : 1 isolée d'urine et considérée comme un contaminant, 1 responsable d'une spondylodiscite post infiltration
- 3 souches de *M. peregrinum* (espèce à croissance rapide décrite en 1962) dont 1 considérée comme responsable d'infection respiratoire, 1 isolée d'une ulcération cutanée (secondaire à un traumatisme localisé) et 1 considérée comme un contaminant.
- 7 souches de *M. mucogenicum* (espèce à croissance rapide proche de *M. chelonae*, décrite en 1995) dont 1 responsable d'infection sur PAC et 1 d'infection du tractus urinaire chez des patients immunodéprimés. Les 5 autres étaient considérées comme des contaminants (prélèvements respiratoires).
- 1 souche de *M. flavescens* (espèce à croissance rapide proche de *M. smegmatis*), responsable d'infection respiratoire chez un patient immunodéprimé.
- 2 souches de *M. conceptionense* (espèce à croissance rapide proche de *M. fortuitum*) isolées de liquide articulaire d'un même patient et responsable d'arthrite.
- 1 souche de *M. houstonense* (espèce à croissance rapide proche de *M. fortuitum*) responsable d'un abcès sous-mandibulaire post traumatique.
- 1 souche de *M. wolinskyi* (espèce à croissance rapide proche de *M. neorum*) isolée d'une hémoculture et responsable d'endocardite après un remplacement de valve aortique.
- 1 souche de *M. aubagnense* (espèce à croissance rapide proche de *M. mucogenicum*) isolée d'un prélèvement respiratoire, sans preuve d'infection.
- 1 souche de *M. porcinum* (espèce à croissance rapide proche de *M. fortuitum*), isolée d'un prélèvement respiratoire considéré comme contaminant ou colonisation transitoire.

Au total, 291 des 384 souches de mycobactéries non tuberculeuses reçues en 2015, soit 76%, étaient responsables d'infections, dont :

- **210 d'espèces à croissance lente** (essentiellement *M. avium* complex, *M. xenopi*, *M. kansasii*), le plus souvent responsables d'infections respiratoires,
- **81 d'espèces à croissance rapide**, le plus souvent responsables d'infections respiratoires (par exemple dans le cadre de la mucoviscidose pour *M. abscessus*) et d'infections cutanées et des tissus mous (*M. chelonae*, *M. fortuitum* et *M. abscessus*) mais aussi de quelques infections profondes ou disséminées chez des patients immunodéprimés.

Ce pourcentage élevé est en cohérence avec la volonté du CNR-MyRMA de concentrer ses activités sur les souches importantes sur le plan médical.

Tendances évolutives 2006-2015

La distribution entre les principales espèces de mycobactéries non tuberculeuses d'intérêt médical (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*) est restée stable entre 2010 et 2015 (Tableau 3). L'augmentation du nombre de souches de *M. chimaera* est liée à l'intérêt récent porté à cette espèce qui n'était pas auparavant différenciée de *M. intracellulare*.

Tableau 3 : Principales espèces (importance numérique ou médicale) des souches de mycobactéries non tuberculeuses reçues au CNR-MyRMA de 2010 à 2015.

Espèce	2010	2011	2012	2013	2014	2015
<i>M. avium</i>	96 (22%)	116 (19%)	100 (21%)	99 (24%)	93 (25%)	63 (16%)
<i>M. intracellulare</i>	82 (19%)	103 (17%)	105 (22%)	66 (16%)	71 (19%)	53 (14%)
<i>M. chimaera</i>				17 (4%)	5 (1%)	29 (8%)
<i>M. xenopi</i>	52 (12%)	54 (9%)	49 (10%)	48 (12%)	40 (11%)	40 (10%)
<i>M. chelonae</i>	31 (7%)	44 (7%)	40 (9%)	11 (3%)	17 (4%)	26 (7%)

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

<i>M. kansasii</i>	24 (6%)	26 (4%)	17 (3%)	18 (4%)	9 (2%)	13 (3%)
<i>M. abscessus</i> *	35 (8%)	54 (9%)	44 (9%)	40 (10%)	61 (16%)	43 (11%)
<i>M. bolletii</i>	10 (2%)	10 (2%)	7 (1%)	7 (2%)	10 (3%)	13 (3%)
<i>M. massiliense</i>	9 (2%)	18 (3%)	12 (3%)	9 (2%)	2 (1%)	17 (4%)
<i>M. fortuitum</i>	11 (3%)	25 (4%)	21 (4%)	14 (3%)	12 (3%)	15 (4%)
<i>M. simiae</i>	7	11	7	6	5	7
<i>M. gordonae</i>	20	23	16	15	9	5
<i>M. peregrinum</i>	6	12	9	3	2	3
<i>M. interjectum</i>	0	2		1	1	
<i>M. mucogenicum</i>	8	11	2	2	5	7
<i>M. scrofulaceum</i>	4	2		2	1	1
<i>M. szulgai</i>	3	8	6	4	6	6
<i>M. marinum</i>	2	3	4	8	4	5
<i>M. arupense</i>	2	5	2	2	1	
<i>M. genavense</i>	3	2	2	1	0	5
<i>M. haemophilum</i>	0	0		1	0	
<i>M. malmoense</i>	2	6	1	7	2	2
<i>M. ulcerans</i>	1	0			0	
Autres espèces	20 (5%)	56 (9%)	23 (5%)	27 (7%)	14	31
Total	428	601	467	408	370	384
Infections** : N	308	381	325	341	334	291
%	72%	62%	70%	84%	89%	76%

**M. abscessus* sensu stricto

** sur la base de critères historiques, cliniques et bactériologiques (ex. recommandations de l'American Thoracic Society...).

Dans le cadre du suivi des infections à mycobactéries depuis l'arrêt en 2007 de l'obligation vaccinale par le BCG, 4 souches de mycobactéries non tuberculeuses reçues en 2015 (2 *M. avium*, 1 *M. intracellulare*, 1 *M. lentiflavum*) ont été isolées d'adénites chez des enfants de moins de 5 ans. Le nombre de ces cas, qui avait nettement augmenté de 2006 à 2011, a baissé depuis (Tableau 4).

Tableau 4 : Evolution de 2006 à 2015 du nombre de souches de mycobactéries non tuberculeuses issues d'adénites cervicales chez des enfants âgés de moins de 5 ans

Année	N de cas
2006	3
2007	5
2008	7
2009	9
2010	11
2011	19
2012	12
2013	12
2014	3*
2015	4

* à noter aussi 2 cas chez des grands enfants (6 et 7 ans)

2.3. Tests phénotypiques de sensibilité aux antibiotiques

2.3.1 Tests phénotypiques de sensibilité des souches de *M.tuberculosis* complex

Les tests de sensibilité sur les **240 souches de *M.tuberculosis* complex** reçues pour cela en 2015 ont été :

- un **antibiogramme « standard »** (antituberculeux de 1^{ère} ligne) pour **32 souches**, pour vérification des résultats trouvés dans les laboratoires d'origine.
- un **antibiogramme « complet »** (antituberculeux de 1^{ère} ligne **et** de 2^{ème} ligne) pour **188 souches, dont 98 envoyées pour multirésistance et 90 envoyées pour résistance à au moins l'isoniazide ou la rifampicine ou pour suspicion de multirésistance** (ex. résistance à l'isoniazide et crainte de résistance associée à la rifampicine) ou parce que les patients présentaient des **intolérances médicamenteuses**).
- un **antibiogramme de seconde ligne seulement** en tant que complément d'évaluation d'une souche déjà étudiée en 2014.
- un **antibiogramme partiel pour un seul antibiotique pour 19 souches** (17 pour le pyrazinamide pour vérification du résultat du laboratoire d'origine, 2 fois pour l'ofloxacine pour dépistage de la sensibilité aux quinolones d'une souche sensible aux antituberculeux de 1^{ère} ligne)

Résistance aux antituberculeux de 1^{ère} ligne des 220 souches reçues en 2015 (Tableau 5)

- **34%** (n=75) étaient **multisensibles**, c.a.d. sensibles à isoniazide, rifampicine, éthambutol et streptomycine)
- **66%** (n=145) étaient **résistantes** à au moins un des 4 antibiotiques ci-dessus, dont **42%** (n=92) étaient **phénotypiquement multirésistantes** (MDR) c.a.d. résistantes à l'isoniazide **et** à la rifampicine. Le nombre de souches étiquetées MDR à la suite de nos tests phénotypiques était un peu inférieur au total des souches considérées comme MDR par le laboratoire envoyeur (n=98) car 6 souches apparaissaient encore sensibles à la rifampicine *in vitro* malgré la présence de certaines mutations dans le gène *rpoB* connues pour entraîner une résistance phénotypique de bas niveau. Ces 6 souches ont néanmoins été considérées comme MDR dans nos rapports statistiques « TB-MDR ».

Entre 2010 et 2015, la proportion de souches multisensibles est restée très basse (~1/3) ce qui reflète la volonté du CNR-MyRMA de se concentrer sur l'étude des souches résistantes et d'éviter de travailler sur des souches sensibles qui peuvent plus facilement être prises en charge par les laboratoires de mycobactériologie de routine, en dehors de situations particulières, par exemple suspicion de résistance finalement non confirmée, intolérance aux antituberculeux de première ligne, souche dysgonique rendant les tests de sensibilité délicats...

Ce n'est donc pas à partir des souches reçues au CNR-MyRMA pour tests de sensibilité que l'on peut établir des statistiques représentatives de la sensibilité aux antituberculeux de 1^{ère} ligne en France, mais à partir du travail en réseau spécifiquement organisé pour cela (réseau AZAY-mycobactéries, cf. section « Surveillance»).

Tableau 5 : Phénotypes de résistance aux antituberculeux de première ligne des souches de *M.tuberculosis* complex reçues au CNR-MyRMA de 2010 à 2015.

		2010	2011	2012	2013	2014	2015
Sensible*		59 (37%)	51 (30%)	62 (29%)	67 (32%)	59 (25%)	75 (34%)
	H	13	21	20	19	30	25
	S	7	6	7	4	4	2
Résistant	R	4	5	9	9	11	2
à au moins	E	0	0	1	0	0	1
1 antibiotique	H+S	23	22	14	28	22	20
mais non	H+E	1	0	0	1	3	0
multirésistant	H+S+E	7	1	1		2	1
	R+S			1		0	0
	R+E			1		0	0

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

	R+S+E	-	-	1	0	2
Sous-total	56	55	54	61	72	53
	(35%)	(33%)	(25%)	(29%)	(31%)	(24%)
Multirésistant	H+R	5	7	22	13	15
	H+R+S	12	16	21	16	12
	H+R+E	2	6	7	8	5
	H+R+S+E	26	35	51	46	73
Sous-total	45	64	101	83	105	92**
	(28%)	(37%)	(47%)	(39%)	(44%)	(42%)
TOTAL GENERAL	160	170	217	211	236	220

*sensible à isoniazide (H), rifampicine (R), éthambutol (E) et streptomycine

** ce nombre de souches (92) est inférieur au total des souches MDR reçues dans l'année (98) car 6 souches considérées comme MDR par le laboratoire demandeur apparaissaient encore sensibles *in vitro* à la rifampicine malgré la présence de mutations dans le gène *rpoB* (L533P) qui entraînent souvent une résistance phénotypique de bas niveau. Ces 6 souches, très anormales, ont été considérées comme MDR dans nos rapports statistiques « TB-MDR ».

Résistance aux antituberculeux de 2ème ligne des 188 souches reçues en 2015

- Résultats pour les 98 souches reçues comme multirésistantes (MDR) :

Les proportions de souches MDR résistantes aux antituberculeux autres que l'isoniazide et la rifampicine étaient les suivantes (**Tableau 6**) : streptomycine 69%, éthambutol 65%, pyrazinamide 43%, éthionamide 71%, cyclosérine 10%, PAS 5% et, pour les antituberculeux qui entrent dans la définition de l'ultrarésistance (XDR), **au moins un aminoside de réserve (kanamycine, amikacine ou capréomycine) 26%, fluoroquinolones 20%**.

Ces chiffres ont peu évolué depuis 2010, à part l'**augmentation passagère en 2013-14 des % de résistances aux aminoside de réserve et fluoroquinolones. Cependant, il faut noter l'apparition des 1ères souches MDR résistantes au linezolid et à la bédaquiline, fait très préoccupant.**

La proportion, au sein des souches MDR, de celles résistantes **aussi** aux fluoroquinolones **et** à au moins un aminoside de réserve (XDR) était de **10%** soit **10 cas de tuberculose XDR identifiées en 2015 (cf. ci-après, Tableau 10)**.

Tableau 6 : Résistance (%) aux antibiotiques de 1re et 2e ligne des souches de *M.tuberculosis* complex reçues comme multirésistantes (MDR) au CNR-MyRMA de 2010 à 2015

	Années (n souches testées)	2010 (45)	2011 (64)	2012 (92)	2013 (83)	2014 (111)	2015 (98)
a	Ethambutol	66	70	58	66	70	65
	Pyrazinamide				40	50	43
	Streptomycine	75	80	70	73	81	69
b	Amikacine	13	9	13	20	12	14*
	Kanamycine	20	23	27	41	31	26*
	Capréomycine	12	11	14	23	18	13*
c	Fluoroquinolones	23	22	28	30	39	20 ^s
d	Ethionamide	75	82	62	73	64	71
e	PAS	9	17	17	24	14	5
	Cyclosérine	9	18	28	24	19	10
	Bédaquiline					3	2
	Linezolid	0	0	1	0	1	1

a : antibiotiques de première ligne autres que isoniazide et rifampicine

b : aminosides autres que streptomycine (entrent dans la définition de XDR) ; c : entre dans la définition de XDR

d : ou prothionamide ; e : antibiotiques de « dernière ligne »

* détail des phénotypes : 71 souches sensibles aux 3 aminosides ; 12 résistantes aux 3 ; 11 monorésistantes à kanamycine ; 1 monorésistante capréomycine ; 2 résistantes à kanamycine et amikacine

^s parmi ces souches résistantes à 2 mg/l d'ofloxacine (définition OMS de la résistance aux fluoroquinolones), 2 (10%) restaient sensibles à 2 mg/l

de moxifloxacine.

- Résultats pour les 90 souches reçues dans un contexte autre que la multirésistance

Les proportions de souches résistantes aux antituberculeux autres que l'isoniazide et la rifampicine étaient beaucoup plus basses parmi les souches reçues dans un contexte autre que la multirésistance (ex. suspicion initiale de multirésistance, effets secondaires nécessitant l'arrêt de la rifampicine, monorésistance à la rifampicine...) (**tableau 7**) que parmi les souches reçues pour multirésistance, ce qui est bien sûr logique : **0-1% à l'amikacine ou aux fluoroquinolones, 2% à l'éthambutol.**

L'observation d'une faible proportion de résistance aux fluoroquinolones parmi les souches non MDR (5/512, soit 1%, pour la période cumulée 2010-2015) est un résultat rassurant car l'utilisation large de cette famille d'antibiotiques dans la communauté (infections urinaires, respiratoires etc...) fait craindre une émergence plus marquée de la résistance parmi les souches de *M.tuberculosis* complex sensibles aux antituberculeux de 1ère ligne et, à terme, l'impossibilité d'utiliser cette classe pour les traitements antituberculeux de 2ème ligne.

Tableau 7 : Résistance (%) aux antibiotiques de 1re et 2e ligne des souches de *M.tuberculosis* complex reçues au CNR-MyRMA de 2010 à 2015 pour antibiogramme de 2° ligne, dans un contexte autre que la multirésistance (suspicion initiale de multirésistance, intolérances aux antituberculeux de 1ère ligne...

Années (n souches)	2010 (81)	2011 (75)	2012 (67)	2013 (98)	2014 (101)	2015 (90)
Ethambutol	13	13	3	5	4	2
Streptomycine	43	43	28	36	22	24
Amikacine	3	3	0	1	0	1
Fluoroquinolones	0	0	1	2	2	0
Ethionamide	59	59	66	40	62	-*
PAS	11	11	3	8	8	6

n.b. l'éthionamide peu ou pas utilisé hors multirésistance, n'est plus testé systématiquement sur les souches non MDR

Le **Tableau 8** montre la **stabilité** du nombre de **souches MDR** reçues de **2001 à 2010** (moyenne 48 cas/an), puis **l'augmentation** en 2011 (69 cas), puis en 2012 (92 cas), et enfin **une stabilisation depuis 2013 autour d'une centaine de cas annuels.**

Le **nombre de souches XDR** qui était de 1 ou 2 par an de 2006 à 2008 (idem depuis 2002) **a augmenté** à 4 en 2009, 6 en 2010 et 2011 17 en 2012, 22 en 2013, 26 en 2014 puis **a diminué à 10 en 2015.**

Fait important en matière de surveillance, la proportion des souches MDR identifiées par l'enquête systématique auprès des laboratoires du réseau CNR-MyRMA (cf. section 3) et qui ont effectivement été reçues au CNR-MyRMA pour études *in vitro* a augmenté entre les périodes 2001-02 (~ 60 %) et 2010-15 (98-100 %). **Le CNR-MyRMA reçoit donc maintenant la quasi-totalité des souches MDR de France, en cohérence avec les recommandations du HCSP.**

Tableau 8 : Evolution de 2001 à 2015 du nombre de souches MDR et XDR reçues au CNR-MyRMA, comparativement au nombre de cas MDR recensés par le réseau du CNR-MyRMA (cf surveillance). Exhaustivité de l'envoi des souches MDR au CNR-MyRMA

	Souches MDR reçues au CNR-MyRMA	Cas MDR recensés par le réseau CNR-MyRMA	Exhaustivité envoi souches (%)	Souches XDR reçues CNR-MyRMA	% XDR parmi MDR reçues au CNR- MyRMA
2001	29	48	60	0	0
2002	47	79	59	1	2
2003	60	77	78	2	3
2004	51	68	75	1	2

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

2005	60	65	92	1	2
2006	53	60	88	2	4
2007	38	44	86	2	5
2008	51	57	89	2	4
2009	48	48	100	4	8
2010	45	47	96	6	13
2011	69	75	92	6	8
2012	92	94	98	17	18
2013	83	82	100	22	27
2014	111	110	100	26	23
2015	98	nd*	nd	10	10

* ce nombre sera disponible en 2016 via l'enquête annuelle du réseau CNR-MyRMA (cf chapitre surveillance)

Evolution 2006-2015 de la distribution par pays de naissance des patients porteurs des souches MDR reçues au CNR-MyRMA

Le **Tableau 9** montre la **distribution des pays de naissance des cas de tuberculose MDR correspondants aux souches reçues de 2006 à 2015**. On voit que les nombres de souches MDR de patients nés dans les pays d'Afrique hors Maghreb, dans les pays d'Asie et dans les pays d'Amérique sont restés stables.

En revanche il faut noter :

- (a) la **très forte augmentation du nombre de souches MDR de patients nés dans les pays d'ex-URSS et d'Europe de l'Est** entre la période 2006 – 2010 (n~10/an), 2011 (n=27) puis 2012-2013 (n~50/an) et 2014 (n=60), même si ce nombre a baissé en 2015 (n=37) sans toutefois retrouver les niveaux de la décennie précédente. En particulier, le nombre de souches **MDR de patients nés en Géorgie a baissé en 2015** après la forte augmentation les années précédentes: 1-5 /an en 2006-2011, 26 en 2012, 32 en 2013, 40 en 2014 et **14 en 2015**,
- l'**augmentation du nombre de souches de patients nés en France** (6 à 11/an en 2006-2013, 12 en 2014 et **21 en 2015**), ce qui est inquiétant,
- l'augmentation modérée du nombre de souches de patients nés au Maghreb (1 à 5/an en 2006-2014 et 8 en 2015).

Tableau 9 : distribution des pays de naissance des cas de tuberculose MDR correspondants aux souches reçues de 2006 à 2015

Pays	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
France	11	5	6	6	4	8	9	5	12	21
Allemagne								1		1
Norvège				1						
Portugal		2	2		2	1			2	1
Total Europe Ouest	11	7	8	7	6	9	9	6	14	23
Albanie										1
Roumanie	2	1	5	1		6	3	3	9	6
Pologne										2
Bulgarie								1		2
Macédoine										
Moldavie	1	1	1		1	1	1			
Féd. Russie hors Tchétchénie	2		1	2	1	7	6	2	4	3
Fédération Russie - Tchétchénie	1	1	5	3	4	4	8	3	1	6
Arménie	1	1	2	3		4	2	1	3	1
Azerbaïdjan					1					
Géorgie	2	1	1	4	1	5	26	32	40	14
Kosovo								1		
Lituanie								2		
Ukraine		2					4	2	4	2
Total Europe Est et ex. URSS	9	7	15	13	8	27	50	47	60	37
Algérie	1	3	2	1	1	3	1	2	1	1
Maroc		1		2		1	2	1	1	6
Tunisie						1	1	1		1
Total Maghreb	1	4	2	3	1	5	4	4	2	8
Angola	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
Bénin							1	1		
Cameroun		2	2		2			2	1	
Cap-Vert					1					

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Congo	3	1	4	4	1		3		3	2
Côte Ivoire	5	1	2	3	2	2	1	1	2	3
Djibouti	1									
Egypte							1		1	
Erythrée								1		
Ethiopie	1			1						1
Ghana				1						
Guinée Conakry	3	1	2		2	1	1	2	1	1
Madagascar-Comores		1		1				1		
Mali				1					1	
Mauritanie				1		1				
Niger			1							
Nigeria										
Rep. Centrafricaine	1	1				1	2	1	2	2
RD Congo	4	5	1		2	5	5	4	6	2
Rwanda						1				
Sénégal	1		2	1	1		3	1	2	2
Soudan				1			1			
Tchad					1	1	1			
Togo	1							1		
Total Afrique hors Maghreb	21	13	15	15	14	13	19	16	19	15
Banladesh							1		1	
Cambodge			1							
Chine	1	1	1	2	1	1	3	1	1	5
Corée				2						
Inde	2			2		1	2			
Indonésie									1	
Irak									1	
Mongolie					2	1	1			
Népal	1							1		
Pakistan			1	1	1	2	2	1		1
Sri Lanka		1							1	
Syrie				1						
Thaïlande						1			1	1
Tibet		1			3			1		1
Turquie								1		
Vietnam			1	2	2	1		2	3	
Total Asie	4	3	4	10	9	7	9	7	9	8
Chili				1						
Colombie										1
Brésil										1
Haïti					1	1	1			
Equateur								1	1	
Pérou	1	1			1			1		1
Total Amériques	1	1	0	1	2	3	1	2	1	3
Non précisé								1	4	4
GRAND TOTAL	48	35	44	49	40	64	92	83	111	98

La Figure 1 montre l'augmentation du nombre de souches MDR de 2006 à 2015, (b) la place prépondérante des pays de l'ex-URSS dans les cas MDR

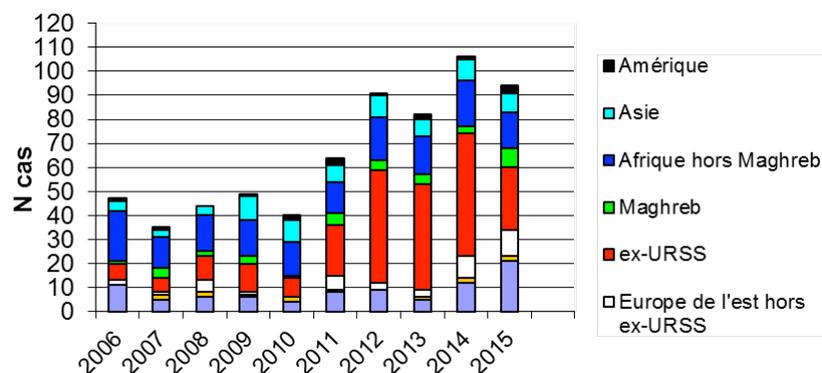


Figure 1 : évolution de la distribution des cas MDR selon le pays de naissance de 2006 à 2015

Evolution de la proportion de souches XDR parmi les souches MDR et de la distribution par pays de naissance des patients porteurs des souches XDR reçues au CNR-MyRMA

La Figure 2 (cf aussi le tableau 8) montre l'augmentation de la proportion des souches XDR parmi les souches MDR de 2001 à 2014 : 2-3% (2002 – 2005), 4-5% (2006-07), 8% (2009), 13% (2010), puis environ 20% de 2012 à 2014. Cette proportion a regagné en 2015 son niveau de 2009-11 (10%).

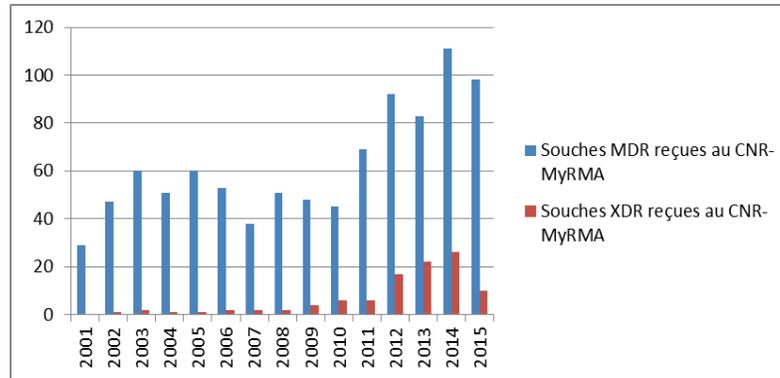


Figure 2 : évolution de la distribution des cas MDR et XDR de 2001 à 2015

Le Tableau 10 montre que les patients d'ex-URSS représentaient ¼ des cas de tuberculose XDR en 2004-2008, 2/3 des cas en 2009-2011, et la quasi-totalité des cas depuis 2012. Les patients **géorgiens représentent la quasi-totalité des cas XDR depuis 2012** (Tableau 10). Les autres patients XDR sont nés dans d'autres pays de l'ex-Europe de l'est, et rarement de France, d'autres pays d'Europe de l'Ouest ou d'Afrique.

Tableau 10 : Répartition par pays de naissance (détail) des patients pour lesquels des souches ultrarésistantes (XDR) ont été reçues au CNR-MyRMA de 2004 à 2015

Année	Europe occidentale	Afrique du Nord	Afrique subsaharienne	Amérique	Asie	Europe de l'Est et ex-URSS	Total
2004		1 Algérie					1
2005			1 Mali				1
2006	1 France					1 Tchétchénie	2
2007	1 France		1 Congo				2
2008						2 Russie, Roumanie	2
2009		1 Algérie				3 2 Géorgie, Arménie	4
2010	1 Portugal					5 3 Tchétchénie 1 Géorgie, 1 Azerbaïdjan	6
2011	1 Portugal	2 Algérie	1 Côte d'Ivoire			2 Russie	6
2012						17 15 Géorgie 1 Arménie, 1 Ukraine	17
2013	1 France					21 19 Géorgie	22

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

			1 Ukraine, 1 Roumanie	
2014	2 France, Portugal	1 RD Congo	23 20 Géorgie , 3 Russie	26
2015	1France		9 5 Géorgie , 2 Tchétchénie 1 Russie, 1 Arménie	10

Le **tableau 11** montre que la moitié des souches MDR reçues en 2015 étaient envoyées de laboratoires de la **région Ile de France (n=48)** comme en 2014 (n.b. présentation selon la **nouvelle organisation régionale**). Les deux autres régions les plus concernées étaient en 2015 les régions Nouvelle Aquitaine et Auvergne- Rhône-Alpes.

Tableau 11 : Répartition par régions des laboratoires ayant envoyé l'échantillon biologique (prélèvement ou souche) des patients MDR au CNR-MyrMA en 2015, comparaison avec 2014 (selon la nouvelle organisation régionale)

Région	N souches	
	2014	2015
Grand Est	5	3
Nouvelle Aquitaine	2	11
Auvergne, Rhône-Alpes	13	11
Normandie	6	3
Bourgogne, Franche-Comté	2	0
Bretagne		2
Centre-Val-de-Loire	2	1
Corse	1	1
Île-de-France	58	48
Occitanie	7	5
Hauts de France	8	6
Pays de la Loire		4
Provence-Alpes-Côte d'Azur	6	3
Guadeloupe		
Guyane		
Martinique		
Mayotte		
Réunion		2
Total	112	98

Tendances évolutives 2006-2015

Le nombre moyen de **souches MDR** reçues au CNR-MyRMA, qui était resté à peu stable jusqu'en 2010 **autour d'une moyenne de 48 par an**, a **augmenté** en 2011 (n=69) et en **2012 (n=92)**, puis **s'est stabilisé** depuis **2013** autour d'une centaine de cas annuels.

Le nombre de **souches XDR**, qui était de **1 ou 2 par an** de 2006 à 2008 (idem depuis 2002), a **augmenté** à **4 en 2009**, **6 en 2010 et 2011**, **17 en 2012**, **22 en 2013** et enfin **26 en 2014**. En **2015**, ce nombre est redescendu à **10**. La **proportion de souches XDR** parmi les souches MDR a donc **beaucoup augmenté**, de **2-3% pour la période 2002 - 2005**, à **4-5%** en 2006-07, **8%** en 2009, **environ 20% de 2012 à 2014** puis **10% en 2015**. Ces variations sont principalement en lien avec le nombre de **patients porteurs de souches XDR originaires de l'ex URSS**, en **particulier la Géorgie** qui, après avoir **fortement augmenté (de 5 and 2011 à 40 en 2014)**, a **diminué en 2015 (n=14)**.

Le nombre de **souches « pré-XDR »** (c'est-à-dire MDR résistantes aux fluoroquinolones **ou** à un des trois aminosides de réserve) a **beaucoup augmenté** : **8 en moyenne par an** de 2006 à 2010 mais **environ 20 par an**

depuis 2011 (n=27 en 2015).

Le CNR-MyRMA reçoit maintenant la quasi-totalité des souches MDR de France

Depuis 2013, le CNR-MyRMA envoie chaque trimestre à l'InVS et à la DGS un bilan évolutif des souches MDR-XDR reçues au CNR, incluant les pays de naissance (cf exemple joint en annexe).

2.3.2. Tests phénotypiques de sensibilité des souches de mycobactéries non tuberculeuses, tendances évolutives

Au total 268 souches de mycobactéries non tuberculeuses reçues en 2015 ont fait l'objet de tests de sensibilité aux antibiotiques.

Le CNR-MyRMA concentre ses efforts en matière de tests de sensibilité aux antibiotiques des mycobactéries non tuberculeuses sur les cas d'infections, en particulier ceux ayant déjà fait l'objet d'un traitement (échecs thérapeutiques et rechutes). En effet, les infections à mycobactéries atypiques n'étant pas contagieuses, il n'y a pas de résistance primaire (c.a.d. résistance chez un patient n'ayant pas reçu de traitement) mais seulement de la résistance secondaire (c.a.d. acquise lors d'un traitement). Ceci a été bien démontré par une publication récente du CNR-MyRMA (Renvoisé *et al.* Antimicrob. Agents Chemother. 2015)

Les résultats pour les **principales espèces**, soit pour 239 du total des 268 souches testées, sont présentés ci-après et dans le tableau 11bis.

***M.avium* complex** : parmi les 145 souches reçues en 2015, 80 (38 *M.avium*, 24 *M.intracellulare* et 18 *M.chimaera*) ont fait l'objet d'un antibiogramme (55%) dont 6 (7%) étaient résistantes à la clarithromycine (CMI > 16 mg/l en milieu 7H9). Parmi les patients ayant des antécédents connus de traitement (n=54), 6 avaient une souche résistante soit **11% de résistance secondaire**.

Sur **l'ensemble de la période 2012 - 2015**, la proportion de souches résistantes à la clarithromycine était de 11% globalement mais de **30% chez les patients ayant des antécédents connus de traitement (résistance secondaire)**.

M.xenopi : parmi les 40 souches reçues en 2015, 27 ont fait l'objet d'un antibiogramme. Aucune n'était résistante à la clarithromycine. Seuls 5 patients avaient des antécédents de traitement. **Aucune des 122 souches de *M.xenopi* reçues entre 2012 et 2015 n'a été trouvée résistante à la clarithromycine**. Il faut signaler qu'en 2015 une souche résistante à la rifampicine a été isolée, mais il n'a pas été possible d'obtenir l'information quant aux antécédents de traitement par cet antibiotique.

M.kansasii : Parmi les 13 souches reçues en 2015, 13 ont fait l'objet d'un antibiogramme et aucune n'était résistante à la rifampicine. **Aucune des 35 souches de *M.kansasii* reçues entre 2012 et 2015 n'a été trouvée résistante à la rifampicine** y compris pour les 4 patients ayant des antécédents de traitement.

Espèces à croissance rapide : 114 souches ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques. Pour ces espèces, un antibiogramme phénotypique est réalisé par la méthode de microdilution. De plus, pour *M.abscessus*, l'étude du gène *erm(41)*, beaucoup plus fiable que les tests phénotypiques, est utilisée pour déterminer le profil de résistance naturelle à la clarithromycine (Bastian *et al.* 2011). En effet, la présence de ce gène confère une résistance naturelle, dont le sequevar C/T28 détermine le caractère inductible ou constitutif.

- les 15 souches de *M.fortuitum* étaient résistantes à la clarithromycine (présence naturelle d'un gène *erm* conférant une résistance inductible aux macrolides chez cette espèce) mais sensibles à la ciprofloxacine.
- Une des 26 souches de *M.chelonae* était résistante à la clarithromycine
- Parmi les 73 souches de *M.abscessus*, **la proportion de celles résistantes à la clarithromycine** pour chaque sous-espèce était : 38/43 pour *M.abscessus sensu stricto* (2 situations possibles chez cette espèce : gène *erm41* actif conférant une résistance inductible aux macrolides si gène *erm(41)* sequevar T28, gène inactif et donc sensibilité si sequevar C28), 0/17 pour *M.abscessus subsp massiliense* (gène *erm(41)* naturellement inactif chez cette espèce), 13/13 pour *M.abscessus subsp bolletii* (gène *erm(41)* naturellement actif conférant une résistance inductible chez cette espèce).
- Par ailleurs 3 souches étaient résistantes aux aminosides.

n.b. Les souches des espèces rares ont été testées pour accumuler des données sur les profils de sensibilité naturelle aux antibiotiques. Les résultats ne sont pas présentés ici.

2.4. Détection de mutations impliquées dans la résistance acquise aux antibiotiques

465 souches reçues en 2015 ont été soumises à des tests de détection moléculaire rapide de mutations impliquées dans la résistance :

- 285 souches de *M.tuberculosis* pour la rifampicine et l'isoniazide et/ou l'éthionamide et/ou les fluoroquinolones et/ou le pyrazinamide et/ou les aminosides et/ou l'éthambutol (a) parce que provenant de malades déjà traités pour tuberculose et/ou immunodéprimés et/ou provenant d'un pays de forte endémie de résistance ou (b) pour contrôle des résultats phénotypiques.

Un total de 1502 tests génotypiques ont été effectués pour cela.

- 150 souches de mycobactéries non tuberculeuses pour la clarithromycine et les aminosides.

- 30 souches de *M.leprae* pour la rifampicine, les quinolones et la dapsonne.

En 2015, le CNR MyRMA était en mesure d'analyser 19 gènes impliqués dans la résistance acquise permettant d'étudier la sensibilité à 13 antibiotiques (rifampicine, fluoroquinolones, pyrazinamide, isoniazide, éthionamide, éthambutol, amikacine, kanamycine, capréomycine, streptomycine, bédaquiline, macrolides, sulfamides) : *rpoB*, *katG*, *inhA*, *gyrA*, *gyrB*, *pncA*, *rrs* (*rrs500*, *rrs900*, *rrs1400*), *eis*, *tlyA*, *embB*, région entre *embC* et *embA*, *ethA*, *ethR*, *atpE*, *Rv0678*, *rrl*, *erm(41)*, *folP*.

2.4.1. Mutations impliquées dans la résistance de *M.tuberculosis* complex, tendances évolutives 2006-2015

Durant la période 2010-2015, le nombre de recherches de mutations a augmenté de 80% (Tableau 2).

Tableau 12 : nombre de recherches génotypiques de résistance aux antituberculeux (rifampicine, isoniazide, pyrazinamide, fluoroquinolones, éthionamide, éthambutol, amikacine, kanamycine, capréomycine) sur les souches de *M.tuberculosis* complex reçues de 2010 à 2015. Le nombre total de gènes analysés en 2015 est précisé entre ().

	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Rifampicine : <i>rpoB</i>	201	232	284	267	281	285 (285)
Isoniazide : <i>katG</i> + <i>inhA</i>	198	227	280	263	284	285 (570)
Pyrazinamide : <i>pncA</i>	137	183	217	211	225	210 (210)
Fluoroquinolones : <i>gyrA</i> + <i>gyrB</i>	128	183	231	215	232	238 (476)
Ethionamide : <i>ethA</i> + <i>ethR</i>	50	79	103	93	119	106 (212)
Aminosides : <i>rrs</i>	56	99	159	121	156	156 (156)
Ethambutol : <i>embB</i>	62	105	159	121	155	222 (222)
Total	832	1109	1433	1291	1452	1502 (2131)

* Dont 12 *gyrB*

Rifampicine (RIF)

Le système d'amplification-hybridation GenoType MTBR*plus*® complété par l'amplification et le séquençage du gène *rpoB* ont permis d'identifier des mutations dans *rpoB* pour 112 des 285 (39%) tests réalisés en 2015 (Tableau 13).

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

La distribution des mutations était comme suit :

- **74 mutations S531L (66% des mutations)**

- 38 autres mutations (34% des mutations) réparties entre les codons 505 et 533 (**tableau 13**).

La part **dominante de la mutation S531L du gène *rpoB* dans la résistance à la rifampicine reste de l'ordre de 2/3 depuis 2010**, en accord avec les données publiées à l'étranger. **En 2015, toutes les souches phénotypiquement résistantes à la rifampicine avaient une mutation du gène *rpoB*, ce qui confirme que la recherche de mutations dans ce gène est une excellente approche** rapide de détection de la résistance à la rifampicine et même de la multirésistance en raison de la rareté des souches monorésistantes à la rifampicine (cf. § surveillance de la résistance).

Tableau 13 : Distribution des mutations du gène *rpoB* identifiées dans les souches de *M.tuberculosis* complex étudiées au CNR-MyRMA de 2010 à 2015 pour détection moléculaire de la résistance à la rifampicine (techniques : GenoType®MTB-DRplus, séquençage *rpoB*)

Mutations	2010	2011	2012	2013	2014	2015
S531L	37	58	76	66	78	74
H526Y	4	6	3	1	3	5
H526D	4	6	6		6	3
H526N ou T ou L ou S ou R ou C ou P	2	4	7	7	6	5
D516V	1	1	2	2	8	2
D516Y		3	2	4	4	2
Délétion N519		2				
L511P	2			3		2
Q513P		1	2		1	
Q513K			1			
Q513E			1	1		
L521V			1		1	
S522Q					1	1
S531W		2	1	1	3	
S531F		1	1	4	4	1
L533P	3	2	1	2	9	10
F505L + D516Y				1		1
S509T + S522W		1				
S509T + D516Y		1				1
Q510H + H526R		1				
L511P + D516G		1	3	1		
L511P + S509I						
L511P + M515V			1			
L511P + H526N				1		
L511R + D516Y		3				
L511P + 1546-1547insT(516)			1			
S512I + H526N			1			
M515I + D516Y						1
D516G + L533P				1		
D516E + H526N						1
H526Q + L533P						1
Délétion		1	1		1	1
Insertion					1	1
Mutation entre 516 et 522°			3			
Total avec mutation	54	94	114	95	126	112
Pas de mutation	147	138	161	162	151	165
PCR négatives + ininterprétables ^a			9	10	4	8
Total général	201	232	284	267	281	285

Isoniazide (INH)

Le système d'amplification-hybridation GenoType®MTBR*plus*, complété par le séquençage des gènes *katG*, *inhA* et du promoteur d'*inhA*, a permis d'identifier des mutations dans *katG* ou *inhA* pour 149 des 285 (52%) souches testées en 2015 (Tableau 14) :

- 109 fois (73%) une mutation du codon 315 de *katG*, toujours corrélée à une résistance phénotypique à haut niveau à INH, dont 91 mutations isolées et 18 associées à une mutation dans le promoteur du gène *inhA*. La mutation S315T isolée était la plus fréquente (n=91, 61%),
- 5 fois (3%) une mutation dans *katG* à une position autre que 315,
- 49 fois (33%) une mutation dans la région régulatrice du gène *inhA* corrélée, lorsqu'elle est isolée (n=31, 21%), à une résistance phénotypique à bas niveau à INH. La mutation de type « -15 c>t » isolée était la plus fréquente (n=26, 17%).

Tendances évolutives 2010-2015 : on note la part dominante de la mutation isolée S315T dans le gène *katG*, qui représente environ 67% des cas (en accord avec les données publiées à l'étranger). Les mutations isolées de type « -15 c>t » dans la région régulatrice du gène *inhA* représentent environ 15% des cas.

On note en 2014 et en 2015 une augmentation significative du nombre de souches avec une double mutation KatG S315T et promoteur *inhA* (n=21 en 2014 et n=18 en 2015, contre n=6 en 2013).

Les souches résistantes à l'isoniazide pour lesquelles il n'a pas été détecté de mutation ni dans *katG*-315 ni dans *inhA* et sa région régulatrice représentent 3 à 9 % de l'ensemble des souches testées selon les années. Les 2 gènes étudiés permettent donc de détecter génotypiquement 91 à 97% des souches phénotypiquement résistantes.

Tableau 14 : Distribution des mutations des gènes *katG* et *inhA* dans les souches de *M.tuberculosis* complex étudiées au CNR-MyRMA de 2010 à 2015 pour détection moléculaire de la résistance à l'isoniazide (techniques : GenoType®MTB-Drplus, séquençage *katG*, *inhA*, promoteur *inhA*)

Mutations	2010	2011	2012	2013	2014	2015
KatG S315T	49	76	101	106	102	91
KatG 315 autre que S>T	-	3	1	1	1	
KatG autre que S315	7	12	10	7	5	5
Promoteur <i>inhA</i>	24	21	13	22	21	31
dont -15	24	20	13	22	21	26
Partie codante de <i>InhA</i>	1*	2		4	1	4
KatG S315T et promoteur <i>inhA</i>	8	10	9	6	21	18
Autre combinaison KatG et <i>InhA</i>					1	
Total avec mutation(s)	89	124	132	146	152	149
Pas de mutation	109	103	140	112	119	127
PCR négatives + ininterprétable ^a			8	5	13	9
Total général	198	227	280	263	284	285

* en plus mutation *inhA* -15 c>t ; ^a nouvelle rubrique à partir de 2012

Pyrazinamide (PZA)

Le séquençage du gène *pncA* qui code pour la pyrazinamidase, enzyme qui transforme le PZA, prodrogue inactive, en acide pyrazinoïque, antibiotique actif, a été effectué pour 210 souches en 2015 (souches MDR et autres souches adressées pour dépistage de la résistance aux antituberculeux).

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Parmi les 210 souches, 55 (26%) avaient une mutation du gène *pncA* (**Tableau 15**) dont 2 *M.bovis* (résistance naturelle par « mutation » H57D). Il faut noter la très grande diversité des mutations identifiées dans PncA, tant en nature qu'en position sur la protéine, diversité qui rend difficile l'interprétation de l'effet des mutations sur la résistance. Cette très grande diversité des mutations rend aussi très difficile de dresser un tableau évolutif sur de nombreuses années car un tel tableau serait trop long.

Tableau 15 : Distribution des mutations du gène *pncA* dans les souches de *M.tuberculosis* complex étudiées au CNR-MyMRA entre 2012 et 2015 pour détection moléculaire de la résistance au pyrazinamide (technique : séquençage *pncA*)

Mutations	2012	2013	2014	2015
L4W ou S	1	4	1	
I5T		1		1
I6L	1	1		1
V7A	1	1	1	
D8G ou E			2	
V9A ou G	1	2		
V9G	1			
Q10H ou R	1		1	1
D12Y ou A ou N			2	2
F13V				2
G17C ou D	1			1
L27P				1
I31S			1	
H43Y		1		
T47P ou A		4	2	
K48N				1
D49G ou A	1	1		2
H51R ou P		1	1	
H57D*	6	3	5	2
H57R			1	1
F58L ou S	2	1		1
P62T ou L		1		3
D63A			2	
Y64D			1	
S67P			1	
W68		1		
H71R ou Y ou P	2	4	9	2
T76P				1
L85R ou P	2	1	1	
T87M	2	1	1	
V93A				1
F94L			1	
Y95STOP	1			
K96Q ou T	2	2		
G97C ou S ou R ou D	1		4	3
Y99S			1	
A102V		1		
Y103STOP	1			
S104R	2			2
F106S			1	
G108R	1			
T100P				1
L116R ou P	2			1
W119L ou C ou R		2	2	2
L120R ou P		1	1	
R121P			1	
V128G		1		
G132D	1			
A134G				1
C138R		1		
T135P			3	
V139M ou A	2	3		
Q141P		3		2
R140S ou P			2	2

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Q141P			5	
T142R ou M		3		
A146T ou V	2		3	5
L159R	3			
T160K		1		
T167I	4	1	2	1
M175V ou T ou K	1	2	2	
L182S				1
P77L + V131G		1		
Délétion dans pnca :	8	4	4	1
Insertion dans pnca :	5	5	7	8
Codon stop			1	2
Total mutations	58	59	72	55
PCR négatives	3	7	5	10
Pas de mutation	156	145	148	145
Total général	217	211	225	210

* mutation observée chez toutes les souches de *M. bovis*

Fluoroquinolones (FQ)

Le système d'amplification-hybridation GenoType®MTBR*sl*, complété par le séquençage des gènes *gyrA* et *gyrB*, codant pour l'ADN gyrase, cible des fluoroquinolones, a été effectué **pour 238 souches reçues en 2015** (souches MDR, et souches suspectes d'être MDR, par exemple, après rechute).

Des **mutations (Tableau 16)** ont été détectées chez **27 des 238 souches** (11%) dans **GyrA** (22 cas, 81%) ou **GyrB** (5 cas, 19%), incluant 23 souches MDR résistantes aux quinolones (dont 11 XDR). Les codons impliqués **dominants** dans GyrA étaient les **codons 94 (n=18, 82%) et 90 (n=3, 14%)**.

On note : 1 souche sensible aux quinolones qui porte un polymorphisme de *gyrA* ne conférant pas la résistance (T80A), 2 souches MDR résistantes aux quinolones et qui portent une mutation A543V dans GyrB (dont 1 avec une deuxième mutation R485C), et 3 souches sensibles aux quinolones et qui portent des polymorphismes dans GyrB (R521G, D533A et G559A) **ne conférant pas la résistance**.

En 2015, toutes les souches phénotypiquement résistantes aux fluoroquinolones avaient une mutation dans les gènes *gyrA* ou *gyrB*, ce qui confirme que la recherche de mutations dans ces gènes est une excellente approche rapide de détection de la résistance aux fluoroquinolones, antituberculeux essentiels dans le traitement des tuberculoses MDR.

Tableau 16 : Distribution des mutations des gènes *gyrA* et *gyrB* dans les souches de *M.tuberculosis* complex étudiées au CNR-MyMRA de 2010 à 2014 pour détection moléculaire de la résistance aux fluoroquinolones (technique : séquençage *gyrA* et *gyrB*)

Gène	Mutations*	2010	2011	2012	2013	2014	2015
<i>gyrA</i>	T80A**	5	3	1	2	5	1
	G88C ou A				1	1	
	D89N	1					
	A90V	3	3	7	11	12	3
	S91P	1	3			1	
	D94A	3	3	7			1
	D94H		2				1
	D94G	2	1	8	12	22	11
	D94N		1	4		5	4
	D94Y	1	3		1	2	1
	Q101E						
	T80A** + A90G				2		
	T80A** + A90E						
	A90V + D94Y						
	A90V + D94V		3				
	A90V + D94H				2		
<i>gyrB</i>	S470I	1					

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

R467P**				1			
P478A**		1					
R485H							
S486Y		1					
D500A ou V					1		
D500N	1			1			
A506G							
R521G**						1	
D533A**						1	
N538D			1				
N538K			1				
E540V		3					
E540A	1						
E540D			1				
A543V	1					1	
A547V							
G551R					1		
G559A**		2	1	1		1	
R485C + A543V			1			1	
gyrA + gyrB	D94A + A543V		1	1			
	A90V + A543V					1	
Total mutations		20	28	36	33	51	27
Pas de mutation		108	155	194	175	177	209
Résultats non interprétables				6	7	4	2
Total général		128	183	231	215	232	238

* numérotation *M.tuberculosis* ; ** polymorphisme sans lien avec la résistance aux quinolones
^a nouvelle rubrique depuis 2012

Ethionamide (ETH)

Le séquençage des gènes *ethA* et *ethR*, codant pour la monooxygénase EthA et son régulateur EthR, est effectué depuis 2012. Il a été effectué **pour 106 souches en 2015**. Des mutations (**Tableau 17**) ont été détectées chez 48 souches (45%).

Tendances évolutives 2011-2015 : On note la très grande diversité des mutations identifiées dans EthA, tant en nature qu'en position sur la protéine, diversité qui rend difficile l'interprétation de l'effet de chacune de ces mutations. Des travaux spécifiques seront nécessaires pour avancer sur ce point. On note en 2015 une augmentation du nombre de mutants avec une mutation -68 A->G dans la zone intergénique *ethA-ethR* (n=5 en 2015, contre n=1 en 2014).

Tableau 17 : Distribution des mutations des gènes *ethA* et *ethR* dans les souches de *M.tuberculosis complex* étudiées au CNR-MyMRA en 2015 pour détection moléculaire de la résistance à l'éthionamide (technique : séquençage *ethA* et *ethR*)

Gène	Mutations	2012	2013	2014	2015
<i>ethA</i>	M1R				1
	A19V (plus EthR-V199A)				1
	G11D ou S	1	1	2	
	S15P				1
	H22P	1			1 ^a
	C27W		1		
	G42V + P334A	1			
	F48S		1		
	Y50C		1		
	S55C		1		
	G63D		1		
	F66L + G199D	1			
	G78D + wt	1			
	D95N			1	

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

R99G	1			
W109STOP				1
G124D				1
C131Y				1
L136R			1	1
G139D				1
Y140STOP	2			
Y147STOP	1			
Q165P	4	1		1
H166P			1	
W167G	2	1		
I178S			1	
S183R			1	
V202G				1
Q206STOP	1			
S208STOP	1	1		
Y211S			1	
I212M				1
V238G	1	1	1	
R239L			1	
Q254A				1
P257S			2	
R261W	1			
S266R			3	2
Q269STOP	2	2	1	
H281P			1	1
C294Y			1	2
I305N	1			
T314I				1
P334A				1
I337V			1	
I338S			1	2
T341I			1	
M372R			1	
N379D			1	
G385D	2			
C403R	1			1
G413D				1
P422L			1	1
L440P			1	1
Q449R	1			
D464G			1	
R483T	1			
A89E + R99Q + S266R				1 ^b
Délétion + I337V	1			
Délétion + D95N			2	
Délétions	12	13	17	16
Insertions	6	5	3	4
<i>ethR</i>				
T149A	1			
M102T + délétion ethA			1	
Zone intergénique				
-68 A->G	3		1	5
-66-65 ins CG	1			
Total mutations	51	46	38	48
Pas de mutation	49	42	74	56
PCR négatives	3	3	7	2
Total général	103	91	119	106

^a en plus mutation F110L dans EthR , ^b en plus mutation -9 A->G dans la zone intergénique

Kanamycine, amikacine et capreomycine

Le système d'amplification-hybridation GenoType MTBRs/® a été utilisé pour la recherche de mutations dans le gène *rrs* aux positions 1401, 1402 et 1484, ces 3 positions étant impliquées dans la résistance aux aminosides de seconde ligne (kanamycine et amikacine) et à la capréomycine. Au total, **156 souches ont été étudiées en 2015.**

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Les résultats montrent la présence d'une **mutation** a1401g pour 11 d'entre elles (7%), dont 3 XDR. Comme attendu, aucune des 14 souches MDR monorésistantes à la kanamycine ne portait de mutation dans *rrs*.

Ethambutol

Le système d'amplification-hybridation GenoType® MTBR*sl* a été utilisé jusqu'en 2014 pour la recherche de mutations dans le gène *embB* à la position 306 qui a été associée à la résistance à l'éthambutol. En 2015, **nous avons de plus mis en place le séquençage complet du gène *embB* et de son promoteur**, qui permet la détection d'un plus grand nombre de mutations impliquées dans la résistance à l'éthambutol (par exemple, G406D/S/A/ ou C, voir paragraphe 1.2.1. Identification moléculaire de la résistance à l'éthambutol) (Référence : *Molecular Analysis of the embCAB Locus and embR Gene Involved in Ethambutol Resistance in Clinical Isolates of Mycobacterium tuberculosis in France*. Brossier F et coll. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Aug;59(8):4800-8).

Au total, **222 souches ont été étudiées en 2015**, montrant la présence d'une **mutation** du gène *embB* pour **58 d'entre elles (26%)** (Tableau 18). Parmi ces 58 souches, 46 (79%) avaient une mutation du codon EmbB-306 : M306V (n=32) et M306I (n=14). Les autres codons dominants dans EmbB étaient les codons 406 (n=4), 497 (n=2) et 334 (n=2), les autres étant plus rares.

Malgré le séquençage complet du gène *embB* en plus de l'étude de la position 306 de ce gène, seulement 80% des souches phénotypiquement résistantes à l'éthambutol sont détectées génotypiquement. C'est pourquoi nous avons décidé à de **procéder à l'avenir à l'étude systématique de la région intergénique *embA-embA*** (cf § 1.1.).

Tableau 18 : Distribution des mutations des gènes *embB* et son promoteur dans les souches de *M.tuberculosis complex* étudiées au CNR-MyMRA en 2015 pour détection moléculaire de la résistance à l'éthambutol (technique : GenoType®MTB-DR*sl*, séquençage *embB*)

Gène	EmbB	2015
<i>embB</i>	M306V	32
	M306I	14
	T215S	1
	D328Y	1
	Y334H	2
	D354A	1
	P404S	1
	G406D ou S	3
	Q497K	2
	G406A + T212A	1
	Promoteur <i>embB</i>	
Total mutations		58
Pas de mutation		163
PCR négatives		1
Total général		222

2.4.2. Mutations impliquées dans la résistance des mycobactéries non tuberculeuses, tendances évolutives 2006-2015

150 souches de mycobactéries non tuberculeuses reçues en 2015 ont été soumises à des tests de détection moléculaire rapide de la résistance.

Espèces à croissance lente (75 souches) :

Détection de la résistance acquise à la clarithromycine parmi 75 souches (72 souches du complexe MAC, cf section résistance phénotypique, et 3 souches d'autres espèces à croissance lente, pour vérification de leur sensibilité : mutations de la région autour des nucléotides 2057 et 2059 du gène *rrl* codant l'ARN 23S :

- les 69 souches phénotypiquement sensibles étaient indemnes de mutations
- 4 des 6 souches résistantes portaient une mutation a2058c (*M.chimaera* n= 1 et *M. intracellulare* n=1), a2058t

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

(*M. avium* n= 1), a2058g (*M. intracellulare* n= 1).

- les 2 autres souches du complexe MAC phénotypiquement résistantes, en fait à bas niveau, ne portaient pas de mutation.

Espèces à croissance rapide (75 souches)

- **résistance naturelle à la clarithromycine** de 38/43 pour *M. abscessus* sensu stricto, 0/17 pour *M. abscessu subsp. massiliense*, 13/13 pour *M. abscessu subsp. bolletii* liée à la présence et à la nature du gène *erm(41)* (cf. plus haut : résistance phénotypique)
- **résistance acquise à la clarithromycine** : mutation a2058g du gène *rrl* codant l'ARN 23S pour une souche de *M. chelonae* responsable d'infection cutanée chez un patient avec antécédent de traitement par macrolides en monothérapie
- **résistance acquise aux aminosides** par mutation a1401g du gène *rrs* codant l'ARNr16S pour 2 souches de *M. abscessus* sensu stricto T28 responsables d'infection chez un même patient atteint de mucoviscidose, et ayant des antécédents de traitements pour des infections récidivantes à *M. abscessus* depuis plusieurs années.

2.4.3. Détection de la résistance aux antibiotiques dans les cas de lèpre diagnostiqués en France, tendances évolutives

En 2015, nous avons reçu **70 biopsies** pour **49 patients** français ou résidents en France, ce qui confirme l'augmentation du recrutement observée depuis 2010 suite aux relations établies avec des collègues des DOM-TOM et des centres hospitaliers de métropole (tableau 19).

L'examen microscopique et la PCR étaient positifs pour 26 des 49 patients, soit 59% (30 biopsies positives sur 70, soit 43 %) : 22 nouveaux cas et 4 rechutes.

Ces patients vivaient dans les DOM-TOM (n=16 dont 11 à Mayotte dont 5 originaires des Comores ; 2 à Tahiti ; 3 en Nouvelle Calédonie), ou étaient des immigrants résidant en France métropolitaine (total=10 dont 1 du Sri Lanka, 1 de RDCongo , 1 du Mali, 1 du Sénégal, 1 de Madagascar, 5 des Comores).

Toutes les souches de *M. leprae* étaient multisensibles aux antilépreux.

En 2015, nous avons pratiqué, pour un patient né au Sri Lanka et diagnostiqué à Paris (Hôpital St Louis), un antibiogramme phénotypique par subculture chez la souris Swiss après primoculture chez la souris Nude.

Analyse rétrospective des résultats 2001- 2015 cas de lèpres diagnostiqués en France

Un total de 419 biopsies ont été reçues durant les 15 années de 2001 à 2015 pour 299 patients suspects de lèpre, dont 191 biopsies positives par examen microscopique ou amplification génique (46%), ce qui a permis le diagnostic de lèpre pour 158 patients (53%) dont 50 en France métropolitaine et 108 dans les DOM-TOM.

Les patients étaient originaires des DOM-TOM (n=96, 60%), d'Afrique (n=44, 28%), d'Asie (n=9, 6%), d'Amérique (n=3, 2 %) ou de France métropolitaine mais ayant voyagé dans des régions d'endémie (n=6,4%).

Parmi les 158 cas, 125 étaient des nouveaux cas (79%) et 33 des rechutes (21%).

Un antibiogramme moléculaire a été obtenu pour 152 (122 nouveaux cas et 30 rechutes) des 158 cas :

- 135 cas multisensibles
- 17 cas résistants (11%) dont 9 primaires (7 à DDS et 2 aux fluoroquinolones) et 8 secondaires (5 à DDS et 3 à rifampicine). Aucun cas de multirésistance n'a été détecté.

Le taux de résistance était donc en France de 7,4 % parmi les 122 nouveaux cas (R 1aire), et de 26,7% parmi les 30 rechutes (R 2aire). Comme dans la tuberculose, cette différence est très significative (p= 0,006).

La distribution des cas de résistances par lieu de naissance ou de contage présumé (personne née en France mais ayant séjourné longuement en pays endémique, DOM-TOM ou étranger) est présentée dans le tableau ci-dessous.

Les cas résistants observés chez les patients résidant dans les DOM-TOM étaient autant primaires (n=7) que secondaires (n=8). Au contraire, les 2 seuls cas résistants observés chez les patients nés ou résidant à l'étranger étaient primaires, en cohérence avec ce qui est observé dans me programme de surveillance de l'OMS.

Surveillance de la résistance aux antilépreux chez les patients diagnostiqués en France (2001-15)

Lieu de naissance ou contagé	Cas avec antibiogramme moléculaire			Dont cas résistants		
	Total	Nouveaux	Rechutes	Primaire	Secondaire	Mutations
DOM-TOM	95*	70	25	7 (6 Dds, 1 Fq**)	8 (5 Dds, 3 Rif****)	<i>folP</i> : P55L (6), T53I (4) T53A (1) <i>rpoB</i> : S456L (2) S456F (1) <i>gyrA</i> : A91V (1)
Etranger	57*	52	5	2 (1 Dds, 1 Fq***)	0	<i>folP</i> : P55L (1) <i>gyrA</i> : A91V (1)

Dds, dapsonne; Rif, rifampicine; Fq, fluoroquinolone

* dont 6 patients nés en France métropolitaine mais ayant séjourné longuement en pays endémique, soit en DOM-TOM (n=1), soit à l'étranger (n=5 : 3 en Afrique, 2 en Asie)

** Nouvelle Calédonie ; *** immigrant du Brésil résidant en France ; **** 2 Martinique, 1 Tahiti

La grande majorité des mutations de résistance primaire concernent la dapsonne (7 sur 9), ce qui n'est pas étonnant en raison de l'emploi très ancien, autrefois en monothérapie, de cet antilépreux, ce qui a occasionné des rechutes à bacilles résistants et des cas de transmission à partir de ces rechutes. **Cependant il faut noter 2 cas de résistance 1aire aux fluoroquinolones** (Nouvelle Calédonie ; immigrant du Brésil résidant en France) qui sont très probablement la rançon de l'emploi large de ces antibiotiques dans de nombreux types d'infections (urinaires, respiratoires...).

La majorité des mutations de résistance 2aire concernent la dapsonne mais il faut noter 3 cas de résistance 2aire à la rifampicine dans les DOM-TOM (Martinique, Tahiti) ce qui suggère des défauts d'organisation des traitements dans ces régions.

Les différences observées entre les taux de résistance parmi les cas diagnostiqués en France et ceux observés dans les pays d'endémie lépreuse (cf nos travaux effectués pour une dizaine de pays d'endémie, dans le cadre du réseau OMS de surveillance de la résistance aux antilépreux) sont frappantes, primaire (7,4 % vs 4%, P=0,1) et surtout **secondaire (26,7% vs 0%, p=0,007)**.

Dans les régions qui suivent la stratégie OMS, le traitement de la lèpre est standardisé depuis une trentaine d'années et les antilépreux sont fournis gratuitement sous une forme qui favorise la supervision et la compliance. Les taux de résistance 1aire y sont bas et il n'y a pas de résistance 2aire. Par contraste, dans les DOM-TOM où les patients sont pris en charge par des structures variées et mal coordonnées, les taux de résistance 1aire, et surtout de résistance 2aire, sont très élevés, suggérant des défauts importants d'organisation dans la prise en charge des patients, en tout cas dans le passé.

3. Activités de surveillance

3.1. Surveillance des caractéristiques de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux

3.1.1. Surveillance de la résistance primaire et secondaire à travers le réseau Azay-mycobactérie des CHU, tendances évolutives depuis 1995

Caractéristiques des cas colligés à travers le réseau Azay-Mycobactéries

Les données recueillies en 2015 concernent les malades diagnostiqués pendant l'année 2014 par 38 laboratoires du réseau Azay-Mycobactéries. Comme l'année précédente, un laboratoire de CHU de la région Languedoc-Roussillon n'a pas été en mesure de fournir ses données. En revanche, un laboratoire de CHU de la région Midi-Pyrénées qui ne participait plus au réseau pour des raisons techniques a de nouveau eu la possibilité de fournir ses données, ce qui permet de couvrir à nouveau cette région.

Les 38 laboratoires du réseau ont colligé les données concernant 1570 cas de tuberculose à culture positive qu'ils ont diagnostiqués en 2014, soit un chiffre très proche de ceux générés par le réseau depuis 2007. La distribution des cas par région est donnée dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Surveillance de la résistance primaire et secondaire de *M tuberculosis* complex menée par le réseau Azay-Mycobactérie sur les cas diagnostiqués de 2007 à 2014 : distribution régionale des cas à culture positive (ancienne organisation régionale). Pour 2014, les données sont aussi exprimées en % du total des cas de l'année.

Régions	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
								N	%
Alsace	35	40	50	39	55	36	37	50	3,2
Aquitaine	116	106	126	132	141	111	46	54	3,5
Auvergne	29	23	29	18	21	17	21	21	1,3
Bourgogne	23	29	24	17	22	19	22	24	1,5
Bretagne	14	22	17	12	15	64	67	58	3,7
Centre	18	24	15	12	32	22	25	26	1,7
Champagne Ardennes	6	16	15	13	13	13	17	21	1,3
Corse	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Franche-Comté	16	17	12	11	10	18	14	31	2,0
Ile de France	712	712	780	747	773	820	825	783	49,9
Languedoc-Roussillon	57	53	31	42	45	52	17	18	1,2
Limousin	13	23	14	14	22	13	22	16	1,0
Lorraine	28	36	28	23	33	22	25	35	2,2
Midi-Pyrénées	91	57	55	0	0	0	0	38	2,4
Nord-Pas de Calais	35	35	44	42	51	42	34	32	2,0
Normandie Basse	25	34	34	31	31	38	25	23	1,5
Normandie Haute	41	40	36	39	19	28	52	46	2,9
Provence ACA	37	39	38	61	44	40	50	40	2,6
Pays de Loire	74	79	63	71	85	74	75	77	4,9
Picardie	24	26	22	20	28	18	31	24	1,5
Poitou-Charentes	16	18	23	17	18	16	16	16	1,0
Rhône-Alpes	139	141	117	126	123	113	126	137	8,7
TOTAL	1549	1570	1574	1487	1581	1576	1547	1570	100

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Les proportions des cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en 2014 par les laboratoires de CHU du réseau Azay-mycobactéries selon les **antécédents de traitement (8,8% déjà traités)**, le **pays de naissance (67,2% nés à l'étranger)** et le **statut VIH (6,1% de co-infection)** sont présentées dans la **Figure 3**.

L'analyse de l'évolution depuis 1995 montre :

- une **stabilité (<10%)** de la **proportion des cas diagnostiqués chez des patients ayant des antécédents de traitement** ce qui est en faveur d'une prise en charge convenable de la tuberculose en France (**indicateur de qualité**),
- une **augmentation continue de la proportion des cas diagnostiqués chez des patients nés à l'étranger**, de 35% environ au milieu des années 1990 à plus de 50% depuis 2002 et 67,2% en 2014,
- une **légère tendance à la baisse, de la proportion des cas diagnostiqués chez les patients VIH+** depuis 1995, **mais une stabilité ces dernières années autour de 6%**. L'impact de l'épidémie du VIH sur l'épidémiologie de la tuberculose est donc très modeste en France.

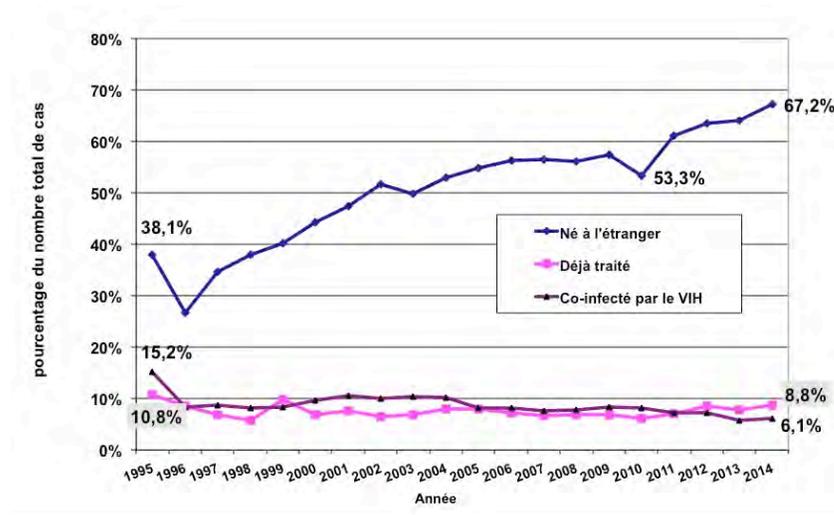


Figure 3 : Caractéristiques des cas de tuberculose à culture positive (en %). Réseau Azay-Mycobactéries 1995-2014

Sensibilité aux antituberculeux des cas colligés à travers le réseau Azay-Mycobactéries

La sensibilité à la rifampicine et l'isoniazide a été éprouvée pour 1548 des 1570 cas (98,6%) de 2014.

Résistance primaire

Pour les 1186 malades **sans antécédent de traitement** (nouveaux cas), le pourcentage global de résistance ("**résistance primaire**") à au moins un des 4 antituberculeux de première ligne était en 2014 de 13,3% (Tableau 20). Ce pourcentage est en hausse depuis 1995 (Figure 4).

Le pourcentage de résistance primaire à chacun des antituberculeux pris séparément (Tableau 20, Figure 5) était en 2014, comme toujours, beaucoup plus élevé pour l'isoniazide (INH 8,0%) et la streptomycine (SM 9,0%) que pour la rifampicine (RMP 2,5%) et l'éthambutol (EMB 1,6%).

Le pourcentage de résistance primaire à l'INH était de nouveau en hausse en 2014 après deux années consécutives de baisse (6,5% en 2012, 5,6% en 2013) et était le plus élevé depuis le début de la surveillance en 1995 (3,7% en 1995). Ceci confirme la tendance temporelle à la hausse de la résistance primaire à l'INH

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

depuis 20 ans, ce qui doit faire **renforcer les recommandations thérapeutiques de quadrithérapie pour les nouveaux cas** et étudier l'impact potentiel sur les choix de thérapeutique dans la tuberculose latente

Comme les années précédentes, la quasi-totalité des souches résistantes à la rifampicine diagnostiquées en 2014 chez les patients sans antécédent de traitement (28/30) étaient aussi résistantes à INH (multirésistance). Les deux autres souches résistantes à RMP étaient monorésistantes à RMP.

La proportion de cas **multirésistants « primaires »** mesuré en 2014 dans les CHU au travers le réseau Azay-mycobactéries (2,4%) est un peu supérieure à celles de 2011 (1,9%), 2012 (2,2%) et 2013 (1,7%). Un seul cas MDR « primaire » était séropositif pour le VIH.

Résistance primaire et pays de naissance

Le pourcentage de résistance primaire à au moins un des 4 antituberculeux chez les 379 patients nés en France (**Tableau 20**) était de 10,0% alors qu'il était de 15,0% chez les 785 patients nés à l'étranger ($p < 0,02$). Pour chaque antituberculeux, le pourcentage de résistance primaire était plus élevé chez les patients nés à l'étranger que chez ceux nés en France, en dehors de la monorésistance à SM.

Tableau 20 : Résistance aux antituberculeux de 1ère ligne en 2014 parmi les nouveaux cas de tuberculose (résistance "primaire") et les cas déjà traités (résistance "secondaire") selon le pays de naissance (France/autres pays). Réseau Azay-Mycobactéries

Sensibilité	Nouveaux cas						Malades déjà traités					
	Total		France		Autres		Total		France		Autres	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Testées	1186	100	379	100	785	100	134	100	22	100	110	100
Sensible	1028	86,7	341	90,0	667	85,0	86	64,2	19	86,4	65	59,1
Résistant	158	13,3	38	10,0	118	15,0	48	35,8	3	13,6	45	40,9
dont résistant à au moins :												
SM	106	9,0	26	7,0	79	10,1	34	26,4	1	4,8	33	31,1
INH	95	8,0	18	4,8	76	9,7	43	32,1	2	9,1	41	37,3
RMP	30	2,5	5	1,3	25	3,2	37	27,6	1	4,6	36	32,7
EMB	19	1,6	3	0,8	16	2,0	29	22,1	0	0	29	26,9
dont monorésistant à :												
SM	57	4,8	18	4,8	38	4,8	3	2,2	0	0	3	2,7
INH	40	3,4	8	2,1	31	4,0	6	4,5	1	4,6	5	4,6
RMP	2	0,2	0	0	2	0,3	1	0,8	1	4,6	0	0
EMB	3	0,3	1	0,3	2	0,3	0	0	0	0	0	0
dont MDR	28	2,4	5	1,3	23	2,9	35	26,1	0	0	35	31,8

SM : streptomycine ; INH : isoniazide ; RMP : rifampicine ; EMB : éthambutol.

Les antécédents de traitement étaient douteux ou inconnus pour 228 cas et le pays de naissance était inconnu pour 64 cas. Pour 22 souches, les antibiogrammes n'ont pas été réalisés. La streptomycine n'a pas été éprouvée pour 23 cas et l'éthambutol pour 13 cas.

Résistance secondaire

Chez les 134 patients diagnostiqués en 2014 et ayant déjà reçu un traitement antituberculeux (cas déjà traités), le pourcentage global de résistance (résistance "secondaire" ou "acquise") à au moins un des 4 antituberculeux était de 35,8%, soit près de 3,5 fois celui vu plus haut pour les nouveaux cas (**Tableau 20, Figure 4**). Ce pourcentage est légèrement inférieur à celui de 2013.

Pris séparément, les pourcentages de résistance "secondaire" à INH (32,1%) et RMP (27,6%) observés en 2014

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

sont aussi très légèrement inférieurs à ceux de 2013 (**Figure 6**). Comme en 2013, ces taux très élevés sont le reflet de la survenue de cas de tuberculose à bacilles MDR nés à l'étranger, qui représentent 35 des 134 cas (26,1%) de tuberculose chez les patients ayant déjà reçu un traitement.

Résistance secondaire et pays de naissance

Comme au cours des dernières années, **l'ensemble des 35 cas de tuberculose à bacilles MDR « secondaire »** ont été diagnostiqué chez des patients nés à l'étranger (**Tableau 20**). De manière générale, la résistance « secondaire » à chacun des quatre antituberculeux pris isolément était rare chez les patients nés en France. Enfin, parmi les cas MDR un seul était séropositif pour le VIH.

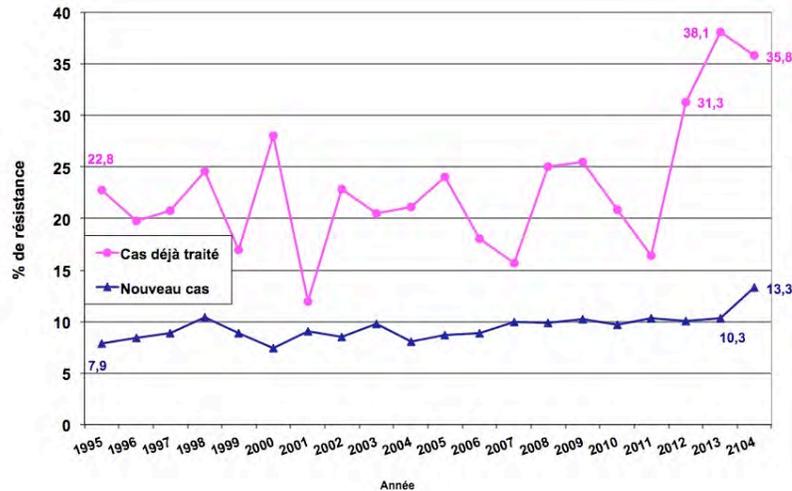


Figure 4 : Résistance (en %) à au moins un antituberculeux de première ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol, streptomycine) chez les nouveaux cas (résistance « primaire ») et les cas déjà traités (résistance « secondaire »). Réseau Azay-Mycobactéries 1995-2014

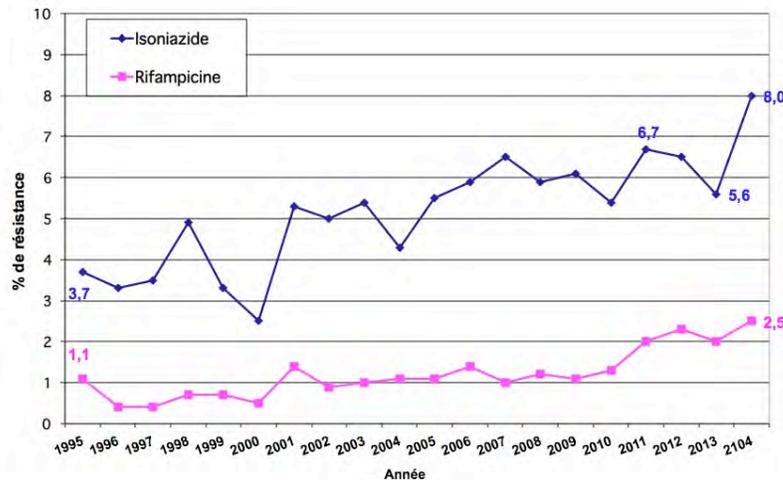


Figure 5 : Résistance (en %) à l'isoniazide et la rifampicine chez les nouveaux cas (résistance « primaire »). Réseau Azay-Mycobactéries 1995-2014

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

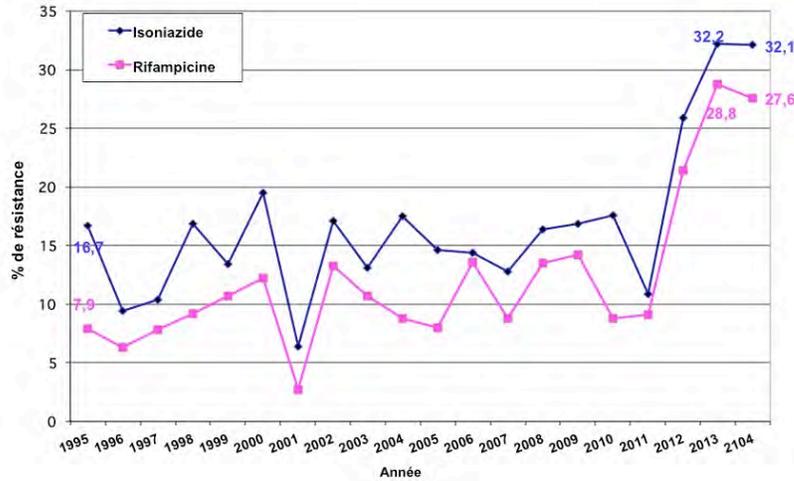


Figure 6 : Résistance à l'isoniazide et la rifampicine chez les cas déjà traités (résistance « secondaire »). Réseau Azay-Mycobactéries 1995-2014

Monorésistance à la rifampicine

En 2014, deux souches monorésistantes à RMP ont été isolées chez deux patients jamais traités (résistance « primaire »), soit 0,2%, toutes deux chez des patients nés à l'étranger. Deux autres souches monorésistantes à RMP ont été isolées chez deux patients déjà traités (résistance « secondaire »), soit 1,5%, un né en France et un né à l'étranger. Ces 4 patients étaient tous séronégatifs pour le VIH.

3.1.2. Surveillance à visée exhaustive de la tuberculose à bacilles multirésistants à travers le réseau CNR-MyRMA

En 2015, le CNR-MyRMA a recueilli des données concernant les cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en 2014, à travers son réseau de laboratoire (réseau CNR-MyRMA). En raison des restructurations des laboratoires des hôpitaux et du secteur privé, ce réseau comportait **222 laboratoires** en 2014. Depuis 2010, 116 laboratoires appartenant au réseau ont arrêté leurs activités de mycobactériologie pour les transférer dans un laboratoire sous-traitant, participant en général déjà au réseau.

Comme chaque année, les données ne sont pas tout à fait complètes au moment de rédiger le rapport d'activité (86% de réponse au questionnaire).

Les données colligées à ce jour **concernent 4196 cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en 2014.**

La région Ile-de-France a diagnostiqué un peu moins de la moitié des cas documentés de 2014 (40%) et la région Rhône-Alpes 18,8%. Chacune des autres régions représentent de 0,2% à 4,3% du total des cas.

Comme les années précédentes, **plus de la moitié des cas (56% en 2014) de tuberculose diagnostiqués en 2014 étaient concentrés dans les 20 laboratoires dont l'activité est la plus importante (Figure 7) :**

- ✓ 15 laboratoires de CHU (7 d'Ile de France et 8 d'autres régions),
- ✓ 2 hôpitaux généraux d'Ile-de-France
- ✓ 1 laboratoire de sanatorium d'Ile de France
- ✓ 2 gros laboratoires privés

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

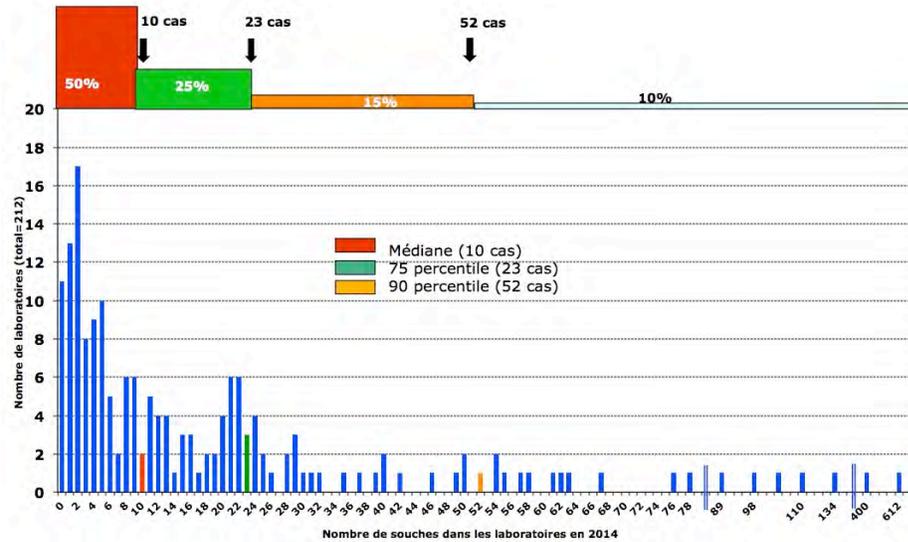


Figure 7 : Distribution des laboratoires du réseau du CNR-MyRMA en fonction du nombre de cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en 2014

Nombre et proportion de cas de tuberculose à bacilles multirésistants en 2014

Le nombre de **cas de tuberculose à bacilles multirésistants** diagnostiqués en 2014 en France par les 191/222 laboratoires ayant envoyé leurs données à ce jour était de **110**, soit une **proportion de 2,6% (IC95 : 2,2%-3,2%)** de l'ensemble des 4196 cas colligés (Tableau 21). **C'est la proportion la plus élevée depuis le début de la surveillance en 1992.**

Parmi ces 110 cas MDR, il y avait 2 cas diagnostiqués dans les DOM, 3 cas chez des patients déjà identifiés les années précédentes (cas à rechutes) et 105 cas diagnostiqués pour la première fois en 2014 en métropole.

Le pourcentage de cas MDR (2,6%) calculé sur les 4196 cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués par l'ensemble des laboratoires français qui pratiquent la mycobactériologie (réseau CNR-MyRMA) reste significativement ($p < 0,01$) inférieur à celui calculé sur les 1550 cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués par les 38 laboratoires universitaires du réseau Azay-Mycobactéries (4,4% en cumulant les cas de résistance 1aire, 2aire et les cas avec antécédents inconnus ou douteux). Cette différence est très probablement liée au caractère spécialisé et de « recours » des services de pneumologie et d'infectiologie des CHU.

Comme chaque année, quelques laboratoires du réseau CNR-MyRMA n'ont pas encore adressé leurs données 2014 malgré de nombreuses relances ; toutefois, il est peu probable que le nombre total de cas multirésistants diagnostiqués en France en 2014 augmente avec les réponses de ces derniers laboratoires. En effet, tous les nouveaux cas de métropole concordent avec les souches MDR reçues par le CNR-MyRMA pour confirmation et antibiogramme complémentaire (cf. plus haut « activités d'expertise »). La proportion définitive des cas MDR parmi l'ensemble des cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en 2014 devrait être en revanche très légèrement inférieure à 2,6% après intégration au dénominateur (total des cas de tuberculose à culture positive) des données des derniers laboratoires qui ne concerneront très probablement que des cas de tuberculose non MDR.

Calculée pour chacune des régions de France (Tableau 21), la proportion de cas multirésistants rapportée au total des cas de tuberculose bactériologiquement prouvés dans chaque région était comprise entre 0 et 11,1% en 2014 (n.b. 2014 sera la dernière pour laquelle nous utiliserons l'ancienne organisation régionale, les données 2015 présentées dans la section 2 étant déjà présentées selon la nouvelle organisation).

Tableau 21 : Distribution régionale des cas de tuberculose à culture positive et des cas de tuberculose à bacilles multirésistants diagnostiqués en 2014 par les laboratoires du réseau du CNR-MyRMA (selon l'ancienne organisation régionale).

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Région	Total cas TB	Cas TB MDR	
		N	% du total
Alsace	93	4	4,3
Aquitaine	83	3	3,6
Auvergne	21	0	0
Bourgogne	35	0	0
Bretagne	137	0	0
Centre	76	2	2,6
Champagne Ardennes	41	0	0
Corse	9	1	11,1
Franche-Comté	49	1	2,0
Ile de France	1847	56	3,0
Languedoc-Roussillon	97	1	1,0
Limousin	22	1	4,6
Lorraine	53	0	0
Midi-Pyrénées	84	3	3,6
Nord-Pas de Calais	149	6	4,0
Normandie Basse	32	1	3,1
Normandie Haute	78	6	7,7
Provence ACA	182	7	3,9
Pays de Loire	107	0	0
Picardie	67	0	0
Poitou-Charentes	49	0	0
Rhône-Alpes	789	17	2,2
Départements d'outre-mer	96	1	1,0
Total	4196	110	2,6

Caractéristiques des cas de tuberculose à bacilles multirésistants de 2014

Les caractéristiques des 105 cas de tuberculose MDR diagnostiqués pour la première fois en 2014 en métropole sont les suivantes (n.b. les toutes petites différences d'effectifs et de distribution par pays de naissance, comparativement à celle des souches MDR reçues en 2014 au CNR-MyRMA, cf tableau 9, sont dues au fait que quelques souches reçues ne correspondent pas à des nouveaux cas de 2014) :

- 70% étaient des hommes,
- 9 (8,6%) étaient nés en France, et 94 (89,5%) nés à l'étranger, le pays de naissance étant inconnu pour les 2 derniers cas,
- parmi les 94 malades nés à l'étranger, 60 étaient nés en Europe de l'Est (dont 33 en Géorgie), 19 en Afrique subsaharienne, 5 au Maghreb, 8 en Asie, et 2 en Amérique du Sud,
- l'âge médian était de 32 ans (1 cas de moins de 5 ans, 0 cas de plus de 65 ans, 20% de 15 à 24 ans et 40% de 25 à 34 ans),
- 6 (5,7%) étaient séropositifs pour le VIH, 51 (48,6%) étaient séronégatifs et 48 (45,7%) de statut VIH inconnu,
- 85% des cas avaient une atteinte pulmonaire de leur tuberculose,
- 45% n'avaient jamais été traités (MDR « primaire »).

Tendances évolutives 1992-2014

Le pourcentage de cas multirésistants de 2014 est le plus élevé depuis le début de la surveillance en 1992. Durant les 22 années de la surveillance menée par le CNR-MyRMA (Tableau 22), le pourcentage de cas MDR parmi l'ensemble des cas de tuberculose à culture positive diagnostiqués en France a **quadruplé, passant de 0,4-0,7% entre 1993 et 1998, à 0,9% en 1999-2001, oscille entre 0,9 et 1,4 % de 2002 à 2010, puis augmente à 1,7% en 2011, 2,3% en 2012, 1,9% en 2013 et 2,6% en 2014.**

Tableau 22 : Nombre de cas de tuberculose à bacilles multirésistants, et proportion parmi le nombre total de cas de tuberculose à culture positive (réseau CNR-MyRMA 1992-2014)

Année	Cas MDR	Total cas	% MDR	[IC95]
1992	48	8441	0,6	[0,4-0,7]

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

1993	40	8539	0,5	[0,3-0,6]
1994	58	7751	0,7	[0,5-0,9]
1995	40	7119	0,6	[0,4-0,8]
1996	29	6441	0,5	[0,3-0,6]
1997	26	5917	0,4	[0,3-0,6]
1998	39	5766	0,7	[0,5-0,9]
1999	48	5597	0,9	[0,6-1,1]
2000	51	5569	0,9	[0,7-1,2]
2001	48	5445	0,9	[0,7-1,2]
2002	79	5609	1,4	[1,1-1,7]
2003	77	5480	1,4	[1,1-1,8]
2004	68	5333	1,3	[1,0-1,6]
2005	65	5043	1,3	[1,0-1,6]
2006	61	4933	1,2	[0,9-1,5]
2007	44	4802	0,9	[0,7-1,2]
2008	57	4880	1,2	[0,9-1,5]
2009	48	4503	1,1	[0,8-1,4]
2010	47	4388	1,1	[0,8-1,4]
2011	75	4383	1,7	[1,3-2,1]
2012	94	4089	2,3	[1,9-2,8]
2013	82	4267	1,9	[1,6-2,4]
2014	110	4196*	2,6*	[2,2-3,2]

*chiffres à affiner (quelques réponses de laboratoires sont en attente)

La distribution régionale des cas MDR identifiés par le CNR-MyRMA est restée remarquablement constante dans la majorité des régions durant les années 2007-2014 (Tableau 23). En revanche, il faut noter une augmentation du nombre de cas dans les régions Rhône Alpes et Provence-Côte d'azur depuis 2011 et dans la région Nord-Pas-de-Calais depuis 2012. En Ile-de-France, le nombre annuel de cas qui était autour de 30 avant 2011 a augmenté à 40 en 2012, 35 en 2013 et 56 en 2014. Dans la région Bretagne, après une augmentation du nombre de cas en 2012-2013, il n'y a pas eu de cas rapporté en 2014.

Tableau 23 : Distribution régionale des cas de tuberculose à bacilles multirésistants diagnostiqués de 2007 à 2014 par les laboratoires du réseau du CNR-MyRMA (selon l'ancienne organisation régionale).

Région	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	TOTAL	% total
Alsace	2	1	2	3	4	5	4	21	4,1
Aquitaine	1	1	1	0	2	2	3	10	1,9
Auvergne	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
Bourgogne	0	0	1	1	0	0	0	2	0,4
Bretagne	2	3	0	2	5	6	0	18	3,5
Centre	1	0	0	1	3	1	2	8	1,6
Cham. Ardennes	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
Corse	3	2	1	0	0	0	1	7	1,4
Franche-Comté	0	0	0	0	2	1	1	4	0,8
Ile de France	31	30	23	36	40	35	56	251	48,9
Languedoc-Roussillon	2	0	2	2	4	4	1	15	2,9
Limousin	0	0	0	0	0	0	1	1	0,2
Lorraine	0	0	0	1	1	1	0	3	0,6
Midi-Pyrénées	0	1	0	0	1	1	3	6	1,2
Nord-Pas de Calais	1	1	1	1	5	1	6	16	3,1
Normandie Basse	0	0	3	1	0	0	1	5	1,0
Normandie Haute	0	0	1	1	0	2	6	10	1,9
Provence ACA	2	1	4	9	5	4	7	32	6,2
Pays de Loire	2	2	0	2	3	1	0	10	1,9
Picardie	1	0	1	0	2	2	0	6	1,2
Poitou-Charentes	1	1	0	0	5	1	0	8	1,6
Rhône-Alpes	7	5	5	14	11	14	17	73	14,2
Dép. d'outre-mer	1	0	2	1	1	1	1	7	1,4
Total	57	48	47	75	94	82	110	513	100

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

L'Ile-de-France cumule un peu plus de la moitié du total des cas MDR en 2014 (Figure 8). Cependant cette proportion a tendance à diminuer depuis 2006-2007 car elle était auparavant proche de 2/3.

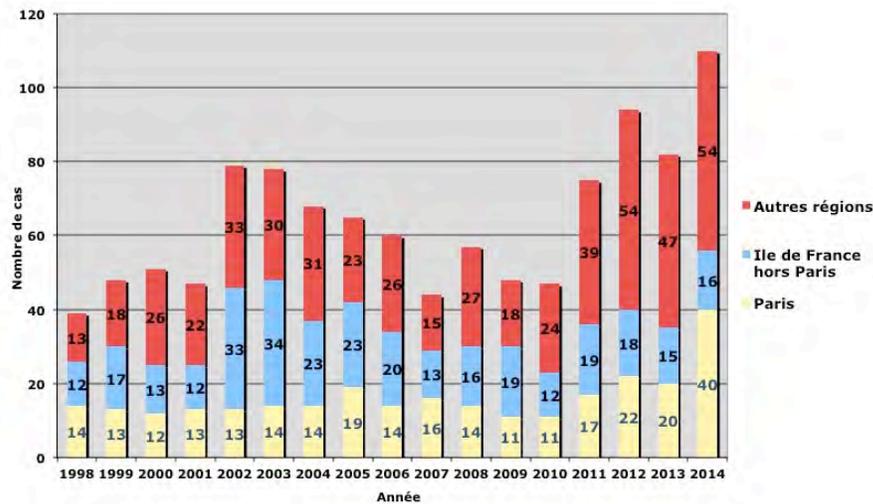


Figure 8 : Evolution 1998-2014 de la distribution régionale des cas de tuberculose à bacilles multirésistants selon la région du laboratoire signalant le cas : Paris, Ile de France, autres régions.

Les caractéristiques des cas de tuberculose MDR se sont beaucoup modifiées au cours des 22 années de la surveillance menée par le CNR-MyRMA (Tableau 24). Il faut noter **entre 1992 et 2011** une **diminution constante des proportions représentées par les hommes (74 à 58%), par les patients avec antécédents de traitement (73% à 37%), et par les patients nés en France (47% à 10%)**. L'augmentation de la proportion de patients nés à l'étranger (de 53% à 90%) était liée aux patients nés en Europe (Europe de l'est et ex-URSS) et en Afrique subsaharienne.

En **2012-14**, s'est produit, par rapport aux cinq années précédentes, un **retour à une très grande majorité de cas de sexe masculin et plus de cas nés en Europe et sans antécédents de traitement**, en raison de l'augmentation de cas de résistance primaire chez des hommes nés en Europe de l'Est et principalement en Géorgie.

Tableau 24 : Principales caractéristiques des cas MDR recensés à travers le réseau de laboratoires du CNR-MyRMA de 2006 à 2014

Caractéristiques	Périodes				
	1992-1996	1997-2001	2002-2006	2007-2011	2012-2014
N total cas recensés, dont :	215	211	351	275	289
- déjà connus CNR-MyRMA	43 (20%)	38 (18%)	40 (11%)	19 (7%)	8 (3%)
- recensés pour la 1 ^{ère} fois	172 (80%)	173 (82%)	311 (89%)	254 (92%)	281 (96%)
Parmi les cas recensés pour la 1^{ère} fois :					
Age médian	39 (16-88)	36 (3-85)	31 (0-95)	32 (0-82)	32 (0-65)
Sexe masculin	74%	65%	60%	58%	74%
Antécédents de traitement	73%	47%	38%	37%	43%
Atteinte pulmonaire	92%	91%	90%	84%	80%
Né à l'étranger, dont :	53%	69%	82%	90%	91%
- Europe	6%	8%	15%	30%	57%
- Maghreb	16%	21%	13%	7%	5%
- Afrique Sub-saharienne	17%	25%	39%	28%	19%
- Autres	14%	14%	15%	15%	10%
Examen microscopique (+)	58%	61%	62%	48%	58%
Résistance à l'éthambutol	33%	30%	35%	53%	64%
Résistance à streptomycine	54%	58%	63%	71%	77%

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Le principe est d'enregistrer les modalités de prise en charge, de réunir les informations cliniques, bactériologiques, génomiques jusqu'à l'issue de leur traitement ainsi que les informations sur le devenir des patients durant deux ans après le début du traitement.

Pour cela, il était nécessaire de développer un **système de registre permettant la gestion de l'information des dossiers de chaque cas de TB-MDR**, robuste, simple et confidentiel adapté à l'enregistrement et au suivi des données cliniques, biologiques, thérapeutiques, incluant la tolérance aux traitements des tuberculoses MDR en France.

Ce projet de registre a reçu l'appui de la DGS. Le **financement partiel a permis la conception et la réalisation du logiciel de gestion du questionnaire informatisé partageable** entre les acteurs (cliniciens en charge des patients, laboratoire, CNR-MyRMA, groupe thérapeutique du CNR-MyRMA). **L'ensemble du questionnaire, maintenant finalisé**, a été développé avec la société Epiconcept sur le logiciel Voozanoo®. **Quelques fonctionnalités restent à développer.**

L'essentiel est maintenant de tester le système en grandeur nature (cf dossier de candidature).

3.1.4. Surveillance de la tuberculose à *M. bovis*

Le CNR-MyRMA a effectué la surveillance de la tuberculose à *M. bovis* de 2012 à 2014 à travers le réseau AZAY-Mycobactéries des laboratoires de CHU. Ce réseau dispose également des données pour l'année 2011 mais, pour cette dernière année, les laboratoires n'ont pas contrôlé rétrospectivement que l'information « espèce » était toujours saisie dans la base de données, ce qui a pu aboutir, cette année-là, à une sous-estimation du nombre de cas. Il faut noter de plus que quelques laboratoires du réseau n'identifient pas les mycobactéries jusqu'à l'espèce et se limitent au complexe *M. tuberculosis*. Ceci explique que le dénominateur de la surveillance de *M. bovis* est légèrement inférieur à celui de la surveillance de la résistance aux antituberculeux. Finalement, les chiffres n'incluent pas les cas à « *M. bovis* BCG ».

En 2014, 16 cas de tuberculose à *M. bovis* ont été identifiés par les laboratoires du réseau AZAY, **soit 1,4 %** des 1179 souches pour lesquelles l'identification a été poursuivie jusqu'à l'espèce : **3 étaient nés en France (âges 54 à 87 ans, 1 Lorraine, 2 Aquitaine), 9 au Maghreb (âges 5 - 79 ans), 1 en Afrique sub-saharienne (53 ans), 1 en Europe de l'Est (41 ans) et 2 en Europe du Sud (5 ans et 72 ans).**

La proportion de *M. bovis* parmi l'ensemble des cas de tuberculose est stable, à un peu plus de 1% depuis 2011 (Tableau 25). L'extrapolation de ce % à l'ensemble des cas de tuberculose recensés en France suggère que le nombre total de cas de tuberculose à *M.bovis* serait de l'ordre de 50-60 par an.

Tableau 25. Nombre et pourcentage de tuberculose à *M. bovis* en France (réseau AZAY-Mycobactéries)

Année	2011	2012	2013	2014
Nombre de cas <i>M. bovis</i>	19	28	10	16
Nombre total de tuberculoses culture+*	1546	1530	1119	1179
Pourcentage de <i>M. bovis</i>	1,2 %	1,8 %	0,9 %	1,4%
Nombre de laboratoires**	35	37	27	28

* pour lesquelles l'identification a été poursuivie jusqu'à l'espèce

** poursuivant systématiquement l'identification jusqu'à l'espèce

3.1.5. Surveillance de la méningite tuberculeuse à travers le réseau CNR-MyRMA, tendances évolutives

Le CNR-MyRMA continue de recueillir le nombre de cas et l'incidence des méningites tuberculeuses (MTB) chez les enfants de 5 ans et moins car cela constitue un des indicateurs proposés par l'International Union Against

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) pour juger de l'impact de la politique de vaccination par le BCG. En raison de la modification de la pratique du BCG en France introduite à la fin des années 1990, cet indicateur est recueilli chaque année depuis 2000 et les données sont ensuite croisées avec celle de l'InVS pour approcher l'exhaustivité

Pour cela, le CNR-MyRMA réalise une **enquête annuelle rétrospective concernant les cas à culture positive diagnostiqués chez les enfants de ≤ 5 ans** à travers son réseau de laboratoires.

Le **Tableau 26** donne le nombre de cas de méningite à culture positive selon les années. Les données 2000 à 2011 ont été croisées avec celles de l'InVS. La confrontation des données 2012 à 2014 n'a pas encore été faite.

L'analyse des données 2000 à 2011 (*Euro Surveill* 2015;20(11):pii=21064) a permis de conclure à une absence d'impact à court terme de l'arrêt de la vaccination obligatoire et du passage à la vaccination ciblée sur les sujets à risque sur l'incidence de la méningite tuberculeuse chez les enfants de cinq ans et moins.

Toutefois, il **semble y avoir une légère augmentation du nombre de cas depuis 2012, confirmée en 2014**. La modélisation réalisée par l'InVS avant l'arrêt avait suggéré une augmentation possible du nombre de cas de méningite dans les 15 ans suivants la modification de stratégie vaccinale. Les données de la surveillance et celles de la modélisation imposent de continuer la surveillance.

Tableau 26 : Nombre de cas et incidence de la méningite à culture positive chez des enfants de 5 ans et moins de 2000 à 2014.

Année	Nombre de cas à culture positive
2000	1
2001	1
2002	1
2003	1
2004	0
2005	1
2006	2
2007	1
2008	1
2009	1
2010	1
2011	0
2012	4
2013	3
2014	3
Total	21

3.1.6. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens, de la tuberculose

Les données réunies par le réseau Azay-Mycobactéries sur la résistance primaire et secondaire du bacille tuberculeux ont été envoyées à l'ECDC et, par ce biais, à l'OMS, grâce à la collaboration ECDC-OMS région Europe. Ces données sont intégrées aux rapports de l'OMS.

Les données de génotypage des souches MDR reçues en 2015 (cf plus loin) ont été envoyées à l'ECDC (réseau ERLN-TB des CNR européens) et intégrés au rapport de l'ECDC publié en 2016 : <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/multidrug-resistant-tuberculosis-molecular-typing-surveillance.pdf>.

Le CNR-MyRMA participe régulièrement aux contrôles de qualité européens génotypiques et phénotypiques organisés par l'ECDC (cf. annexe).

3.2. Surveillance de la lèpre en France

Depuis les actions de motivation menées en 2012-2013 par le CNR-MyRMA auprès des interlocuteurs des DOM-TOM et la mission au dispensaire de léprologie de Mayotte (Mamoudzou), département français où la lèpre reste prévalente (~30 cas /an soit ~15 cas / 100 000 h), nous avons reçu de nombreuses biopsies pour suspicion de lèpre. Ceci a permis de confirmer le diagnostic **de 81 cas de lèpre entre 2013 et 2015 (26 cas en 2015)**.

Les cas découverts dans les **DOM-TOM représentent 56% du total dont 47% découverts à Mayotte** (cf tableau ci-dessous).

Les 44% restants ont été découverts en métropole chez des migrants résidant en France métropolitaine, venant de pays où la lèpre est prévalente (Indes, Sri Lanka, Pakistan, RDCongo, Mali, Sénégal, Madagascar, Comores, Brésil, Haïti...)

Nombre et répartition géographique des cas de lèpre bactériologiquement documentés identifiés en France par le CNR-MyRMA de 2013 à 2015

	N cas	Nouveaux cas	Rechutes	DOM-TOM (Mayotte)	Métropole**
2013	24	18	6	18 (13)*	6
2014	31	26	5	17 (14)*	14
2015	26	22	4	16 (11)*	10

* Autres DOM-TOM : **2013** : 4 Nouvelle Calédonie, 1 de Guadeloupe ; **2014** : 1 Réunion, 2 Tahiti ; **2015** : 2 Tahiti, 3 Nouvelle Calédonie

** Immigrants résidant en France métropolitaine, venant de pays où la lèpre est prévalente

3.3. Etude génotypique des souches de *M. tuberculosis* : détection et investigation des cas groupés

En 2015, le CNR-MyRMA a réalisé le génotypage (empreintes digitales génomiques) de **174 souches** :

- **76 souches de *M.tuberculosis* non MDR**
- **98 souches MDR**

La méthode utilisée a été l'analyse MIRU-VNTR de 24 loci.

Le contexte épidémiologique des demandes de génotypage de *M.tuberculosis* complex peut être classé de la manière suivante :

- suspicions de tuberculose nosocomiale ou de transmission dans des familles ou des collectivités, pour lesquelles le génotypage complète l'enquête épidémiologique « autour d'un cas » réalisée par les ARS et les structures de lutte antituberculeuse (CLAT),
- suspicions de rechutes (comparaison de plusieurs souches d'un même patient),
- suspicions de contamination inter-prélèvements au laboratoire,
- études systématiques des souches des cas de tuberculose à bacilles multirésistants, ce qui permet de participer au programme Euro-TB de l'ECDC.

3.3.1. Complément bactériologique des enquêtes épidémiologiques « autour d'un cas non MDR »

En 2015, le CNR-MyRMA a été sollicité pour réaliser le génotypage (empreintes digitales génomiques) de **57 souches de *M.tuberculosis* non MDR (tableau 27)** en complément d'enquêtes épidémiologiques menées sur le terrain par les CLAT.

Il s'agissait de :

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

19 situations de suspicion de transmission en collectivité (total : 44 cas)

Le génotypage a permis de confirmer la relation entre les cas dans 13 situations et, au total, pour 27 des 44 cas (61%).

Les 13 situations comportaient chacune de 2 à 3 cas bactériologiquement reliés :

- 1 fois au sein d'une école d'ingénieur (1 cas lié à 4 cas de 2010)
- 1 fois au sein d'une entreprise (2 cas liés)
- 3 fois au sein d'une famille (3 cas liés, 3 cas liés et 2 cas liés)
- 7 fois dans un contexte communautaire (amis, travail...) (1 cas lié à 3 cas déjà connus des années antérieures, 1 cas lié à 1 cas déjà connu des années antérieures, 5 fois 2 cas liés, 1 fois 3 cas liés).

5 situations de suspicion de transmission en milieu hospitalier (total : 13 cas)

Le génotypage a permis de confirmer la relation entre les cas pour 3 des 5 situations (au total pour 8 des 13 cas).

Les lignées phylogéniques en cause étaient surtout les lignées classiques nt, Haarlem et LAM.

Tableau 27 : Résultats du génotypage des souches de *M.tuberculosis* complex non MDR reçues au CNR-MyRMA en 2015, classés selon le contexte épidémiologique

Contexte	Lieu	N cas suspects	N cas reliés bactériologiquement	Lignée
Entreprise	Brest	2	2	nt
Ecole	Maisons-Alfort	1 (avec 13 cas 2012-14)	0	
	Vitry sur seine	1 (avec 5 cas 2010-11=	1 avec 4 cas 2010	nt
	Paris	2	0	
Famille	La Réunion	3	3	nt
	Rouen	2	0	
	Maisons-Alfort	2	2	nt
	Paris	3	3	nt
	Briis sous Forges	2	0	
Communautaire et famille	Brest	3	3	Haarlem
Communautaire	Paris	2	2	nt
	Strasbourg	2	2	Beijing
	Strasbourg	2	2	Uganda
	Cergy-pontoise	2	2	EAI
	Chalon sur Saône	3 (avec 3 cas 2014)	1 avec 1 cas 2014	LAM
	Morlaix	5 (avec 3 cas 2014)	. 1 avec 3 cas 2014 . 2 autres cas liés	Cameroon LAM
	Brest	2	0	
Foyer	Paris	3	0	
	Corbeil	2	0	
Personnel labo	Paris	2	2	Haarlem
Malade - malade	Amiens	4	4	nt
Malade - soignant	Départ. Lozère	2	2	S
Malade - soignant	Lille	2	0	
Malade - soignant	Besançon	3	0	
Total		57	35	

Tendances évolutives 2006-2015

Comme le montre le **Tableau 28**, le CNR-MyRMA a identifié par génotypage, en complément des enquêtes épidémiologiques menées sur le terrain par les CLAT et les CCLIN, de 2006 à 2015 :

- 6 à 21 épisodes/an de cas groupés dans les familles et dans la communauté, **soit 139 épisodes en 10 ans totalisant 375 cas (2 à 13 cas par épisode)**.

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- 1 à 5 épisodes/an de cas groupés en milieu de soins, soit **27 épisodes en 10 ans totalisant 65 cas (2 à 7 cas par épisode)**.

L'utilisation de méthodes permettant la comparaison des génotypes au cours du temps (RFLP puis MIRU-VNTR 24 loci) est particulièrement importante pour identifier des chaînes de transmission s'étendant sur plusieurs années, comme le montre l'exemple de 13 cas liés identifiés sur une période de 3 ans (2012 à 2014, cf **tableau 28**)

Tableau 28 : Résultats du génotypage des souches de *M.tuberculosis* non MDR dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques dans les familles et la communauté et en milieu de soin : études menées par le CNR-MyRMA de 2006 à 2015 (nombre d'enquêtes, de cas suspects et de cas confirmés après génotypage)

	Familles et communauté	Milieu de soin
2006	11 enquêtes (total : 28 cas suspects) 7 épisodes confirmés : total 17 cas, 2 à 4 cas/épisode	6 enquêtes (total : 23 cas suspects) 3 épisodes confirmés : total 6 cas, 2 cas/épisode
2007	19 enquêtes (total : 50 cas suspects) 6 épisodes confirmés : total 23 cas, 2 à 5 cas/épisode	3 enquêtes (total : 9 cas suspects) 1 épisode confirmé : total 2 cas
2008	24 enquêtes (total : 65 cas suspects) 16 épisodes confirmés : total 45 cas, 2 à 10 cas/épisode	7 enquêtes (total : 21 cas suspects) 4 épisodes confirmés : total 13 cas, 2 à 7 cas/épisode
2009	12 enquêtes (total : 36 cas suspects) 12 épisodes confirmés : total 34 cas, 2 à 6 cas/épisode	6 enquêtes (total : 19 cas suspects) 5 épisodes confirmés : total 12 cas, 2 à 4 cas/épisode
2010	19 enquêtes (total : 44 cas suspects) 16 épisodes confirmés : total 35 cas, 2 à 5 cas/épisode	7 enquêtes (total 15 cas suspects) 4 épisodes confirmés : total 9 cas, 2 à 3 cas/épisode
2011	22 enquêtes (total : 65 cas suspects) 17 épisodes confirmés : total 44 cas, 2 à 5 cas/épisode	4 enquêtes (total 13 cas suspects) 2 épisodes confirmés : total 4 cas, 2 cas/épisode
2012	27 enquêtes (total : 91 cas suspects) 21 épisodes confirmés : Total 64 cas, 2 à 10 cas/épisode	4 enquêtes (total 11 cas suspects) 3 épisodes confirmés : Total 6 cas, 2 cas/épisode
2013	26 enquêtes (total : 78 cas suspects) 14 épisodes confirmés : Total 50 cas, 1 à 8 cas/épisode À noter : 2 cas liés à 10 cas de 2012 ; 1 épisode de 5 cas liés à 4 cas de 2012 ; 1 épisode de 4 cas liés à 2 cas de 2012	1 enquête (total 3 cas suspects) 1 épisode confirmé de 3 cas, liés à 2 cas de 2012
2014	25 enquêtes (total : 61 cas suspects) 17 épisodes confirmés : Total 37 cas, 1 à 5 cas/épisode À noter : 1 cas lié à 10 cas de 2012 et 2 cas de 2013 ; 1 épisode de 3 cas liés à 1 cas de 2013 ; 1 épisode de 2 cas liés à 1 cas de 2013 ; 1 cas lié à 1 cas de 2013	3 enquêtes (total 19 cas suspects) 1 épisode confirmé de 2 cas liés
2015	19 enquêtes (total : 44 cas suspects) 13 épisodes confirmés : Total 26 cas, 1 à 3 cas/épisode À noter : 1 épisode de 1 cas lié à 4 cas de 2010, 1 épisode de 1 cas lié à 3 cas de 2012- 14 ; 1 épisode de 1 cas lié à 1 cas de 2014	5 enquêtes (total 13 cas suspects) 3 épisodes confirmés de 2, 2 et 4 cas liés

3.3.2. Suspensions de rechute

En 2015, le CNR-MyRMA a reçu les **souches de 2 patients** suspects de rechute de tuberculose pour génotypage. **Dans 1 cas la rechute a été confirmée.**

3.3.3. Suspicion de contamination inter-prélèvements au laboratoire

En 2015, le CNR-MyRMA a reçu **13 souches** correspondant à 6 épisodes de suspicion de contamination de laboratoire. **Le génotypage a confirmé la contamination au laboratoire pour 2 de ces 6 épisodes.** Ces 2 épisodes totalisaient 4 souches.

Tendances évolutives 2006-2015 (pour 3.3.2. et 3.3.3)

Comme le montre le **Tableau 29**, le CNR-MyRMA a **confirmé par génotypage de 2006 à 2015 :**

- 0 à 5 cas/an de rechute par an, soit **16 cas de rechute en 10 ans** sur un total de 26 suspicions (61,5%),
- 2 à 19 épisodes/an de **contamination inter-prélèvements au laboratoire** soit **95 épisodes en 10 ans** (totalisant 253 cas, 2 à 8 cas par épisodes) sur un total de 142 épisodes suspects (64%).

Ces % de confirmation élevés montrent que les indications sont bien posés, ce qui résulte de discussions préalables entre les collègues demandeurs et l'équipe du CNR-MyRMA.

Tableau 29 : Résultats du génotypage des souches de *M.tuberculosis* dans le cadre des suspicions de rechutes de tuberculose et de suspicions de contaminations de laboratoire : études menées par le CNR-MyRMA de 2006 à 2015

	Suspicion de rechutes	Suspicion de contamination de laboratoire
2006	2 suspicions 0 confirmation	25 enquêtes (total : 78 souches) 19 épisodes confirmés : total 48 cas, 2 à 4 cas /épisode
2007	1 suspicion 1 confirmation	12 enquêtes (total : 28 souches) 8 épisodes confirmés : total 18 cas, 2 à 3 cas/épisode
2008	3 suspicions 3 confirmations	11 enquêtes (total : 28 souches) 8 épisodes confirmés : total 17 cas, 2 à 3 cas/épisode
2009	5 suspicions 5 confirmations	21 enquêtes (total : 59 souches) 13 épisodes confirmés : total 36 cas 2 à 6 cas/épisode
2010	0 suspicion	8 enquêtes (total : 40 souches) 5 épisodes confirmés : total 33 cas, 2 à 8 cas/épisode
2011	3 suspicions 3 confirmations	15 enquêtes (total : 40 souches) 9 épisodes confirmés : total 25 cas 2 à 5 cas/épisode
2012	8 suspicions 2 confirmations	18 enquêtes (total : 45 souches) 13 épisodes confirmés : Total 28 cas, 2 à 3 cas/épisode
2013	0 suspicion 0 confirmation	13 enquêtes (total : 34 souches) 9 épisodes confirmés : Total 22 cas, 2 à 5 cas/épisode
2014	2 suspicions 1 confirmation	13 enquêtes (total: 30 souches) 9 épisodes confirmés : Total 22 cas, 2 à 5 cas/épisode
2015	2 suspicions 1 confirmation	6 enquêtes (total: 13 souches) 2 épisodes confirmés : Total 4 cas, 2 cas/épisode

3.3.4. Souches multirésistantes (MDR) et ultrarésistantes (XDR)

Nous avons en 2015 analysé de manière systématique 98 souches MDR reçues au CNR-MyRMA par la technique du MIRU-VNTR 24 loci. Cette technique permet à la fois une analyse phylogénique (identification des clades ou lignées ou phylums) et l'identification de cas potentiellement reliés (empreintes digitales génomique).

Sur le plan phylogénique (tableau 30), on voit qu'en 2015 la proportion de souches MDR appartenant à la lignée Beijing, qui avait plus que doublé entre 2006 (11/57, 19%) et 2013 (41/83, 49%) en relation avec l'augmentation de la part des cas qui concernait des patients nés en ex-URSS, est redescendu à 35% (34/98). Inversement, la proportion des souches des lignées LAM et T a augmenté en 2015.

Tableau 30 : Evolution de 2006 à 2015 du nombre de souches MDR rattachées à une lignée donnée (en jaune, lignées 1, 2 et 3, et en vert lignée 4)

Années	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	Total
Groupe PGG1											
EAI	2	1	0	0	0	0		2	3		8
CAS-DELHI	0	0	0	1	0	3	4	1	1	1	11
Beijing	11	9	15	17	19	23	38	41	52	34	259
West African 2	1	1	0	0	0	0	1	1			4
West African 1	0	0	0	0	0	1				1	2
Canetti	1	0	0	0	0	0					1
Groupe PGG2											
Haarlem et X	5	0	2	2	2	3	2	10	9	10	45
LAM	5	7	3	3	4	8	16	10	19	22	97
URAL	4	0	2	1	0	1	2	3	4	2	19
TUR (Ural)	1	0	0	1	0	0		1		1	4
S	2	2	3	1	3	3	3	2	1	2	22
Cameroon	2	2	3	1	3	1	3				15
Ghana (T1)	4	1	5	6	2	3	1	1	3	4	30
T1-T2-T3 et « nt »	19	14	18	19	12	19	21	11	18	20	171
Divers											
NEW-1	0	0	0	0	0	1					1
<i>M. bovis</i>	0	0	0	0	0	1				1	2
Total	57	37	51	52	45	67	91	83	110	98	691

Sur le plan de la comparaison de souches (empreintes digitales génomiques), l'analyse des souches 2015 révèle l'existence de 17 clusters pour un total de 48 des 98 souches (49%) partageant des codes MIRU 24 identiques.

La majorité des souches en cluster sont rattachées à la lignée Beijing (n = 15, 31% ; en 4 groupes contenant, respectivement, 2, 5, 6 et 2 souches) ou à la lignée LAM (n = 16, 33% ; en 4 groupes de souches de respectivement 2, 2, 9 et 2 souches, plus 1 souche reliée à 5 souches de 2012-2013). Les autres clusters sont rattachés aux lignées Haarlem (2 groupes de respectivement 3 et 2 souches, plus 1 souche reliée à 3 souches de 2009-2011), X (1 groupe de 2 souches), Ghana (1 groupe de 2 souches) et « nt » (en 3 groupes de souches de respectivement 3, 2 et 2 souches).

La technique MIRU24 n'étant pas très discriminante au sein de la lignée Beijing, le regroupement de souches en cluster au sein de cette lignée doit être analysé avec prudence avant de conclure à un lien bactériologique, et bien sûr davantage encore à un lien épidémiologique. Chaque cluster a donc été analysé en tenant compte : (a) des caractéristiques des souches (phénotype et génotype de résistance) et (b) des caractéristiques des patients

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

(pays de naissance, ville où le diagnostic a été fait, liens familiaux).

En 2015, nous avons de plus introduit une approche de typage complémentaire des souches Beijing par analyse de 4 loci supplémentaires dits « hypervariables ».

Clusters rattachés à la lignée Beijing

1 cluster de 2 souches

- 2 souches de patients originaires de Géorgie et de Tchétchénie, **distinctes** par « MIRU hypervariable complémentaire » et par les phénotypes et génotypes de résistance.

n.b. ces 2 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 47 souches isolées durant la période 2011-2015 chez des patients nés en ex-URSS.

1 cluster de 5 souches, dont :

- 1 couple de 2 souches de 2 patients originaires l'un de Géorgie et l'autre de Tchétchénie, indistinguables par « MIRU hypervariable complémentaire », mais **distinctes** par leur génotype de résistance.
- 3 souches de patients originaires de Russie, de Tchétchénie et du Nigéria, **distinctes** par « MIRU hypervariable complémentaire » et par les phénotypes et génotypes de résistance.

n.b ces 5 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 17 souches isolées de patients nés en ex-URSS durant la période 2011-2015. Il est à noter que la souche de 2015 isolée chez le patient originaire du Nigéria est indistinguishable par phénotype et génotype de résistance d'une souche de 2013 isolée chez un patient né en Géorgie mais **sans lien épidémiologique trouvé à ce jour**.

1 cluster de 6 souches , dont :

- 4 souches de patients originaires de Russie (n=2), Roumanie (n=1) et Tchétchénie (n=1), indistinguables par « MIRU hypervariable complémentaire », mais **distinctes** par les phénotypes et génotypes de résistance,
- 1 souche d'un patient originaire de Géorgie, **distincte des 4 précédentes** par « MIRU hypervariable complémentaire ».
- 1 souche d'un patient originaire de France, **distincte des souches précédentes** par « MIRU hypervariable complémentaire ». Cette souche est en revanche **indistinguishable** d'une souche de 2011 et de 2 souches de 2013 isolées de 3 autres patients originaires de Géorgie **mais sans lien épidémiologique** trouvé à ce jour.

n.b. ces 6 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 54 souches isolées durant la période 2011-2015 de patients nés en ex-URSS ou autres pays de l'Est.

1 cluster de 2 souches:

- 2 souches de 2 patients originaires de Géorgie, **distinctes** par les phénotypes et génotypes de résistance.

n.b. ces 2 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 7 souches isolées durant la période 2011-2015 de patients nés en ex-URSS. Ces 7 souches sont **distinctes** par les phénotypes et génotypes de résistance.

Clusters rattachés à la lignée LAM

1 cluster de 2 souches

- 2 souches de patients originaires de Pologne et de France, **indistinguishables**. Un **lien épidémiologique** a été prouvé entre **ces 2 souches et une souche de 2013** isolée d'un autre patient originaire de Lituanie, les 3 patients ayant partagé le même foyer d'hébergement

n.b. ces 2 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 12 souches isolées durant la période 2011-2015.

1 cluster de 2 souches

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- 2 souches de patients originaires du Maroc, **distinctes** par les phénotypes et génotypes de résistance.

1 cluster de 9 souches comprenant :

- 6 souches de patients originaires de France et de Colombie (LAM sous-type a), **indistinguables entre elles**
 - 3 souches de patients originaires de France (LAM sous-type b), **indistinguables entre elles**
- n.b. le code MIRU à 24 loci des 2 sous-types ci-dessus ne diffère que par un seul locus.

Parmi les 9 souches de ce cluster, **6** (3 du sous-type a et 3 du sous-type b) **ont un lien épidémiologique prouvé** (transmission intra-familiale).

n.b. ces 9 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 11 souches isolées durant la période 2011-2015.

1 cluster de 2 souches

- 2 souches de patients nés en France, **indistinguables**. Ces 2 souches ont **lien épidémiologique prouvé avec 1 souche de 2014** isolée d'un autre patient originaire de la République Démocratique du Congo (transmission intra-familiale)

1 souche d'un patient originaire de la République Démocratique du Congo et **indistinguishable de 5 souches de 2012-2013**, isolées de 5 autres patients originaires du **même pays**. Un **lien épidémiologique entre les 6 patients a été prouvé** (transmission intra-familiale et communautaire).

Cluster de souches Haarlem

1 cluster de 2 souches

- 2 souches de patients originaires de Tunisie et France, **indistinguables**. **Ces 2 souches sont indistinguables d'une souche de 2014** isolée d'un autre patient originaire du Portugal **mais sans lien épidémiologique** trouvé à ce jour.

n.b. ces 2 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 5 souches isolées durant la période 2011-2015.

1 cluster de 3 souches

- 2 souches de patients originaires du Maroc et France, **indistinguables** et aussi très proches (code MIRU à 24 loci ne différant que par un locus) d'une souche isolée d'un autre patient de 2015 originaire de France. Un **lien épidémiologique** a été **prouvé** entre les 3 patients (transmission intra familiale et dans le cadre du travail).

1 souche d'un patient né en France, **indistinguishable de 2 souches de 2011 et de 1 souche de 2009**, isolées de 3 autres patients, originaires d'Algérie. Un **lien épidémiologique** entre les 4 patients est **prouvé** (transmission intra-familiale).

Cluster de souches X

1 cluster de 2 souches

- 2 souches **indistinguables** issues de patients originaires du Brésil et du Portugal et **reliées à une souche isolée en 2014** d'un autre patient. Un **lien épidémiologique** a été **prouvé** entre ces 3 patients (transmission intra-familiale et communautaire).

Cluster de souches Ghana

1 cluster de 2 souches

- 2 souches de patients originaires de France (mais résidant en Côte d'Ivoire) et de Côte d'Ivoire **distinctes** par les phénotypes et génotypes de résistance.

n.b. ces 2 souches appartiennent à un cluster phylogénique de 4 souches isolées durant la période 2011-2015. Ces 4 souches sont **distinctes** par leurs phénotypes et génotypes de résistance.

Cluster de souches dites « nt »

1 cluster de 3 souches

- 3 souches de patients originaires d'Allemagne et France. Les 3 patients ont un **lien épidémiologique prouvé (transmission intra-familiale)**.

1 cluster de 2 souches

- 2 souches de patients originaires de Roumanie et de France, **distinctes** par les phénotypes et génotypes de résistance.

1 cluster de 2 souches

- 2 souches de patients originaires du Sénégal et du Maroc, **indistinctables**. Ces 2 souches appartiennent à un cluster de **9 patients identifié les années précédentes** (dit « cluster corse »). **Un lien épidémiologique a été prouvé entre tous les patients, 11 à ce jour (transmission communautaire en Corse)**

L'analyse détaillée des 17 clusters génotypiques, totalisant 48 souches MDR-XDR de 2015 et 146 souches MDR-XDR des années antérieures partageant des codes MIRU 24 identiques, a permis de confirmer un **lien bactériologique et épidémiologique pour 9 clusters, totalisant 22 cas MDR de 2015 et 20 cas MDR des années antérieures** (Tableau 31).

Les cas MDR reliés bactériologiquement et épidémiologiquement identifiés en 2015 ont concerné les lignées LAM, Harlem et nt.

Tendances évolutives 2006-2015

Le **Tableau 31** résume les **grappes de cas reliés bactériologiquement et épidémiologiquement** parmi les **souches de *M.tuberculosis* multirésistantes (MDR)** reçues au CNR-MyRMA de 2006 à 2015, identifiées par génotypage systématique.

Le nombre de **grappes de cas reliés** a augmenté de **1 à 2/an** en 2006-2009 à **5** en 2010-12, **7** en 2013, **11** en 2014, et **9** en 2015.

La grande majorité des cas reliés concernent des transmissions au sein de familles.

A noter cependant :

- **2 cas en foyer d'hébergement,**
- **1 cas en milieu de travail,**
- **6 cas en milieu communautaire et familial chez des patients nés en RD.Congo sur une période de 4 ans,**
- **11 cas en milieu professionnel et familial en Corse, sur une période de 8 ans.**

Les 3 lignées dominantes sont :

- **nt : 11 épisodes, 24 cas,**
- **Beijing : 14 épisodes, 25 cas,**
- **LAM : 10 épisodes, 26 cas.**

Les autres lignées (URAL, Ghana, Cas-Dehli, EIA, S, X) sont très rares.

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Tableau 31 : Résultats du génotypage systématique des souches de *M.tuberculosis* multirésistantes (MDR) reçues au CNR-MyRMA de 2006 à 2014 : cas reliés bactériologiquement et épidémiologiquement

	N	Cas reliés* (contexte, pays de naissance)	Lignée
2006	53	1 épisode de 2 cas (famille, Roumanie)	n.d.
2007	38	1 épisode de 4 cas (famille + voisins, Portugal) 1 épisode de 2 cas (famille, Cameroun)	LAM n.d.
2008	51	1 épisode de 3 cas (famille + milieu travail, Corse)**	nt
2009	51	1 épisode de 2 cas (famille + milieu travail, Corse)** 1 épisode de 2 cas (famille, Côte d'Ivoire)	nt Ghana
2010	45	1 épisode de 1 cas (famille + milieu travail, Corse)** 1 épisode de 2 cas (famille, Tibet) 1 épisode de 2 cas (famille, Mongolie) 1 épisode de 2 cas (famille, Viêt-Nam)	nt Beijing Beijing Beijing
2011	67	1 épisode de 3 cas (famille, Arménie) 1 épisode de 2 cas (malade vers soignant, France) 1 épisode de 3 cas (famille, Algérie) 1 épisode de 2 cas possible (famille, Roumanie) 1 épisode de 2 cas possibles (contact occasionnel, France)	Beijing Cas-Delhi nt URAL LAM
2012	92	1 épisode de 2 cas (famille, Géorgie) 1 épisode de 2 cas (famille, France) 1 épisode de 2 cas (famille, Géorgie) 1 épisode de 4 cas (famille Congo et université française)*** 1 épisode de 1 cas (famille + milieu travail, Corse)**	Beijing nt LAM LAM nt
2013	83	1 épisode de 2 cas XDR (famille, Géorgie) 1 épisode de 1 cas (famille, Géorgie) [§] 1 épisode de 1 cas (famille, Guinée) [§] 1 épisode de 1 cas (foyer, Arménie) [§] 1 épisode de 1 cas XDR (lieu de travail, France) [§] 1 épisode de 1 cas (lieu de travail, Algérie) [§] 1 épisode de 1 cas (famille, Sénégal) [§] 1 épisode de 1 cas (communautaire, RDC)*** [§]	Beijing Beijing Beijing Beijing Beijing S nt LAM
2014	111	1 épisode de 2 cas XDR (Hôpital, Géorgie et France) 1 épisode de 2 cas XDR (Hôpital, Géorgie et France) 1 épisode de 2 cas XDR (famille, Géorgie) 1 épisode de 2 cas XDR (famille, Russie) 1 épisode de 2 cas MDR (famille, Thaïlande et France) 1 épisode de 2 cas MDR (famille, France) 1 épisode de 2 cas XDR (famille, Arménie) 1 épisode de 2 cas MDR (désocialisation, France et Maroc) 1 épisode de 2 cas MDR (lien imprécis, Roumanie et Chine) 1 épisode de 2 cas MDR (famille, Roumanie) 1 épisode de 2 cas MDR (communautaire, Corse)**	Beijing Beijing Beijing Beijing EAI LAM URAL nt nt nt nt
2015	98	1 épisode de 2 cas MDR (Foyer, France et Pologne) [§] 1 épisode de 6 cas MDR (famille, France) 1 épisode de 2 cas MDR (famille, RDC) [§] 1 épisode de 1 cas MDR (famille et communauté, RDC)*** [§] 1 épisode de 3 cas MDR (famille, travail, Maroc et France) 1 épisode de 1 cas MDR (famille, France et Algérie) [§] 1 épisode de 3 cas MDR (famille, Allemagne, France) 1 épisode de 2 cas MDR (communautaire, Corse)** [§] 1 épisode de 2 cas MDR (famille, communautaire, Brésil-Portugal) [§]	LAM LAM LAM LAM Haarlem Haarlem nt nt X

* sur la base des empreintes digitales génomiques (méthodes : RFLP ou MIRU 24 loci, mutations conférant la résistance).

** appartiennent à un même cluster de 13 cas (famille et milieu de travail clos et étroit en Corse) étalés sur 8 ans.

*** appartiennent au même cluster de 6 cas (famille et communautaire) étalés sur 4 ans.

[§] cas lié(s) avec un/des cas des années précédentes

4. Alertes

Le CNR-MyRMA est intervenu en 2015 dans le cadre des alertes suivantes

4.1. Tuberculose

Le CNR-MyRMA a été en contact avec les autorités sanitaires pour 9 des 27 épisodes de tuberculose pour lesquels les études de génotypage (empreintes digitales génomiques) avaient permis de conclure, en complément des enquêtes de terrain, à des liens bactériologiques et épidémiologiques (cf section 3 « Surveillance »).

Pour ces 9 épisodes, le CNR-MyRMA a été en contact avec les ARS correspondantes et m'l'InVS, ce qui a fait l'objet de nombreux échanges téléphoniques et de 15 courriers.

4.2. Mycobactérioses

1. Suivi des signalements d'endocardites à mycobactéries non tuberculeuses avec l'institut de Veille Sanitaire, le Ministère de la santé et l'ANSM. Au total **6 cas concernant des bio-valves ont été rapportés depuis le début de l'alerte en 2011. Ces cas impliquaient différentes espèces de mycobactéries** : *M.chelonae*, *M.abscessus*, *M.lentiflavum*, *M.fuerthensis*, *M.wolinskyi*.

Les investigations n'ont pas permis d'identifier des sources de contamination liées à la production industrielle de bio-valves. Les CCLIN n'ont pas identifié de réservoir environnemental ni de défaut pouvant expliquer la contamination per-opératoire. Néanmoins, un message d'alerte sanitaire rapide (MARS) a été adressé le 18 juin 2015 à tous les services de chirurgie cardiaque et laboratoires du territoire national.

2. Alerte européenne lancée par l'ECDC en avril 2015 concernant les infections post-circulation extra-corporelle (CEC) à *M. chimaera*.

Le CNR-MyRMA et l'InVS ont, en partenariat :

- diffusé cette alerte aux chirurgiens cardiaques, cardiologues, infectiologues et laboratoires de mycobactériologie
- mené une enquête rétrospective sur les cas possibles à partir (i) du système de signalement externe des infections nosocomiales, (ii) des cas identifiés au CNR-MyRMA durant la période 2010-2015, (iii) du réseau Azay-mycobactéries et (iv) d'un questionnaire CNR-MyRMA-InVS envoyé le 24 juin 2015 aux chirurgiens et microbiologistes des établissements pratiquant des CEC (cf pièce annexe).

L'enquête a permis d'identifier, **4 cas potentiels d'infection post-CEC à *M. chimaera* survenus en France pour la période 2010- 2015**. Les souches ont été soumises à une identification moléculaire (plusieurs gènes) et par spectrométrie MaldiTof. Un des cas initialement rapporté correspondait en fait à une souche identifiée au CNR comme *M. avium*. Un autre cas, une femme qui n'a jamais eu de CEC, correspondait bien à une souche de *M.chimaera* mais n'était pas une infection (contamination lors de ponction péricardique).

Les deux cas confirmés sont des infections profondes post-opératoires :

- o cas n°1 (Ile de France) patient décédé peu après le diagnostic
- o cas n°2 (Provence Côte d'azur) a rechuté après une intervention chirurgicale pour remplacement de prothèse. Le patient est toujours en cours de traitement.

Les souches (une du cas n°1 et deux du cas n°2) sont en cours de comparaison par analyse du génome entier puisqu'il n'existe pas de marqueur moléculaire disponible pour cette espèce.

La recherche d'une source commune, probablement les appareils appelés « Heater-coolers » utilisés pour la CEC avant leur commercialisation et leur utilisation, est en cours au niveau européen.

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Enfin, nous participons à une **enquête préliminaire de faisabilité** organisée par les hôpitaux de l'AP-HP pour tester le protocole que nous avons mis au point pour la recherche de mycobactéries dans les eaux (voir § environnement) des Heater-cooler après leur décontamination.

3. Deux cas d'infections cutanées à *M. chelonae* post tatouage (CIRE Bourgogne et Franche-Comté, CCLIN Paris-Nord). L'hypothèse d'une contamination via l'utilisation d'eau du robinet par le tatoueur a été soulevée. *M. chelonae* a été trouvé par culture dans l'eau du robinet de 2 salles de tatouage du praticien. La comparaison (phénotype, REP-PCR, champ pulsé et MaldiTof) des souches des deux patients (3 souches dont 2 pour le premier patient à partir de deux lésions distinctes) avec celles de l'eau (2 souches isolées des deux salles) a montré des profils non différenciables, ce qui a conforté l'hypothèse de la source de contamination.

4. Un cas d'infection à *M. abscessus* de vésicule biliaire post cholangio-pancréatographie rétrograde par voie endoscopique chez une patiente transplantée rénale très immunodéprimée (ARS île de France). Les prélèvements environnementaux locaux ont été négatifs et il n'y a pas eu d'autre cas identifié. Il a été conseillé de revoir les bonnes pratiques de nettoyage-désinfection des endoscopes.

5. Un cas d'infection à *M. fortuitum* sur cicatrice d'implantation d'enregistreur cardiaque Holter. Un signalement a été fait à l'ARS et à l'ANSM concernant le dispositif utilisé. Ce dispositif n'a pas été mis en cause. Il a été envisagé une contamination post-opératoire par les douches effectuées au domicile du patient, mais les prélèvements environnementaux n'ont pas été faits.

5. Activités d'information, de formation et de conseil

5.1. Information

Le site internet <http://cnrmyctb.free.fr> créé en 2006 est régulièrement mis à jour :

- fiche d'information téléchargeable à fournir au CNR-MyRMA pour accompagner les demandes d'expertise bactériologiques (identification, tests de sensibilité aux antibiotiques, génotypage...),
- fiches des enquêtes annuelles sur la tuberculose multirésistante et la méningite tuberculeuse qui peuvent être, soit remplies directement en ligne sur le site, soit imprimées puis remplies manuellement et envoyées,
- résultats annuels de la surveillance de la tuberculose multirésistante et de la résistance primaire et secondaire,
- publications du CNR-MyRMA,
- mise en ligne des rapports d'activité du CNR-MyRMA, qui précisent les techniques disponibles au CNR-MyRMA
- mise en ligne des diapositives des formations organisées ou co-organisées par le CNR-MyRMA.

Le GBEA de mycobactériologie rédigé par le Groupe AZAY-mycobactéries est accessible par le site.

5.2. Formation

5.2.1. Accueil de stagiaires et missions de formation en 2015

Stagiaires

Le CNR-MyRMA a accueilli, en 2015, **7 stagiaires** pour une durée totale de **25 mois**, soit une moyenne de **2 stagiaires présents tout au long de l'année** :

- **David Guindo**, « Evaluation des performances de la version 2 du coffret MTBDRs/ dans le détection de la résistance aux antituberculeux de seconde ligne », Master 1 Paris (stage supplémentaire), **1 mois**.
- **Thomas Maitre**, « Activité résiduelle de la moxifloxacine et de la lévofloxacine sur des mutants *gyrA* et *gyrB* de *M. tuberculosis* résistant aux fluoroquinolones », Master 2 Paris 6, **6 mois**.
- **Jade Loiseau**, « évaluation du test GenoType NTM-DR », Institut Supérieur de la Santé et des bioproduits, L3 licence ingénierie et management Angers, **4 mois**.
- **Giulia La Martire**, infectiologue, (programme ESCMID observership), Public health and infectious diseases Department, Sapienza, Université de Rome, **3 semaines**.
- **Valérie Flore Donkeng Donfack**, assistante, Unité de Mycobactériologie, Centre Institut Pasteur, Yaounde, Cameroun, « formation au MGIT-TBexist » **1 mois**.
- **Preneshni Naicker** (programme ESCMID Observership), microbiologiste médical, Groote Schuur Hospital, University of Cape Town, South Africa, South Africa, **1 jour**.
- **Saida Rasoanandrasana**, interne en médecine, spécialisation en biologie médicale, Faculté de Médecine de Tananarive, Madagascar, spécialisation en bactériologie médicale, **1 an**.

Missions

Emmanuelle Cambau

- New Delhi (Inde) au siège de l'OMS Asie du Sud Est, Technical advisory group « Leprosy » de l'OMS ; avril 2015 : stratégie OMS pour la lutte contre la lèpre, préparation du programme 2016-2020.
- Bangalore (Inde), Technical advisory group « Leprosy » de l'OMS ; août 2015; stratégie OMS pour la lutte contre la lèpre, finalisation du programme 2016-2020.
- New Delhi (Inde) au siège de l'OMS Asie du Sud Est, Technical advisory group « Leprosy » de l'OMS ; novembre

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

2015 : présentation du programme 2016-2020 aux responsables régionaux OMS et managers des 17 pays les plus endémiques.

Laurent Raskine

- Moundou et Ndjamena (Tchad, réseau Esther) : installation et suivi d'un laboratoire de diagnostic de la tuberculose, 3 missions en mars, juillet et novembre 2015
- Tananarive (Madagascar), Fondation Mérieux : diagnostic bactériologique de la tuberculose et de la lèpre, juin 2015

5.2.3. Enseignement sur les mycobactéries et la tuberculose

Master M1 Santé « Microbiologie Médicale et Moléculaire », Universités Paris 6 et Paris 7
Master M1 « Santé Internationale et Pathologie Tropicale », Paris 6
Master M1 mention « Sciences technologie santé », UE Immunologie, Paris 12
Master M2 « Médicaments et autres produits de santé, écologie microbienne pathogénie des microorganismes et anti-infectieux », Paris 11
Master M2 « Microbiologie », Paris 6
DU Antibiotiques et Antibiothérapie, Université Paris 7
DIU Dermatologie infectieuse et tropicale, Université Paris 6,
DIU Antibiotique, Université Tours-Poitiers
DIU Antibiotique, Université Nice Sophia-Antipolis
DIU Stratégie thérapeutique en Pathologie Infectieuse, Université Paris 5 et 7
DIU Chimiothérapie des infections nosocomiales, Université Paris 11 et 12
DIU médecine tropicale – santé internationale
DIU Pathologies Infectieuses de la femme enceinte, du fœtus et du nouveau né, Université Paris 11
DIU « tuberculose », Université Pierre et Marie Curie, Université Libre de Strasbourg
DES Biologie Médicale, Université de Paris
DESC Maladies Infectieuses et Tropicales
DIU de pathologie moléculaire, Université Paris Diderot et Université de Nice

5.2.4. Organisation de la Journée nationale d'information sur la lutte antituberculeuse en France (CNR-MyRMA, DGS, InVS, Inpes), 19 mai 2015

Cette journée, comme les précédentes, était destinée aux professionnels des anté impliqués dans la lutte contre la tuberculose.

Thèmes abordés :

- Surveillance de la tuberculose en France : résultats et enjeux
- Place du typage moléculaire dans la lutte contre la tuberculose
- Utilisation régionale des rapports de CLAT
- Contrôle de la tuberculose et observance
- Prise en charge ambulatoire des tuberculoses complexes
- Nouvelles recommandations du Haut conseil de la santé publique pour la prise en charge des TB MDR
- Défis de prise en charge des TB MDR sur le terrain

5.3. Activités de conseil

5.3.1. Réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP) du Groupe thérapeutique du CNR-MyRMA

Le « **Groupe Thérapeutique des infections à mycobactéries de traitement difficile** » organisé par le CNR-MyRMA et dont les activités sont **centré sur les cas de tuberculose MDR, est doté d'une charte** (cf annexes) pour ses réunions qui répondent désormais au label de **Réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP), ou « TB-consilium France »**. La liste des participants présents est établie lors de chaque réunion et une bibliographie à jour est mise à la disposition des participants.

Bilan 2015

Au total **160 dossiers ont été discutés** par le Groupe thérapeutique au cours des **11 réunions de 2015, pour 112 patients**, certains patients ayant fait l'objet de plusieurs présentations pour modification de traitement (**Tableau 32**)

Il s'agissait de :

- 51 des 98 cas de tuberculose à bacilles multirésistants (MDR-XDR) identifiés en 2015. Selon leur complexité, les dossiers de ces cas ont été examinés lors de 1 à 4 réunions,
- 4 sujets contact de cas MDR pour discussion de prophylaxie,
- 40 cas MDR-XDR de 2014 (dossiers examinés de 1 à 4 fois),
- 3 cas MDR-XDR de 2013,
- 10 cas de patients présents en France mais pour lesquels la souche avait été isolée à l'étranger (Géorgie...) et n'était pas disponible. Pour ces cas, qui ne sont pas comptabilisés dans les 98 cas identifiés à partir des souches reçues au CNR, le RCP ne disposait que des résultats papiers émanant des laboratoires étrangers et des données cliniques.
- 3 cas de tuberculose compliquée non MDR,
- 1 cas de mycobactériose.

En 2015, les participants réguliers aux RCP étaient :

- l'équipe du CNR-MyRMA,
- 3 praticiens du Centre Médical de Bligny (Mathilde Jachym, Damien Le Du, Dhiba Marigot Outtandy),
- 2 pédiatres de l'hôpital Trousseau (Katarina Chadelat, Guillaume Thouvenin),
- 1 pneumologue de l'Hôpital Pitié-Salpêtrière (Bertrand Dautzenberg Pitié-Salpêtrière),
- 1 membre du SAMU social de Paris (Bénédicte Rivoire)
- 1 infectiologue de l'Hôpital Pitié-Salpêtrière (Marie Jaspard)
- 1 spécialiste des dosages antibiotiques de l'hôpital Saint-Joseph (Najoua El helali)

Tendances évolutives 2006-2015

L'activité du « Groupe thérapeutique », a augmenté de 50% de 2009 à 2011, a doublé entre 2011 et 2012, a augmenté de 30% en 2013 et s'est stabilisée en 2014 et 2015 comme le montre le Tableau 32.

Tableau 32 : Activités de conseil assurées par le « Groupe thérapeutique des infections à mycobactéries de traitement difficile » animé par le CNR-MyrMA de 2006 à 2015

	N réunions de travail	N dossiers examinés	Types de dossiers
2006	5	11	- 2 cas XDR 2006 - 9 cas MDR 2006 (dont 1 femme enceinte)
2007	5	13	- 2 cas XDR 2007 - 8 cas MDR 2007 (dont 1 enfant 18 mois) - 3 prophylaxies contacts MDR
2008	6	44	- 22 cas MDR 2008 - 19 cas MDR 2007 (suivi) - 3 prophylaxies contacts MDR
2009	8	46	- 20 cas MDR 2009 - 18 cas MDR 2008 (suivi) - 8 prophylaxies contacts MDR
2010	9	64	- 22 cas MDR 2010 - 33 cas MDR 2008-09 (suivi) - 7 cas tuberculose compliquées non MDR - 1 prophylaxie contacts MDR - 1 mycobactériose
2011	11	70	- 27 cas MDR 2011 - 40 cas MDR 2009-10 (suivi) - 3 cas tuberculose compliquées non MDR
2012	11	148	Les 148 dossiers examinés correspondent à 83 patients : - 48 cas MDR-XDR 2012 (dossiers examinés 1 à 5 fois) - 21 cas MDR 2011 (suivi)

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

			<ul style="list-style-type: none"> - 4 cas MDR 2010 (suivi) - 7 prophylaxies contacts MDR - 3 cas tuberculose compliquées non MDR
2013	14	193	Les 193 dossiers examinés correspondent à 121 patients : <ul style="list-style-type: none"> - 47 cas MDR-XDR 2013 (dossiers examinés 1 à 4 fois) - 49 cas MDR 2012 - 2 cas MDR 2011 - 5 prophylaxies contacts MDR - 18 cas tuberculoses compliquées non MDR
2014	11	174	Les 174 dossiers examinés correspondent à 113 patients : <ul style="list-style-type: none"> - 54 cas MDR-XDR 2014 (dossiers examinés 1 à 4 fois) - 27 cas MDR-XDR 2013 - 13 cas MDR-XDR 2012 - 3 cas pour lesquels il n'y a pas de souche disponible en France - 6 prophylaxies contacts MDR - 7 cas tuberculoses compliquées non MDR - 3 cas de mycobactérioses
2015	11	160	Les 160 dossiers examinés correspondent à 112 patients : <ul style="list-style-type: none"> - 51 cas MDR-XDR 2015 (dossiers examinés 1 à 4 fois) - 40 cas MDR-XDR 2014 (dossiers examinés de 1 à 4 fois) - 3 cas MDR-XDR 2013 - 10 cas pour lesquels il n'y a pas de souche disponible en France - 4 prophylaxies contacts MDR - 3 cas tuberculoses compliquées non MDR - 1 cas de mycobactériose

5.3.2. Activités de conseil « directes » (hors RCP) pour la tuberculose

Des avis ont été donnés en dehors des réunions plénières de RCP, directement lors de **1310 appels ou e-mails en 2015**. La durée totale de ces échanges correspond à **1 mois d'équivalent temps plein de médecin**. Les thèmes de ces avis sont présentés dans la **Figure 10**.

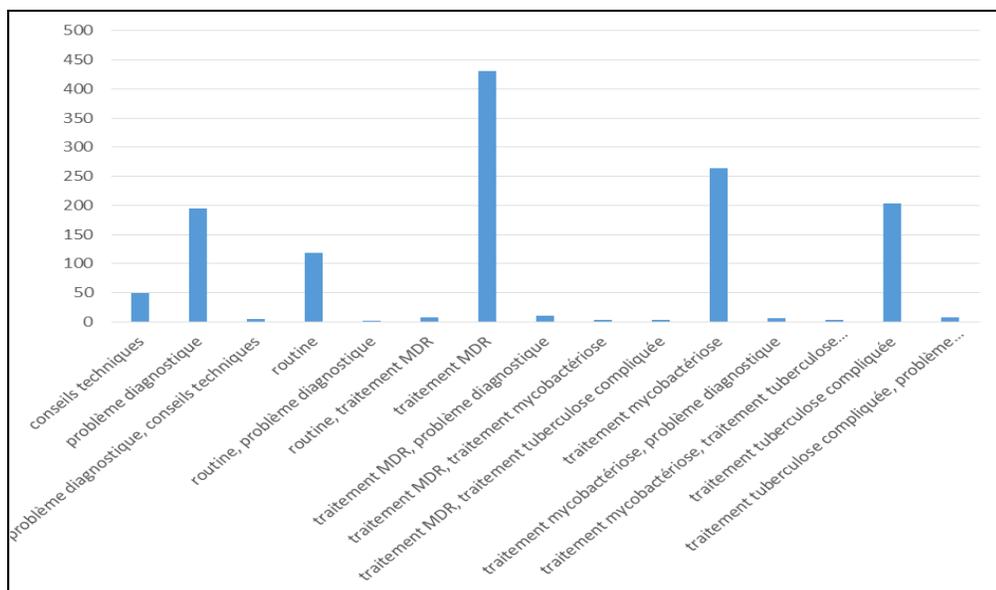


Figure 10 : Nombre d'avis « directs » donnés par le CNR-MyRMA, par téléphone ou par mail, selon le thème abordé.

Au total, que ce soit au travers des réunions plénières des RCP ou de contacts téléphoniques directs, les 4/5 des cas de tuberculose MDR-XDR identifiés en 2015 ont faits l'objet de conseils thérapeutiques par la CNR-MyRMA.

5.3.3. Conseils pour la prise en charge des infections à mycobactéries non tuberculeuses et des cas de lèpre

L'activité de conseil en matière de mycobactérioses est menée en deux temps :

- **lors de la réception de la souche**, afin (i) de s'assurer qu'il s'agit d'une infection et non d'une contamination, (ii) d'identifier les correspondants microbiologiste et clinicien, (iii) de préciser les circonstances de survenue de l'infection (communautaire ou liée aux soins) et (iv) d'apprécier le degré d'urgence de la prise en charge thérapeutique
- **lors du rendu des résultats** de l'identification de la bactérie et des tests de sensibilité, afin de discuter avec les correspondants du traitement et d'éventuelles autres actions (chirurgie, arrêt des immunodépresseurs, ablation de matériel infecté, etc....).

Le CNR-MyRMA assure aussi des activités de conseil pour les suspicions de **lèpre et d'infection à *M.ulcerans* (ulcère de Buruli)** : conditions de prélèvement, diagnostic, traitement et prise en charge.

5.3.4. Conseil et expertises auprès des autorités sanitaires, médicales et scientifiques nationales et internationales

Autorités nationales

InVS et ANSM

- Emmanuelle Cambau et Laurent Raskine ont participé, avec l'institut de Veille Sanitaire (Marion Subiros), le Ministère de la santé et l'ANSM, au suivi des signalements d'endocardites à mycobactéries non tuberculeuses.
- Emmanuelle Cambau, Nicolas Véziris, Vincent Jarlier et Laurent Raskine ont participé, avec l'institut de Veille Sanitaire (Marion Subiros), le Ministère de la santé, l'ANSM aux différentes activités menées suite à l'alerte européenne sur les infections post-circulation extra-corporelle (CEC) à *M. chimaera* (cf détails section 4 « Alertes »).

Mutuelle de Santé Agricole (MSA)

- Laurent Raskine a participé en septembre 2015 à Tours aux travaux de la Mutuelle de Santé Agricole (MSA) sur la tuberculose bovine et le risque de tuberculose chez les personnes en contact avec les bovins.

INSERM – AVIESAN (Alliance pour les sciences de la vie et de la santé)

- Emmanuelle Cambau et Vincent Jarlier sont membres du comité de pilotage de « Action Tuberculose » de L'institut Ithématique multi-organisme « Immunologie, inflammation, infectiologie et microbiologie » (ITMO I3M) depuis sa création en 2014 : élaboration des programmes des réunions scientifiques, des listings des équipes françaises impliquées en recherche sur les mycobactéries...
- Vincent Jarlier et Emmanuelle Cambau ont organisé avec Patrice Debré (conseiller scientifique de ITMO-I3M) un symposium « Traitement de la tuberculose multi-résistante » qui s'est tenue le 3 mars 2015 au siège de l'INSERM à Paris.

Autorités internationales

OMS

- Emmanuelle Cambau est membre expert du « Réseau OMS de surveillance de la résistance secondaire aux

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

antituberculeux » depuis 2008 et du « Technical Advisory Group » chargé d'élaborer le programme de lutte mondiale contre la lèpre, depuis 2013. En 2015, ce groupe a revu entièrement la stratégie de lutte contre la lèpre en l'axant sur la détection intensive des cas, en particulier chez les enfants, pour permettre de diminuer la survenue de cas avec infirmité (détection plus précoce) et de prévenir la transmission. La surveillance de la résistance aux antituberculeux est devenue un des objectifs de la stratégie..

- Emmanuelle Cambau a été nommée en 2015 responsable du groupe « Thérapeutique de la lèpre » pour la mandature 2016-2020.
- Emmanuelle Cambau a participé en 2015 à trois réunions « Technical advisory group » destinées à mettre en place le projet stratégique de l'OMS sur la lèpre pour 2016-2020 : en mars à New Delhi, en juillet à Bangalore et en Novembre à New Delhi.
- Nicolas Veziris fait partie des experts ERS/OMS pour les conseils de prise en charge des TB MDR en Europe (WHO consilium MDR-TB).

ECDC

- Emmanuelle Cambau et Vincent Jarlier sont membres du réseau européen des laboratoires nationaux de référence « Mycobactéries-Tuberculose » de la communauté européenne (**ERLN-TB**) depuis sa création en 2010 sous l'égide de l'**ECDC**. Le contrat du réseau ERLN-TB a été renouvelé par l'ECDC pour la période 2014-2018.
- Vincent Jarlier et Emmanuelle Cambau ont participé au 6ème workshop de ERLN-TB en septembre 2015 à Vilnius (Estonie).
- Emmanuelle Cambau a participé en 2015 au groupe de travail animé par l'ECDC pour répondre à l'alerte européenne sur les infections post-CEC à *M. chimaera*. Plusieurs réunions téléphoniques ont eu lieu d'avril à décembre 2015, pour élaborer le protocole d'enquête épidémiologique et microbiologique, ainsi que les recommandations pour le diagnostic des cas et l'investigation environnementale.

EMA - EUCAST

- Emmanuelle Cambau est la correspondante de l'**EMA** (European Agency for Medicine) pour l'expertise bactériologique des nouveaux antituberculeux et la détermination des concentrations critiques (en lien avec l'EUCAST).
- Emmanuelle Cambau est membre expert de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) pour la mise sur le marché et les méthodes de tests de sensibilité concernant les nouveaux antituberculeux. Elle a proposé en 2015 à EUCAST (European committee on antimicrobial susceptibility testing) la mise en place d'un sous-comité pour les mycobactéries, comité créé en avril 2016 et dont elle est responsable. Les objectifs sont (1) de mettre en place une méthode standardisée de détermination des CMI, (2) de l'adapter aux principaux antituberculeux y compris les nouvelles molécules (bédaquiline, delamanide...) et (3) mettre au point les tests phénotypiques de sensibilité et génotypique de détection de la résistance.

ESCMID

- Emmanuelle Cambau est Présidente du groupe « European Study Group for Mycobacteria (ESGMYC) », Groupe qu'elle a créé en 2010 au sein de l'European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ESCMID).
- La réunion plénière annuelle de l'ESGMYC s'est tenue durant le congrès de l'ECCMID à Copenhague en avril 2015 pour définir les actions à venir. Entre autres, il a été décidé d'organiser un « ESCMID postgraduate education course » sur le thème « Difficult to treat mycobacterial infections » qui se tiendra en septembre 2016 en partenariat avec la société de microbiologie de Croatie.
- Emmanuelle Cambau est co-organisatrice du "Guideline committee for diagnosis and treatment of respiratory infections due to nontuberculous mycobacteria" qui associe à l'ESCMID trois autres sociétés savantes internationales (American Thoracic Society, **ATS** ; European Respiratory Society, **ERS** ; Infectious Diseases Society of America, **IDSA**) pour rédiger des recommandations pour le traitement des infections respiratoires à mycobactéries non tuberculeuses. Les réunions de travail ont eu lieu en avril 2015 à Copenhague (dans le cadre du congrès de l'ECCMID) et en octobre 2015 à San Diego (dans le cadre du congrès de l'IDSA).

ISTC

- Emmanuelle Cambau est membre du comité scientifique des projets européens venant des instituts de recherche affiliés à l'International science and technology center (ISTC) des pays de l'ex URSS.
- Vincent Jarlier et Emmanuelle Cambau ont participé au Symposium organisé par l'ISTC à Annecy en novembre 2015.

6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR-MyRMA

6.1 Publications et communications

Brevet

A. Aubry. Brevet international sur de nouveaux dérivés des quinolones, déposé sous le numéro EP14173040 (2015).

Publications nationales

1. F. Reibel, E. Cambau, A. Aubry. Les anti-lépreux. *Journal Des Anti-infectieux*. 2015.
2. F. Reibel, E. Cambau, A. Aubry. La lèpre : actualités épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques (Epidemiology, diagnosis and leprosy therapeutics: an update). *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2015 : 45(9):383-93 (review)
3. Hervé C, Bergot E, Veziris N, Blanc FX. Tuberculosis in 2015: From diagnosis to the detection of multiresistant cases. *Rev Mal Respir*. 2015 Oct;32(8):784-90.
4. L. Guglielmetti, C. Bernard, F. Brossier, K. Chadelat, B. Dautzenberg, B. Henry, M. Jachym, L. Raskine, B. Rivoire, V. Jarlier, C. Andrejak, A. Aubry, J. Robert, N. Veziris. « Groupe thérapeutique des infections à mycobactéries difficiles à traiter » et prise en charge des TB MDR : bilan 2005–2013, 2015, *Rev Mal Respir*. 32 suppl : A20.
5. L. Guglielmetti, N. Veziris, C. Bernard, D. Martin, W. Sougakoff, L. Raskine, D. Antoine, P. Tattevin, C. Andrejak, V. Jarlier, J. Robert. Registre électronique pour la prise en charge, le suivi et la surveillance des cas de tuberculose à bacilles multi-résistants en France, 2015, *Rev Mal Respir*. 32 suppl : A217.
6. Mougari F, Guglielmetti L, Lopes A, Raskine L, Cambau E. Mycobactérioses non tuberculeuses hors mycobactérioses cutanées. *Revue Encyclopédie Médico Chirurgicale*, 2015, 2015. 8-038-C-10
7. L. Guglielmetti, J. Robert. Bédacilline : De l'in vitro aux essais cliniques d'un nouvel antituberculeux. *J Anti-infectieux* 2015 ; *J Antibiotiques* 2015 ; 17 :60-66.

Publications internationales

1. C. Bernard, N. Veziris, F. Brossier, W. Sougakoff, V. Jarlier, J. Robert, A. Aubry. Molecular diagnosis of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2015, Mar;59(3):1519-24.
2. F. Reibel, A. Chauffour, F. Brossier, V. Jarlier, E. Cambau, A. Aubry. New insights into the geographic distribution of *Mycobacterium leprae* SNP genotypes determined for isolates from leprosy cases diagnosed in metropolitan France and French territories. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2015, 9(10):e0004141
3. A. Renvoisé, F. Brossier, E. Galati, N. Veziris, W. Sougakoff, A. Aubry, J. Robert, E. Cambau, V. Jarlier, C. Bernard. Assessing primary and secondary resistance to clarithromycin and amikacin in infections due to *Mycobacterium avium* complex. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2015, 59(11):7153-5 (Lettre à l'éditeur)
4. Grard S, Catho G, Valour F, Bouaziz A, Perpoint T, Braun E, Biron F, Miaillhes P, Ferry T, Chidiac C, Souquet PJ, Couraud S, Lina G, Goutelle S, Veziris N, Dumitrescu O, Ader F. Linezolid in the Starter Combination for Multidrug-Resistant Tuberculosis: Time to Move on to Group Four? *Open Forum Infect Dis*. 2015 Dec 22;2(4):ofv175.
5. Brossier F, Sola C, Bernard C, Jarlier V, Veziris N, Sougakoff W. Characterization of a Clone of *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates with Mutations in KatG (A110V), EthA (Q269STOP), and the inhA Promoter (-15C→T). *J Clin Microbiol*. 2015 Sep;53(9):3104.
6. Brossier F, Sougakoff W, Bernard C, Petrou M, Adeyema K, Pham A, Amy de la Breteque D, Vallet M, Jarlier V, Sola C, Veziris N. Molecular Analysis of the embCAB Locus and embR Gene Involved in Ethambutol Resistance in Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Aug;59(8):4800-8.
7. Kibleur Y, Veziris N. French Nationwide Cohort Temporary Utilization Authorization Survey of GranuPAS(®) in MDR-TB patients. *Chemotherapy*. 2014;60(3):174-9.
8. Coolen N, Morand P, Martin C, Hubert D, Kanaan R, Chapron J, Honoré I, Dusser D, Audureau E, Veziris N, Burgel PR. Reduced risk of nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis adults receiving long-term azithromycin. *J Cyst Fibros*. 2015 Sep;14(5):594-9.
9. Catho G, Couraud S, Grard S, Bouaziz A, Sénéchal A, Valour F, Perpoint T, Braun E, Biron F, Ferry T, Chidiac C, Freymond N, Perrot E, Souquet PJ, Maury JM, Tronc F, Veziris N, Lina G, Dumitrescu O, Ader F; Lyon TB Study Group.

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- Management of emerging multidrug-resistant tuberculosis in a low-prevalence setting. Clin Microbiol Infect. 2015 May;21(5):472.e7-10.
10. Parize P, Hamelin A, Veziris N, Morand PC, Guillemain R, Lortholary O, Dupin N. Induction therapy with linezolid/clarithromycin combination for Mycobacterium chelonae skin infections in immunocompromised hosts. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2016 Jan;30(1):101-5.
 11. Guglielmetti L, Le Dû D, Jachym M, Henry B, Martin D, Caumes E, Veziris N, Métivier N, Robert J; MDR-TB Management Group of the French National Reference Center for Mycobacteria and the Physicians of the French MDR-TB Cohort. Compassionate use of bedaquiline for the treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: interim analysis of a French cohort. Clin Infect Dis. 2015 Jan 15;60(2):188-94.
 12. Jaubert J, Mougari F, Picota S, Boukerrou M, Barau G, Ali Ahmed S, Raskine L, Camuset G, Michault A, Simac C, Cambau E. A case of postoperative breast infection by Mycobacterium fortuitum associated with the hospital water supply. American Journal of Infection Control. 2015;43(4):406-8.
 13. Guglielmetti L, Mougari F, Lopes A, Raskine L, Cambau E. 2015 Human infections due to nontuberculous mycobacteria: the infectious diseases and clinical microbiology specialists' point of view. Future Microbiol. 2015 Sep;10:1467-83. doi: 10.2217/fmb.15.64. Epub 2015 Sep 7.
 14. Cambau ERush-Gerdes S, Jarlier V et all. Revised chapters on „Safety“ and on „Drugs susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis In Mastering the basis of tuberculosis control“: in the Handbook on TB diagnostic methods; ECDC Stockholm. New edition 2015.
 15. Cambau E et al. in ESGMYC-EUCAST report (www.eucast.org) 2015 : Workshop on recommendations for pharmaceutical companies regarding data required for new antituberculous drugs.
 16. F. Mechai, J. Figoni, B. Wyplosz, O. Aoun, O. Bouchaud, J. Robert. Survey of French physicians practices regarding treatment and control of transmission of smear-positive tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2015;19:205-209.
 17. Cambau E, Viveiros M, Machado D, Raskine L, Ritter C, Tortoli E, Matthys V, Hoffner S, Richter E, Perez Del Molino ML, Cirillo DM, van Soolingen D, Böttger EC. Revisiting susceptibility testing in MDR-TB by a standardized quantitative phenotypic assessment in a European multicentre study. J Antimicrob Chemother. 2015 Mar;70(3):686-96.

Publications internationales en tant que collaborateur(s) d'études multicentriques

1. Roux AL, Catherinot E, Soismier N, Heym B, Bellis G, Lemonnier L, Chiron R, Fauroux B, Le Bourgeois M, Munck A, Pin I, Sermet I, Gutierrez C, Véziris N, Jarlier V, Cambau E, Herrmann JL, Guillemot D, Gaillard JL; OMA group. Comparing Mycobacterium massiliense and Mycobacterium abscessus lung infections in cystic fibrosis patients. J Cyst Fibros. 2015 Jan;14(1):63-9.
2. Lortholary O, Roussillon C, Boucherie C, Padoin C, Chaix ML, Breton G, Rami A, Veziris N, Patey O, Caumes E, May T, Molina JM, Robert J, Tod M, Fagard C, Chêne G; ANRS 129 BKVIR Trial Group. Tenofovir DF/emtricitabine and efavirenz combination therapy for HIV infection in patients treated for tuberculosis: the ANRS 129 BKVIR trial. J Antimicrob Chemother. 2016 Mar;71(3):783-93.
3. P. Isaakidis, E. C. Casas, M. Das, X. Tseretopoulou, E. E. Ntzani, N. Ford. Treatment outcomes for HIV and MDR-TB co-infected adults and children: systematic review and meta-analysis. Int J Tuberc Lung Dis 2015;19 :969-978.

Communications nationales (sans invitation)

1. T. Maitre, A. Chauffour, G. Petitjean, N. El Helali, C. Bernard, A. Aubry, N. Veziris. Comparaison de l'activité résiduelle de la moxifloxacine à celle de la lévofloxacine dans un modèle murin d'infection à Mycobacterium tuberculosis résistant aux fluoroquinolones. 34^{ème} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse. Paris, 2015.
2. T. MAITRE, A. CHAUFFOUR, C. BERNARD, A. AUBRY, N. VEZIRIS. La moxifloxacine et la lévofloxacine conservent-elles une efficacité équivalente vis à vis des souches de Mycobacterium tuberculosis résistantes aux fluoroquinolones ? 11^{èmes} journées de recherche respiratoire, Dijon, 2015.
3. L. GUGLIELMETTI, C. BERNARD, F. BROSSIER, K. CHADELAT, B. DAUTZENBERG, B. HENRY, M. JACHYM, L. RASKINE, B. RIVOIRE, V. JARLIER, C. ANDREJAK, A. AUBRY, J. ROBERT, N. VEZIRIS. «Groupe Thérapeutique des infections à mycobactéries difficiles à traiter» et prise en charge des TB MDR : bilan 2005-2013. 19^e Congrès de Pneumologie de Langue Française. Lille, 2015
4. Jaubert J, Mougari F*, Picota S, Boukerrou M, Barau G; Ali Ahmed S, Raskine L, Camuset G, Michault A, Simac C, Cambau E. Infection post opératoire du sein à Mycobacterium fortuitum liée à l'eau du réseau hospitalier 11^{ème} Congrès National de la Société Française de Microbiologie (SFM), Paris, 2015.
5. Mougari F*, Vergnaud M, Raskine L, Moulin L, Borgey F, Jacquet C, Morice C, Dargere S, Bomp martin A, Henry L, Dufils J, Thibon P, Senechal H, Cattoir V, Cambau E. Infection cutanée à M. marinum liée à une piscine d'eau de mer en France. 11^{ème} Congrès National de la Société Française de Microbiologie (SFM), Paris, 2015

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Communications internationales (sans invitation)

1. T. Maitre, A. Chauffour, C. Bernard, A. Aubry, N. Veziris. Residual efficacy of levofloxacin versus moxifloxacin in fluoroquinolone resistant *M. tuberculosis* murine infection. 46th Union World Conference on Lung Health. 2015 (poster-discussion)
2. A. Aubry. Molecular and phenotypic detection of fluoroquinolone resistance. 46th Union World Conference on Lung Health. 2015 (poster-discussion)
3. T. MAITRE, A. CHAUFFOUR, C. BERNARD, A. AUBRY, N. VEZIRIS. Residual efficacy of levofloxacin versus moxifloxacin against fluoroquinolone resistant *M. tuberculosis* murine infection. 46th Union World Conference on Lung Health. Le Cap, Afrique du Sud, 2015.
4. GUGLIEMMETTI L, BERNARD C, BROSSIER F, CHADELAT K, DAUTZENBERG B, HENRY B, JACHYM M, RASKINE L, RIVOIRE B, ANDREJAK C, JARLIER V, AUBRY A, ROBERT J, VEZIRIS N. French tuberculosis multidisciplinary team for the management of multidrug-resistant tuberculosis: nine years of activity. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, Denmark, 2015
5. PANG S, RENVOISÉ A, CAPTON E, BERNARD C, VEZIRIS N, SOUGAKOFF W. Analysis by whole genome sequencing of multidrug-resistant isolates of the Beijing strains family of Mycobacterium tuberculosis collected in France from 2006 to 2013. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, Denmark, 2015
6. BROSSIER F, SOLA C, BERNARD C, JARLIER V, VEZIRIS N, SOUGAKOFF W. Molecular characterization of a clone of Mycobacterium tuberculosis clinical isolates with mutations katG A110V, ethA Q269STOP and inhA promoter -15C=>T. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, Denmark, 2015
7. GUGLIEMMETTI L, VEZIRIS N, BERNARD C, BROSSIER F, AUBRY A, JARLIER V, ROBERT J, LABORATORY NETWORK FOR MDR SURVEILLANCE. Predicting extensively drug-resistant tuberculosis among multidrug-resistant cases: a case-control study nested inside the French National cohort (1998-2013). 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, Denmark, 2015

Conférences nationales sur invitation

Vincent Jarlier

- Enjeux de la prise en charge des tuberculoses MDR, Symposium « Traitement de la tuberculose multi-résistante ». de l'Action coordonnée tuberculose (ITMO-I3M), INSERM, Paris. 03 mars 2015.

Emmanuelle Cambau

- Détection génotypique et phénotypique de la résistance, Symposium « Traitement de la tuberculose multi-résistante ». de l'Action coordonnée tuberculose (ITMO-I3M), INSERM, Paris. 03 mars 2015.

Nicolas Veziris

- Diagnostic rapide des résistances émergentes chez les mycobactéries. 35^{ème} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Paris, 2015.
- Tuberculose : de nombreux outils à la disposition du pneumologue. 19e Congrès de Pneumologie de Langue Française, Lille, 2015.
- Quand craindre une tuberculose résistante? Congrès de Pneumologie de Langue Française, Lille, 2015.
- Tuberculose en 2015 : retour vers le passé ? Webconférence de la SPLF, Paris, 2015.
- Intérêt et limites des modèles murins pour l'évaluation de l'activité des antimycobactériens. 4^{ème} Mycoclub, Marseille, 2015.
- Murine models for assessing the activity of antimycobacterial drugs against *M. abscessus*. Colloque de la section des agents antimicrobiens de la Société Française de Microbiologie, Paris, 2015.
- Prise en charge des tuberculose MDR en France, Symposium « Traitement de la tuberculose multi-résistante » de l'Action coordonnée tuberculose (ITMO-I3M), INSERM, Paris. 03 mars 2015.

Laurent Raskine

- Données bactériologiques sur *Mycobacterium bovis* ; Journées de l'Institut National de Médecine Agricole sur l'actualité de la Santé Sécurité en élevage, Tours, septembre 2015.

Alexandra Aubry

- Tuberculoses résistantes : mono-résistante à l'isoniazide, MDR, XDR, Service de Maladies Infectieuses, Avicenne, 2015.
- Tuberculoses résistantes, Service de Maladies Infectieuses, Villeneuve Saint Georges, 2015.

Wladimir Sougakoff

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- Origine des souches: génotypage et génomique, Symposium « Traitement de la tuberculose multi-résistante ». de l'Action coordonnée tuberculose (ITMO-I3M), INSERM, Paris. 03 mars 2015.
- Quelle place pour le typage moléculaire dans la lutte contre la tuberculose en 2015, Journée nationale d'information sur la lutte contre la tuberculose, Paris, 19 mai 2015.

Conférences internationales sur invitation

Vincent Jarlier

- Organisation of TB consillium in France. Symposium organisé par l'International science and technology center (ISTC), Annecy, novembre 2015

Emmanuelle Cambau

- PCR and direct amplification for tuberculosis diagnosis, Educational Workshop 05- The impact of diagnostics on clinical tuberculosis management ECCMID Copenhagen, avril 2015.
- Resistance of *Mycobacterium leprae*; Netherland Leprosy Relief meeting on leprosy chemoprophylaxis, Utrecht, mai 2015.
- Biological diagnosis tests for leprosy; WHO-Global Leprosy Program meeting; Bangalore, août 2015.
- Resistance to antibiotics in leprosy, WHO-Global Leprosy Program meeting; Bangalore, août 2015
- Future treatments for leprosy; WHO-Global Leprosy Program meeting; Bangalore, août 2015.
- Diagnosis of infections due to nontuberculous mycobacteria, Chinese medical association -ESCMID Post-graduate course, Beijing, novembre 2015.
- Effective strategies for the diagnosis of multidrug resistant tuberculosis. Symposium organisé par l'International science and technology center (ISTC), Annecy, novembre 2015.

Wladimir Sougakoff

- Modération de la session orale « Advances in mycobacterial infections ». European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 2015, Copenhagen, Danemark 25-28 avril 2015.

Nicolas Veziris

- Biologics and tuberculosis. Annual Meeting of the Lebanese Pulmonary Society. Beyrouth, Liban, 3-6 juin 2015.
- MDR TB : New Diagnostic Tools. Annual Meeting of the Lebanese Pulmonary Society. Beyrouth, Liban, 3-6 juin 2015.

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiènes alimentaires et environnementale

7.1. Santé animale

Nous poursuivons notre collaboration avec nos collègues des laboratoires en santé animale de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, du Muséum Nationale d'Histoire Naturelle – Ménagerie du Jardin des Plantes, du Service Vétérinaire du Zoo du Bois de Vincennes et du Laboratoire de mycobactériologie animale de l'AFFSA (Maisons-Alfort) en particulier les Dr Alexis LECU et Maria-Laura BOSCHIROLI.

Nous participons régulièrement aux réunions communes avec les vétérinaires et les responsables de l'assurance médicale des éleveurs (MSA, Dr G Deffontaines) pour les conseils et les investigations à mener (i) d'une part pour la prévention des cas de tuberculose à *M. bovis* pouvant survenir chez les éleveurs, (ii) d'autre part sur les épidémies de tuberculose bovine détectées dans les élevages et chez les animaux sauvages. Nous avons participé à la réunions de septembre 2015 à Tours

En 2015, nous avons isolé *M. fortuitum* d'une expectoration chez un orque en captivité au parc marin Marinland d'Antibes.

7.2. Environnement

Le risque de contracter une infection à mycobactéries « atypiques » à partir de l'environnement est bien connu, que ce soit lors d'activités de loisir (baignade, hydrothérapie, aquariophilie) ou lors de soins (mésothérapie, chirurgie).

Nos activités dans ce domaine se déroulent dans 2 axes : (a) développements techniques et (b) expertise lors d'événements.

7.2.1. Développements techniques

Nous étudions depuis une dizaine d'années les techniques de détection des mycobactéries dans l'environnement, en particulier les eaux de réseau potable et les eaux naturelles, en collaboration avec le LEESU (Laboratoire Eau-Environnement des Systèmes Urbains) de l'Université Paris 12, Françoise Lucas), le Centre de recherche d'expertise et de contrôle des Eaux de Paris (Laurent Moulin, Sophie Haenn). Depuis 2012, nous collaborons aussi avec le laboratoire du Pr Yann Héchard à l'Université de Poitiers, sur les interactions entre les mycobactéries et les amibes dans les eaux naturelles.

Nous avons mis au point plusieurs méthodes de détection des mycobactéries dans les eaux de réseau et naturelles) : une méthode phénotypique par filtration, concentration et culture (Radomski *et al* Appl Environ Microbiol 2010a), une méthode de PCR temps réel d'une région du gène codant l'ARN16S commune aux mycobactéries mais spécifique par rapport aux autres bactéries (Radomski *et al.* Appl Environ Microbiol 2010b ; Radomski *et al* Appl Environ Microbio 2011) et du gène *atpE*, spécifique des mycobactéries (Radomski *et al*, BMC microbiol, 2013).

Les méthodes ainsi mises au point sont régulièrement appliquées à la recherche de mycobactéries dans les eaux de réseau lors d'épidémies d'infections cutanées ou d'infections iatrogènes faisant suspecter une origine hydrique :

a) dans les eaux propres : concentration des bactéries par filtration, culture sans décontamination préalable sur milieux contenant des antibiotiques,

b) dans les eaux sales : concentration des bactéries par centrifugation, décontamination par le cétylpyridium ou la soude, culture sur milieux contenant des antibiotiques et des antifongiques à forte concentration.

Développements en 2015 :

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- étude du lien entre les mycobactéries de l'eau et les amibes, dans le cadre du travail de Thèse de sciences de Vincent Delafont (Thèse soutenue en octobre 2015 dont E. Cambau était présidente du Jury, Université de Poitiers) en se focalisant sur les conditions de vie des mycobactéries dans les amibes.
- protocole de recherche de *M. chimaera* dans l'eau de matériel tel que les blocs de refroidissement/réchauffement pour CEC afin de pouvoir l'appliquer dans le cadre de l'alerte européenne d'infections post CEC. Pour cela, nous avons, d'une part, participé à l'écriture des recommandations européennes sur les recherches environnementales de *M. chimaera* et, d'autre part, élaboré un protocole avec Eau de Paris sur la recherche de *M. chimaera* dans l'eau et son identification. Ce protocole sera validé en 2016 (voir projet).

7.2.2. Expertise lors d'évènements

Nous participons aux enquêtes menées par les autorités sanitaires (ARS) et les CCLIN (si évènement nosocomial) lors d'évènements d'infections à mycobactéries non tuberculeuses suspects d'être d'origine environnementale.

En 2015 (cf section 4 « Alertes » pour les détails) nous avons participé aux enquêtes suivantes :

1. Suivi des signalements d'endocardites à mycobactéries non tuberculeuses depuis 2011 avec l'institut de Veille Sanitaire, le Ministère de la santé et l'ANSM. Au total **6 cas concernant des bio-valves ont été rapportés depuis, impliquant différentes espèces de mycobactéries** : *chelonae*, *abscessus*, *lentiflavum*, *fuertensis*, *wolinskyi*.

2. Alerte européenne (avril 2015) sur les infections post-circulation extra-corporelle (CEC) à *M. chimaera* lancée par l'ECDC. Le CNR-MyRMA y a répondu avec l'InVS. Nous avons, d'une part, diffusée cette alerte aux chirurgiens cardiaques, cardiologues, infectiologues et laboratoires de mycobactériologie et, d'autre part, aidé l'InVS à mener une enquête rétrospective sur les cas possibles à partir (a) du système de signalement des infections nosocomiales, (b) des cas identifiés au CNR-MyRMA pour la période 2010-2015, (c) du réseau Azay-mycobactéries.

3. Deux cas d'infections cutanées à *M. chelonae* post tatouage (CIRE Bourgogne et Franche-Comté, CCLIN Paris-Nord). L'hypothèse d'une contamination via l'utilisation d'eau du robinet par le tatoueur a été soulevée, confortée par la présence de *M. chelonae* (cultures faites au CNR) dans l'eau du robinet de 2 salles de tatouage, et la comparaison des souches des patients avec celles de l'eau.

4. Un cas d'infection de bile à *M. abscessus* post cholangio-pancréatographie rétrograde par voie endoscopique chez une patiente transplantée rénale très immunodéprimée (ARS île de France). Les prélèvements environnementaux réalisés localement ont été négatifs et il n'y a pas eu d'autre cas identifié.

En 2015, nous avons procédé à l'analyse de prélèvements d'eau du cabinet d'un médecin et d'une douche du domicile d'un patient (au total 12 prélèvements), dans le cadre d'une infection sous cutanée survenue en 2014 et liée à une injection post-mésiothérapie au niveau du genou (ARS Ile de France, Enquête CLLIN Paris Nord). **Tous les points d'eau ont été positifs à *M. chelonae***. L'analyse comparative des souches souches (phénotype, REP-PCR, Champ pulsé et MaldiTof) n'a pas permis d'identifier formellement la source. Cependant, le profil le plus proche avec la souche du patient était celui d'une souche isolée d'un point d'eau du cabinet médical.

7.2.3. Evaluation de risque pour des agences de santé

- Nous avons été interrogés en 2015 par le Ministère, l'ANSM et l'InVS sur la survenue de cas d'endocardites à mycobactéries non tuberculeuses. Deux réunions organisées en mai et octobre ont abouti à la rédaction d'un Message d'alerte sanitaire rapide (MARS) le 18 juin 2015 (cf section 4 « Alertes » pour les détails)

7.3. Alimentation

L'alimentation n'a pas été jusqu'à présent impliquée dans la survenue d'infections à mycobactéries, ni dans les chaînes de transmission, sauf bien entendu dans la tuberculose à *M. bovis* (consommation de lait contaminé cru). Nous n'avons pas été jusqu'à ce jour impliqué dans la recherche de *M. bovis* dans la chaîne alimentaire.

Annexe 1 : Missions, équipes, locaux, équipements, démarche qualité

1. Missions : cahier des charges de l'appel d'offre pour la période 2012 – 2016

Le Centre national de référence des mycobactéries et de la résistance aux antituberculeux et ses éventuels laboratoires associés s'engagent à assurer les missions définies par l'arrêté du 29 novembre 2004 fixant les modalités de désignation et les missions des CNR.

Il sera particulièrement demandé au Centre national de référence des mycobactéries et de la résistance aux antituberculeux de :

1. Apporter son expertise microbiologique :

- développer et évaluer les nouvelles techniques de diagnostic de la maladie et de l'infection tuberculeuse ainsi que le diagnostic des infections à mycobactéries non tuberculeuses et à mycobactéries dites rares,
- identifier les souches de mycobactéries du complexe tuberculosis et les autres espèces de mycobactéries adressées par les laboratoires,
- étudier la sensibilité des souches mono, multi et ultra résistantes, y compris vis-à-vis des anti-infectieux non utilisés usuellement, en développant les techniques adaptées, notamment les méthodes moléculaires de diagnostic rapide,
- contribuer à l'étude des mécanismes de résistance aux antituberculeux en collaboration avec le Centre national de référence de la résistance aux antibiotiques,
- participer au contrôle de qualité des tests de sensibilité aux antituberculeux pratiqués par les laboratoires de biologie médicale,
- assurer un appui au diagnostic aux biologistes confrontés à des souches résistantes et un appui thérapeutique aux cliniciens et aux centres de lutte antituberculeuse pour l'établissement de protocoles de traitement/prophylaxie adaptés aux souches en cause.

2. Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'institut de veille sanitaire :

- contribuer à la surveillance de la méningite tuberculeuse, des mycobactérioses et de la lèpre,
- contribuer à l'investigation des cas groupés ou d'épidémies en réalisant l'identification, le typage moléculaire et l'étude de la sensibilité aux anti-infectieux des souches de mycobactéries,
- contribuer à la surveillance de la résistance primaire et secondaire aux antituberculeux et de la résistance multiple de *M. tuberculosis*, en s'appuyant sur les réseaux existants et en veillant à leur représentativité,
- participer aux systèmes de surveillance européens et internationaux.

3. Contribuer à l'alerte en signalant à l'institut de veille sanitaire tout événement inhabituel : augmentation inhabituelle de cas ou modification de leurs caractéristiques ; apparition de cas groupés ; modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), modification des profils de résistance ; apparition de souches inhabituelles ; etc.

2. Equipes

Laboratoire coordonnateur (Site hospitalier Pitié-Salpêtrière) (Tableau 33)

- 1 PU-PH chef de service, 1 PU-PH adjoint, 3 MCU-PH, et 1 PH du service de Bactériologie-Hygiène du Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière – Charles Foix et Université Paris 6 (AP-HP (1,45 ETP, financement APHP)
- **1 médecin contractuel (PHC, 1ETP) financé par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA**
- **2 Techniciens financés par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA (2 ETP)**
- 2 Techniciens (1 ETP, financement AP-HP)
- 1 Secrétaire (0,25 ETP, financement AP-HP)
- 1 cadre (0,1 ETP, financement AP-HP)
- 1 Technicien de recherche en chimiothérapie expérimentale (financement fonds associatifs)
- 1 Technicien de recherche en biologie moléculaire (financement Université Paris 6)
- 1 Animalier (financement fonds associatifs)

Des étudiants en Master 2 et en Thèse encadrés par l'équipe INSERM à laquelle est adossée le service (équipe N°13 « Mécanismes d'émergence et de diffusion de la multirésistance chez les Mycobactéries et les entérobactéries » intégrée à UMRS CR7-INSERM 1135 « Centre d'immunologie et des maladies infectieuses (CIMI) », Paris 6, site Pitié-Salpêtrière) participent aux travaux de recherche menés en collaboration avec le CNR (4 à 6 étudiants présents simultanément).

Laboratoire associé (Site hospitalier Lariboisière) (Tableau 34)

- 1 PU-PH chef de service et 1 PH, du service de Bactériologie du Groupe Hospitalier Saint Louis - Lariboisière et Université Paris 7 (0,35 ETP, financement AP-HP)
- **1 praticien attaché (0,1 ETP) financé par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA**
- **1 Technicien financé par les crédits spécifiques du CNR-MyRMA (1 ETP)**
- 2 Techniciens (0,5 ETP, financement AP-HP)

Des étudiants en Master 2 et en Thèse encadrés par les équipes INSERM à laquelle est adossée le service (UMR1137 IAME, Paris 7) participent aux travaux de recherche menés en collaboration avec le CNR (1 à 2 étudiants présents simultanément).

Tableau 34 : Liste nominative des personnels participants aux activités du laboratoire coordonnateur (site Pitié) et du laboratoire associés (site Lariboisière) : fonction, temps dédié au CNR-MyRMA en 2013 (en ETP), qualification, statut, site et organisme payeur

Nom	Prénom	Fonction	ETP	Qualification	Statut	Site	Organisme payeur
Jarlier	Vincent	Directeur	0,25	Médecin	PU-PH	Pitié	AP-HP
Cambau	Emmanuelle	Respons. labo. associé	0,15	Médecin biol.	PU-PH	Lariboisière	AP-HP
Veziris	Nicolas	Microbio/pneumologue	0,5	Médecin	MCU-PH	Pitié	AP-HP
Bernard	Christine	Microbiologiste	1	Pharm. biol.	PH contr.	Pitié	INVS
Raskine	Laurent	Microbiologiste	0,2	Médecin biol.	PH	Lariboisière	AP-HP
Aubry	Alexandra	Microbiologiste	0,1	Médecin biol.	MCU-PH	Pitié	AP-HP
Brossier	Florence	Microbiologiste	0,1	Pharm. biol.	PH	Pitié	AP-HP
Sougakoff	Wladimir	Microbiologiste	0,25	Scientifique	MCU-PH	Pitié	AP-HP
Robert	Jérôme	Epidémiologiste	0,25	Médecin	PU-PH	Pitié	AP-HP
Benmansour	Hanah	Microbiologiste	0,1	Pharm. biol	P Att	Lariboisière	INVS

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Golamhosem	Shenaz	Technicienne	0,5	Technicienne	Tech	Pitié	AP-HP
Millot	Gérald	Technicien	0,5	Technicien	Tech	Pitié	AP-HP
Bekhti	Meriem	Technicienne	1	Technicienne	Tech	Pitié	<u>INVS</u>
Gandy	Lucas	Technicien	1	Technicienne	Tech	Pitié	<u>INVS</u>
Charlier	Véronique	Technicienne	0,25	Technicienne	Tech	Lariboisière	AP-HP
Brisilliat	Christine	Technicienne	0,25	Technicienne	Tech	Lariboisière	AP-HP
Kumanski	Sylvain	Technicien	1	Technicien	Tech	Lariboisière	<u>InVS</u>
Catalano	Francesca	Secrétaire	0,25	Secrétaire		Pitié	AP-HP
Venet	Lydia	Cadre	0,1	Cadre		Pitié	AP-HP

3. Locaux

Laboratoire coordonnateur (Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière)

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, 2^e étage du bâtiment de la Pharmacie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, site Pitié-Salpêtrière, superficie totale du laboratoire 1000 m².

Les activités se déroulent :

- dans le laboratoire de sécurité L3 (150 m²) consacré à la mycobactériologie, à la manipulation des bactéries de classe 3 (salmonelles, brucelles...) et aux alertes Biotox.
- dans les pièces adjacentes (100 m²) consacrées aux manipulations des bactéries inactivées (coloration, microscopie fluorescente) et du génome (amplification génique, sondes moléculaires, électrophorèse, séquençage...).

La gestion informatique des réseaux partenaires, ainsi que l'animalerie de chimiothérapie expérimentale, sont localisées dans la partie universitaire du laboratoire, au 5^e étage de la Faculté de Médecine PM Curie, site Pitié-Salpêtrière, située sur le même campus.

Laboratoire associé (Groupe hospitalier St Louis-Lariboisière)

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Groupe Hospitalier Saint Louis-Lariboisière-Fernand Widal, site Lariboisière, situé au 2^e étage du bâtiment CIVIALE, superficie totale du laboratoire 964 m².

Les activités du CNR se déroulent :

- dans laboratoire de sécurité L3 (construction modulaire de 50 m² à l'extérieur du bâtiment Civiale).
- dans des pièces (39 m²) consacrées aux manipulations des bactéries inactivées (coloration, microscopie fluorescente) et du génome (amplification génique, sondes moléculaires, électrophorèse, séquençage...).

4. Principaux équipements

Laboratoire coordonnateur (Site hospitalier Pitié-Salpêtrière)

Laboratoire de sécurité L3 et ses annexes

- équipements pour le traitement des prélèvements médicaux, cultures en milieux solides et liquides,
- équipements pour antibiogrammes en milieu solide et liquide,
- équipements pour l'identification phénotypique classique,
- équipement pour l'extraction d'acides nucléiques (cf. ci-dessous),
- 5 postes de sécurité microbiologiques,
- 6 incubateurs,
- automate de culture en milieu liquide,
- autoclave double entrées
- caméra de lecture de plaque sensible et logiciel de lecture et d'interprétation VIZION@,

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- microscopes à fluorescence lampe vapeur de mercure et lampe LED, microscopes classiques,
- sorbonne pour la coloration de Ziehl-Neelsen,
- colorateur de lames,
- coagulateur pour la préparation des milieux de Lowenstein-Jensen.

Biologie moléculaire

- extracteur d'acide nucléique de sécurité (pression négative) Roche MagNA Pure,
- extracteur d'acide nucléique automatisé QIAcube (QUIAGEN),
- 2 amplificateurs d'ADN classiques pour PCR (Biorad iCycler, Biorad DNAEngine),
- 2 amplificateurs automatisés pour PCR « en temps réel » (MJResearch PTC-200, ABI7000),
- matériel d'hybridation manuel TwinCubator pour les bandelettes Hain,
- automate d'hybridation GT-Blot 48 pour les bandelettes Hain,
- séquenceurs ADN : un monocapillaire ABI 310 (dans le laboratoire) ; un 16 capillaires ABI (sur plateforme de site dédiée aux analyses de biologie moléculaire),
- matériel d'électrophorèse, de transfert sur membrane et d'hybridation des membranes pour génotypage par la méthode RFLP,
- équipement d'électrophorèse pour génotypage par champ pulsé Biorad CEF-DR2,
- logiciel Gel Compar pour l'analyse des profils de génotypage,
- 1 imageur Biorad Chemidoc-XRS pour l'analyse des gels d'électrophorèse sous UV et des membranes d'hybridation en chimioluminescence,
- 1 spectrophotomètre pour la quantification des acides nucléiques Pharmacia Gene Quant II,
- matériel d'hybridation/lecture Accuprobe (BioMérieux).

Equipements accessibles sur la plate-forme génomique de la Pitié-Salpêtrière

- microdosage des acides nucléiques sur spectrophotomètre Nanodrop,
- PCR temps réel haute capacité MX4000 et MX3005,
- bioanalyseur 2100 Agilent pour analyse des acides nucléiques sur puce,
- séquenceur d'ADN Applied Biosystem 16 capillaires,
- plateforme de séquençage haut-débit (ILLUMINA HiSeq 2000),
- plateforme de génotypage de SNP à haut débit « ILLUMINA » (puces BeadChips),
- scanner pour lecture des lames microarrays hybridées avec sondes Cy3/Cy5,
- 3 spectromètres microplaques 384,
- spectromètre de masse Maldi-tof,
- spectromètre de masse NanoLC-ESI-MS/MS,
- robot de fractionnement Freedom EVO150 (Tecan).

Autres équipements

- 1 Spectromètre de masse de type MALDI-TOF (Microflex, Bruker),

Animalerie (capacité totale : 2000 à 2500 souris) :

- 4 isolateurs rigides et 8 armoires pour maintenance des animaux infectés en pression négative,
- 4 isolateurs souples pour maintenance des animaux immunodéficients,
- 2 postes de sécurité microbiologique pour les dissections et cultures,
- 4 étuves,
- autoclave pour destruction des déchets,
- accès à l'animalerie A3 de la faculté de médecine Pierre-et-Marie Curie.

Laboratoire associé (Site hospitalier Lariboisière)

Laboratoire de sécurité L3

- Equipement pour le traitement des échantillons médicaux,
- 3 postes de sécurité microbiologique,
- 3 incubateurs (30 et 37°C) pour milieux solides et liquides,
- 3 automates de culture en milieu liquide (MGIT960TB®, Becton-Dickinson) et 1 module Hémoculture Mycobactérie (BacTAlert®, Mérieux),

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

- Équipement complet de mycobactériologie médicale classique (réactifs de décontamination, centrifugeuses, coloration auramine et Ziehl, microscopes à fluorescence...),
- Matériel et équipement pour identification rapide phénotypique,
- Équipement et automate pour antibiogramme en milieu liquide MGIT,
- 1 module de suivi et d'analyse de la sensibilité des isolats aux antituberculeux de 1ère et seconde ligne (TB eXiST BD),
- 1 Système de lecture de microplaques Sensititre et logiciel de lecture et d'interprétation VIZION®.

Biologie Moléculaire

- 2 extracteurs automatiques d'acide nucléique (EZ1 QIAGEN et Arrow NORDIAG),
- 1 spectrophotomètre pour la quantification des acides nucléiques (Heliosy Thermos),
- 1 spectrophotomètre UV-Visible NanoDrop 1000,
- 5 amplificateurs d'ADN classiques pour PCR,
- 1 amplificateur automatisé pour PCR « en temps réel » (Cepheid 4 modules),
- 2 amplificateurs pour PCR « en temps réel » (Rotor Gene et Smart Cycler),
- 1 automate d'hybridation GT-Blot 20 pour les bandelettes Hain Biocentric,
- 1 système d'hybridation manuelle TwinCubator,
- 2 séquenceurs 16 capillaires Applied Biosystem d'accès facile (commun à plusieurs laboratoires),
- matériel d'électrophorèse, de transfert sur membrane et d'hybridation des membranes pour génotypage par la méthode RFLP,
- 1 équipement d'électrophorèse pour génotypage par champ pulsé (Pharmacia LKB Gene Navigator),
- 1 imageur (GelDoc XR Biorad) pour l'analyse des gels d'électrophorèse sous UV,
- 1 automate pour électrophorèse capillaire d'ADN (Agilent) commun à plusieurs laboratoires pour test de génotypage Diversilab®,
- 1 séquenceur GS Junior 454 (Roche)

Autres équipements

- 1 Spectromètre de masse de type MALDI-TOF (Microflex, Bruker),
- Automate d'immuno-analyse ETIMAX2000, pour le dosage d'interféron gamma par le test Quantiféron® Gold in Tube (Cellestis),
- 1 autoclave de destruction.

5. Démarche qualité

Guide de bonne exécution des analyses (GBEA)

Le groupe de mycobactériologistes des CHU (« AZAY mycobactéries ») a rédigé un GBEA commun disponible sur le site « azaymycobacteries.free.fr » et sur www.microbes-edu.fr, et accessibles via le site <http://CNR-MyRMAMyctb.free.fr>. Ce guide comporte les chapitres suivants :

Mode opératoire : Préparation technique, Décontamination des prélèvements, Colorations et Examen microscopique, Culture des mycobactéries sur milieux spécifiques, Identification des mycobactéries par méthodes phénotypiques et génotypiques, Antibiogramme des mycobactéries par méthodes phénotypiques et génotypiques, Amplification génique pour diagnostic.

Procédure : Les mycobactéries, Hygiène et sécurité, Contrôle de qualité, Elimination des déchets, Biologie moléculaire, Souchothèque.

Procédure annexe : Prélèvements.

Ce groupe s'est aussi engagé dans la rédaction de **recommandations de Juste Prescription Biologique** des examens de mycobactériologie, sous la responsabilité conjointe de C. Martin et E. Cambau.

Accréditation

Le CNR-MyRMA s'est inscrit dans la démarche d'accréditation des laboratoires (norme NF EN ISO 15189) par l'intermédiaire des groupes hospitaliers auxquels le laboratoire coordonnateur et le laboratoire associé

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

appartiennent, respectivement le Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière – Charles Foix (AP-HP) et le Groupe Hospitalier Saint Louis-Lariboisière-Fernand Widal (AP-HP). Le CNR-MyRMA participe au travers de ses membres à plusieurs groupes de travail mis en place pour l'accréditation de l'ensemble des laboratoires: (1) gestion des non-conformités, (2) contractualisation prescripteurs/ laboratoires (3) infrastructures et locaux. Ces groupes de travail incluent des membres du CNR-MyRMA et, plus largement, les personnels des laboratoires hébergeant le CNR.

Les portées initiales enclenchées en 2014-15 et qui feront l'objet d'une inspection COFRAC en 2016 comprennent :

- Les techniques de colorations
- L'examen microscopique après coloration à l'auramine
- L'identification moléculaire des mycobactéries par hybridation inversée
- La détection moléculaire des mutations de résistance
- Les tests IGRA
- Les hémocultures
- l'ensemble des étapes pré- et post- analytiques qui sont communes à toutes les techniques.

Chacun des deux laboratoires (coordonnateur et associé) du CNR-MyRMA est, tout au long du processus qui s'étalera sur 6 ans, accrédité à travers l'ensemble des laboratoires du groupe hospitalier auquel il appartient (« pôle biologie médicale »), ensemble considéré par le COFRAC comme un laboratoire unique (cf pièces jointes dossier candidature 2017-21).

Participation à des contrôles de qualité externe

Chacun des 2 laboratoires du CNR-MyRMA (coordonnateur et associé) a participé en 2015 au contrôle de qualité externe (CQE) des différentes étapes du diagnostic de la tuberculose organisés dans le cadre du réseau européen de l'ECDC ERLNET-TB par la société Instand (Dusseldorf, Allemagne). Ce CQE comportait :

- 5 échantillons pour l'examen microscopique
- 5 échantillons pour la culture
- 5 échantillons pour le diagnostic génotypique de tuberculose (PCR)
- 5 souches de mycobactéries non tuberculeuses pour identification
- 5 souches pour les tests de sensibilité génotypiques à 7 antituberculeux, soit 35 tests
- 5 souches pour les tests de sensibilité phénotypiques à 11 antituberculeux soit 55 tests

Au total, ce CQE représentait 110 tests à effectuer dans chacun des 2 laboratoires.

Les résultats obtenus étaient conformes dans chacun des 2 laboratoires qui ont donc reçu un **certificat de qualité**.

Le CNR-MyRMA participe aux contrôles de qualité européens de génotypage MIRU-VNTR en tant que membre du Global Network for the Molecular Surveillance of Multidrug Resistant Tuberculosis organisé par D. van Soolingen (RIVM, Bilthoven, Pays-Bas). Lors de chaque contrôle, une trentaine d'extraits d'ADN de *M.tuberculosis* sont analysés par la méthode MIRU-VNTR 24.

- Les résultats du 1er CQE réalisé en **2010** ont été publiés en 2012 (*de Beer JL et al. J Clin Microbiol. 2012 Mar;50(3):662-669*).
- Les résultats du 2ème CQE réalisé en **2011** ont été publiés en 2014 (*de Beer JL et al. Int J Tuberc Lung Dis. 2014 May;18(5):594-600*).
- 3ème CQE en **2013**
- 4ème CQE en **2014**
- en raison d'une erreur d'adressage, nous n'avons pas reçu les échantillons du 5^{ème} CQE organisé en 2015.

Les résultats obtenus par le CNR-MyRMA lors des 4 premiers CQE étaient très bons.

Contrôles de qualité externe organisés par le CNR-MyRMA pour les laboratoires du réseau « AZAY-mycobactéries »

Nous organisons depuis 2003, tous les 2 à 3 ans, un contrôle de qualité externe (CQE) des tests de sensibilité aux antituberculeux dans le cadre de l'enquête sur la résistance primaire et secondaire effectuée chaque année par les laboratoires universitaires du réseau Azay-mycobactéries (cf « Surveillance de la résistance primaire et

secondaire »).

Un CQE a été organisé en 2015 : 3 souches de *M. tuberculosis* complex ont été **envoyées à 37 laboratoires** pour **mesure de la sensibilité** aux 4 antibiotiques de 1^{ère} ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol, streptomycine). Globalement, **99% des résultats étaient conformes**. Les résultats étaient tous conformes pour 34/37 laboratoires, 2 laboratoires ayant fourni 91% et 73% de résultats conformes, respectivement.

Le détail des résultats est présenté dans le **tableau 35**.

Tableau 35 : % de résultats conformes obtenus par les 37 laboratoires du réseau AZAY lors du CQE sur la sensibilité à l'isoniazide, la rifampicine, l'éthambutol, et la streptomycine organisé par le CNR-MyRMA en 2015.

Antibiotique	RIF	INH	ETH	SM
Résultats conformes (%)	109/111 (98%)	110/111 (99%)	110/111 (99%)	73/74 (99%)
Faux résistants	1	1	1	0
Faux sensibles	1	0	0	1

Contrôles de qualité externe nationaux

Le CNR-MyRMA a conçu et commencé à planifier en 2015, à la demande de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), un contrôle de qualité portant sur l'identification des mycobactéries et les tests de sensibilité de *M. tuberculosis* complex **destiné à l'ensemble des laboratoires pratiquant la mycobactériologie en France**. Ce contrôle sera co-organisé par le CNR-MyRMA et l'ANSM en 2016.

Traçabilité

La traçabilité concerne principalement les échanges entre les laboratoires demandeurs et les 2 laboratoires du CNR-MyRMA et les échanges entre le laboratoire coordonnateur et le laboratoire associé.

Traçabilité des demandes et des résultats

Les feuilles de demande d'expertise et leurs éventuelles pièces jointes (compte rendu d'un dossier patient, feuille des résultats obtenus dans le laboratoire demandeur) étaient archivées telles quelles jusqu'en novembre 2012, date à laquelle le nouveau système de gestion de laboratoire (GLIMS, Société MIPS) a été mis en place. Depuis, les demandes et pièces jointes sont saisies et archivées via un scanner spécifique (ScanBac® Ordo) dans le SGL du laboratoire coordonnateur. Une copie des demandes transmises au laboratoire associé est conservée par le laboratoire coordonnateur.

La traçabilité des rendus de résultats est assurée pour les paramètres suivants : identité des correspondants (biologiste, clinicien, autorité sanitaire), mode de rendu (téléphone, fax, email, courrier), date et heure, résultats intermédiaires rendus en urgence.

Les données sont conservées pendant au moins 5 ans pour les résultats intermédiaires (listes de travail, cahiers de paillasse) et pendant au moins 20 ans pour les résultats définitifs. A l'avenir, une sauvegarde informatique automatisée sera assurée par les services informatiques centraux de l'AP-HP.

Traçabilité des matériels reçus et conservés

Les tubes de conservation des souches, prélèvements ou autres (extrait ADN par exemple) sont numérotés et classés.

Traçabilité des réunions de travail

Chaque réunion du « Groupe thérapeutique » et chaque réunion des membres du CNR-MyRMA sont tracées par une feuille de présence et un compte rendu écrit.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR-MyRMA

1. Techniques de référence disponibles au CNR-MyRMA

1.1. Techniques phénotypiques

Techniques de diagnostic

- Microscopie,
- Cultures en milieux solides et liquides.

Techniques d'identification

- Techniques phénotypiques classiques (caractères cultureux, morphologiques et biochimiques),
- Immunochromatographie (AgMPT64®, Eurobio...),
- Spectrométrie de masse en MALDI-TOF

Techniques phénotypiques d'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

Techniques de routine

- Antibiogrammes par la méthode de référence (méthode des proportions) en milieu de L-Jensen industriels pour *M.tuberculosis*. Les milieux pour tester la sensibilité aux antibiotiques de 2ème ligne (kanamycine, amikacine, capréomycine, fluoroquinolones, thioamides, cyclosérine, PAS, linézolide et thiacétazone) n'étant pas commercialisés, ils sont préparés et contrôlés par le CNR-MyRMA,
- Antibiogrammes par la méthode de référence (méthode des proportions) sur milieu liquide (MGIT960 TB),
- Antibiogrammes par la méthode des proportions pour *M.kansasii*, sur milieux de L.Jensen industriels (isoniazide, éthambutol) ou fabriqués et contrôlés au laboratoire (rifampicine) car les milieux industriels contiennent non pas de la rifampicine vraie mais de la rifamycine SV, dérivé auquel *M.kansasii* est naturellement résistant,
- Détermination des CMI en milieu de L. Jensen (clarithromycine, fluoroquinolones, éthambutol, rifabutine, amikacine) pour les mycobactéries à croissance lente. Ces milieux, non disponibles dans le commerce, sont préparés et contrôlés au laboratoire
- Détermination des CMI en milieu liquide MGIT avec utilisation du logiciel TBEXiST appliqué à une détermination semi-quantitative de la résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux
- Détermination des CMI en milieu liquide sur microplaque (Trek®) pour les mycobactéries à croissance lente et rapide (imipénème, cefoxitine, amikacine, streptomycine, tobramycine, clarithromycine, ciprofloxacine, moxifloxacine, linézolide, minocycline, docycycline, tigecycline, triméthoprime-sulfaméthoxazole, rifampicine, rifabutine, isoniazide, éthionamide, éthambutol),
- Détermination des CMI par bandelettes E-test pour les mycobactéries à croissance rapide,
- Pour *M.leprae* : inoculation dans le coussinet plantaire de la souris (Swiss et Nude) et observation de la croissance bactérienne chez les animaux traités avec les antibiotiques, par comparaison avec des animaux témoins non traités. Le résultat est disponible après 8 à 12 mois.

Techniques pour l'évaluation de l'activité de nouveaux antibiotiques

- Méthodes in vitro : CMI, étude de la bactériostase (MGIT avec module d'analyse TB eXiST BD), bactéricidie, inhibition des fonctions enzymatiques de l'ADN gyrase (IC₅₀) pour les fluoroquinolones,
- Méthodes in vivo : modèles de chimiothérapie expérimentale chez la souris pour *M.tuberculosis*, *M.leprae*, *M.ulcerans*, *M.avium*, *M.abscessus*.

1.2. Techniques génotypiques

Les techniques génotypiques utilisées sont listées dans le **Tableau 36**, séparément pour l'identification, les tests de

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

sensibilité aux antimycobactériens (mutations impliquées dans la résistance acquise) et le génoypage (phylogénie et empreintes digitales génomiques).

Tableau 36 : Techniques génotypiques disponibles au CNR-MyRMA

a. Identification des espèces

Mycobactéries	Techniques commercialisées	Séquençage
<i>M. tuberculosis</i> complex	Cepheid Xpert MTB/RIF Génotype MTB-DR \textit{plus}^* Génotype MTB-DRsl* Real Accurate Mycobacterium tuberculosis (Patho Finder)	
Espèces au sein du complexe <i>tuberculosis</i>	MTBC* MIRU-VNTR 2	
Mycobactéries non tuberculeuses "courantes"	Génotype CM*	
Mycobactéries non tuberculeuses "rares"	Génotype AS*	
Toutes		<i>rpoB</i> , <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> <i>rrs</i> , <i>rrl</i> Intergen.16s-23s(ITS) <i>hsp65</i>
<i>M. abscessus</i> complex		<i>Erm(41)</i>
<i>M. ulcerans</i>		IS2404
<i>M. leprae</i>	Génotype Leprae-DR*	RLEP

* Gamme Genotype, Hain Lifescience

b. Détection de mutations déterminant la résistance acquise aux antimycobactériens

Mycobactéries	Techniques commercialisées	Séquençage	Antibiotiques
<i>M. tuberculosis</i> complex	CepheidXpert RIF Gén. MTB-DR \textit{plus}^* Génotype MTB-DRsl*	<i>rpoB</i> <i>katG</i> <i>inhA</i> <i>pncA</i> <i>ethA</i> <i>ethR</i> <i>rrs</i> , <i>eis</i> , <i>tlyA</i> <i>rpsL</i> <i>embB</i> , <i>embC-A</i> <i>rrl</i> , <i>rpIC</i> <i>atpE</i> , <i>Rv0678</i>	rifampicine rifampicine, isoniazide, éthionamide amikacine, kanamycine, capréomycine, éthambutol, fluoroquinolones rifampicine isoniazide isoniazide, éthionamide pyrazinamide éthionamide éthionamide amikacine, kanamycine, capréomycine, streptomycine streptomycine éthambutol linezolide bédaquiline
<i>M. abscessus</i> complex		<i>erm(41)</i> , <i>rrl</i>	macrolides
Mycobactéries atypiques <i>M. leprae</i>	Génotype NTM-DR* Leprae-DR*	<i>rrl</i>	macrolides rifampicine, fluoroquinolones, dapsonne
Toutes		<i>rpoB</i> <i>gyrA</i> <i>gyrB</i> <i>rrs</i>	rifampicine fluoroquinolones luoroquinolones aminosides

* Gamme Genotype, Hain Lifescience

c. Génotypage (phylogénie et empreintes digitales génomiques)

Mycobactéries	Techniques commercialisées	Techniques manuelles
<i>M. tuberculosis</i> complex	MIRU-VNTR 24 loci MIRU 4 loci hypervariables si souche Beijing	RFLP IS6110**
Mycobactéries non tuberculeuses	Diversilab	Electrophorèse en champ pulsé

d. Séquençage génome entier (« haut débit »)

Mycobactéries	Techniques
Toutes	ILLUMINA MiSeq Roche GS Junior

2. Marqueurs épidémiologiques disponibles

- **Marqueurs de résistance** (mutations chromosomiques) pour *M.tuberculosis*
- **Marqueurs utilisés pour le typage** (phylogénie et empreintes digitales) :
 - o MIRU-VNTR 24 loci (+les 4 loci supplémentaires hypervariables spécifiques pour les souches Beijing) pour *M.tuberculosis*
 - o REP-PCR pour les mycobactéries non tuberculeuses
 - o Spectrométrie de masse MALDI-TOF pour les mycobactéries non tuberculeuses
 - o Electrophorèse en champ pulsé pour les mycobactéries non tuberculeuses
 - o SNP 14676, 1642875, 2935685 pour *M.leprae*
- **Séquençage génome** entier pour toutes les mycobactéries

3. Collections de souches de référence

Description des souches

Nous mettons à disposition des laboratoires, des souches de *M.tuberculosis* résistantes aux antituberculeux de première ligne. Pour répondre aux besoins dans ce domaine et dans l'objectif d'aider à rationaliser les tests de sensibilité aux antituberculeux, mais aussi avec le souci d'éviter les échanges de souches multirésistantes qui sont hautement dangereuses, nous avons préparé des souches monorésistantes (à l'isoniazide, haut et bas niveau de résistance, à la rifampicine, à la streptomycine et à l'éthambutol). Pour cela, des mutants résistants ont été sélectionnés in vitro lorsque des souches d'origine clinique n'étaient pas disponibles (**Tableau 37**).

Pour chaque souche de cette collection, le phénotype de résistance a été confirmé par la méthode des proportions (méthode de référence pour les antibiogrammes de *M.tuberculosis*), quantifié par la détermination de la concentration minima inhibitrice et le mécanisme de résistance a été caractérisé génétiquement.

Tableau 37 : Souches monorésistantes aux antituberculeux de première ligne disponibles au CNR pour contrôle de qualité avec leurs noms et caractéristiques génétiques et phénotypiques

Souche de <i>M.tuberculosis</i>	Génotype	Phénotype de résistance en milieu de Löwenstein Jensen
Isoniazide bas niveau	<i>inhA</i> -15CT	100% résistance isoniazide 0,2 mg/l, sensible
Isoniazide haut niveau	<i>KatG</i> S315T	100% résistance isoniazide 1 mg/l, sensible 10 mg/l
Rifampicine	<i>RpoB</i> S531L	100% résistance rifampicine 40 mg/l
Streptomycine	<i>RpsL</i> L43A	100% résistance streptomycine 4 mg/l

Enfin le CNR-MyRMA conserve l'ensemble des souches adressées pour expertise pour une durée de 10 ans (environ 10.000 souches).

Condition de stockage

Le stockage de l'ensemble de ces souches est organisé sous forme de souchier dont le fichier est stocké sur un ordinateur situé sur le réseau de l'hôpital Pitié-Salpêtrière et bénéficiant de ce fait d'une sauvegarde. Les souches sont conservées dans du 7H9 glycérolé dans un congélateur à -80°C. Les lépromes reçus au CNR-MyRMA pour recherche de *M.leprae* sont conservés à -80°C. Parallèlement à la conservation des souches, le CNR est équipé d'un congélateur -40°C pour la conservation des ADN extraits des souches pour lesquelles une analyse de biologie moléculaire est demandée.

Conditions de mise à disposition des collections

Les souches sont à la disposition de tous les laboratoires et sont envoyées sur demande. Elles ont déjà été mises à la disposition des laboratoires de microbiologie du groupe Azay-mycobactéries (constitué par une trentaine de laboratoires des hôpitaux universitaires participant à la surveillance de la résistance primaire et secondaire) pour ceux qui voulaient organiser des contrôles de qualité internes.

Les souches de *M. tuberculosis* résistantes aux antituberculeux ne sont disponibles que pour les laboratoires de mycobactériologie du territoire français possédant un local de sécurité biologique de niveau 3 (P3) et réalisant des tests de sensibilité. Les souches résistantes aux antituberculeux de deuxième ligne ne sont disponibles que pour les laboratoires de mycobactériologie du territoire français réalisant des tests de sensibilité de deuxième ligne.

L'envoi de souches XDR fait l'objet d'une réglementation particulière et n'est possible qu'à des laboratoires détenteurs d'une autorisation MOT.

4. Liste des techniques (diagnostic/identification, sensibilité aux anti-infectieux...) recommandées par le CNR-MyRMA pour les laboratoires de Bactériologie médicale désirant pratiquer la mycobactériologie

- Microscopie à fluorescence avec lampe LED ou optique après coloration de Ziehl-Neelsen,
- Cultures en milieu solides et liquides,
- Identification rapide de *Mycobacterium tuberculosis* par amplification génique (ex. hybridation sur bandelettes genre Genotype ®...) directement à partir des prélèvements lorsque l'examen microscopique est positif,
- Identification rapide de *Mycobacterium tuberculosis* dans les cultures par hybridation directe avec sonde Accuprobe® ou amplification-hybridation sur bandelettes (ex. Genotype ®...) ou techniques immunochromatographiques (ex. kit SD BioLINE TB Ag MPT64, Eurobio...),
- Identification des mycobactéries non tuberculeuses courantes (*M.gordonae*, *M.avium-intracellulare* complex, *M.kansasii*) dans les cultures par hybridation directe avec sonde Accuprobe® ou amplification-hybridation sur bandelettes (Genotype ®...),
- Tests de sensibilité aux antibiotiques de première ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol) par méthode des proportions en milieu solide ou liquide,
- Recherche de mutation dans le gène *rpoB* pour le diagnostic de la résistance à la rifampicine en cas de suspicion de multirésistance (antécédents de traitement, séropositivité VIH, malade originaire d'un pays à forte prévalence de résistance...), par PCR avec sondes intégrées ou pCR puis hybridation inverse sur bandelettes ou séquençage.

Sur la base de l'arrêté du 16 juillet 2007 et des recommandations européennes sur le confinement dans les laboratoires de biologie, la manipulation des échantillons destinés à la recherche de mycobactérie requière les conditions suivantes :

- examen microscopique et mise en culture : confinement L2,
- identification rapide d'une culture positive sans subculture (immunochromatographie, hybridation sur sonde sans amplification, amplification-hybridation sur bandelette, amplification avec sonde intégrée) : confinement L2,
- subcultures de mycobactéries non tuberculeuses (ex. antibiogramme) : confinement L2,
- subcultures de *M.tuberculosis* complexe (ex. antibiogramme) : confinement L3.

Afin de pouvoir le plus rapidement possible fournir au personnel soignant et l'entourage familial des patients les éléments permettant de guider la prise en charge des patients et les mesures sanitaires (ex. isolement des patients et enquête dans l'entourage), l'identification des cultures positives doit être menée le plus rapidement possible avec des techniques applicables dans tous les laboratoires pratiquant les primocultures car ne nécessitant pas de subculture et donc pas de confinement L3 :

- immunochromatographie (très rapide, peu coûteux),
- amplification génique suivie d'une hybridation réverse sur bandelette,
- amplification génique en temps réel avec hybridation sur sondes intégrées.

Annexe 3



**Centre National de Référence
des Mycobactéries et de la
Résistance des Mycobactéries
aux Antituberculeux
(CNR-MyRMA)**

**Cas de tuberculose
multirésistante (MDR) et ultrarésistante (XDR)
(souches reçues au CNR-MyRMA)**

Rapport trimestriel destiné aux autorités sanitaires

Alexandra Aubry
Christine Bernard
Vincent Jarlier
Jérôme Robert
Nicolas Veziris

02/02/16

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Tableau 1 : Distribution par pays de naissance des cas de tuberculose MDR (souches CNR-MyRMA 2006- 15)

Pays d'origine	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
France	11	5	6	6	4	8	9	5	12	21
Allemagne								1		1
Norvège				1						
Portugal		2	2		2	1			2	1
Total Europe Ouest	11	7	8	7	6	9	9	6	14	23
Albanie										1
Roumanie	2	1	5	1		6	3	3	9	6
Pologne										2
Bulgarie								1		2
Moldavie	1	1	1		1	1	1			
Russie hors Tchécénie	2		1	2	1	7	6	2	4	3
Russie - Tchécénie	1	1	5	3	4	4	8	3	1	6
Arménie	1	1	2	3		4	2	1	3	1
Azerbaïdjan					1					
Géorgie	2	1	1	4	1	5	26	32	40	14
Kosovo								1		
Lituanie								2		
Ukraine		2					4	2	4	2
Total Eur Est + ex. URSS	9	7	15	13	8	27	50	47	60	37
Algérie	1	3	2	1	1	3	1	2	1	1
Maroc		1		2		1	2	1	1	6
Tunisie						1	1	1		1
Total Maghreb	1	4	2	3	1	5	4	4	2	8
Angola	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
Bénin							1	1		
Cameroun		2	2		2			2	1	
Cap-Vert					1					
Congo	3	1	4	4	1		3		3	2
Côte Ivoire	5	1	2	3	2	2	1	1	2	3
Djibouti	1									
Egypte							1		1	
Erythrée								1		
Ethiopie	1			1						1
Ghana				1						
Guinée Conakry	3	1	2		2	1	1	2	1	1
Madagascar-Comores		1		1				1		
Mali				1					1	
Mauritanie				1		1				
Niger			1							
Nigeria										1
Rep. Centrafricaine	1	1				1	2	1	2	2
RD Congo	4	5	1		2	5	5	4	6	2
Rwanda						1				
Sénégal	1		2	1	1		3	1	2	2
Soudan				1			1			
Tchad					1	1	1			
Togo	1							1		
Total Afr. hors Maghreb	21	13	15	15	14	13	19	16	19	15
Bangladesh							1		1	
Cambodge			1							
Chine	1	1	1	2	1	1	3	1	1	5
Corée				2						
Inde	2			2		1	2			
Indonésie									1	

CNR-MyrMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Irak									1	
Mongolie					2	1	1			
Népal	1							1		
Pakistan			1	1	1	2	2	1		1
Sri Lanka		1							1	
Syrie				1						
Thaïlande							1		1	1
Tibet		1				3		1		1
Turquie								1		
Vietnam			1	2	2	1		2	3	
Total Asie	4	3	4	10	9	7	9	7	9	8
Chili				1						
Colombie										1
Brésil										1
Haïti						1	1	1		
Equateur								1	1	
Pérou	1	1				1		1		1
Total Amérique	1	1	0	1	2	3	1	2	1	3
Non précisé								1	4	4
TOTAL	48	35	44	49	40	64	92	83	111	98

Figure 1 : Répartition par groupe de pays de naissance des cas de tuberculose MDR (souches CNR-MyrMA 2006 – 2015)

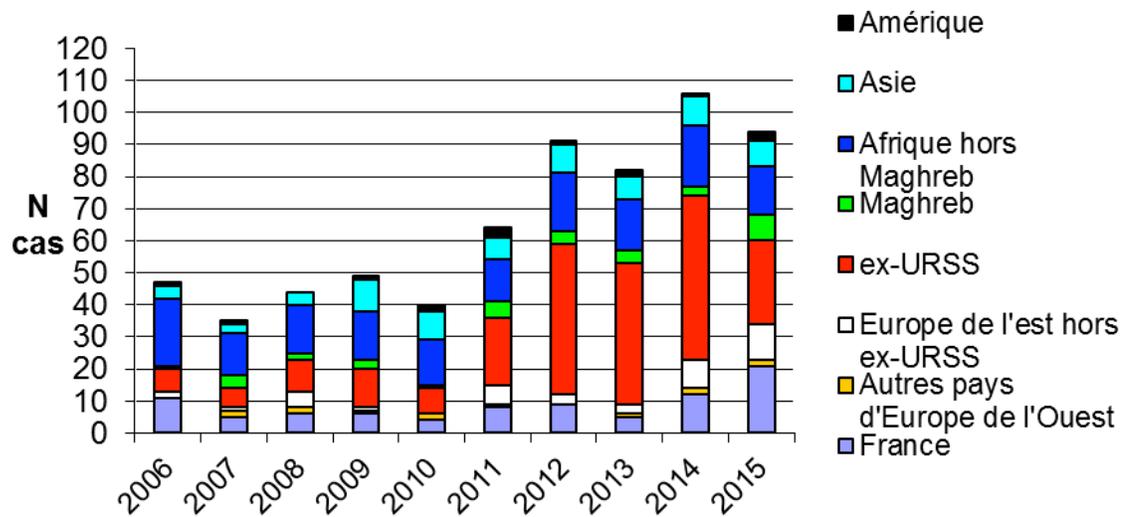


Tableau 2 : Répartition par pays de naissance (détail) des patients pour lesquels des souches ultrarésistantes (XDR) ont été reçues au CNR-MyrMA de 2004 à 2015

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Année	Europe occidentale	Afrique du Nord	Afrique subsaharienne	Amérique	Asie	Europe de l'Est et ex-URSS	Total
2004		1 (Algérie)					1
2005			1 (Mali)				1
2006	1 (France)					1 (Tchéchénie)	2
2007	1 (France)		1 (Congo)				2
2008						2 (Russie, Roumanie)	2
2009		1 (Algérie)				3 (2 Géorgie, 1 Arménie)	4
2010	1 (Portugal)					5 (3 Tchéchénie, 1 Géorgie, 1 Azerbaïdjan)	6
2011	1 (Portugal)	2 (Algérie)	1 (Côte d'Ivoire)			2 (Russie)	6
2012						17 (15 Géorgie, 1 Arménie, 1 Ukraine)	17
2013	1 (France)					21 (19 Géorgie, 1 Ukraine, 1 Roumanie)	22
2014	2 (France, Portugal)		1 (RD Congo)			23 (20 Géorgie, 3 Russie)	26
2015				1 (Brésil)	1 (Chine)	12 (6 Géorgie, 1 Pologne, 1 Roumanie, 2 Tchéchénie, 1 Russie, 1 Arménie)	14

Tableau 3 : Répartition par trimestre de réception au CNR-MyrMA de l'échantillon biologique (prélèvement ou souche) des patients MDR, 2011 - 2015

	Total MDR	dont Europe Est et ex-URSS	Dont ex-URSS	Dont Géorgie
1er trim 2011	23	10	5	0
2ème trim 2011	15	4	3	1
3ème trim 2011	16	6	5	2
4ème trim 2011	15	8	8	2
1er trim 2012	21	12	11	5
2ème trim 2012	24	10	9	6
3ème trim 2012	23	12	11	7
4ème trim 2012	24	16	16	8
1er trim 2013	26	17	16	11
2ème trim 2013	21	10	9	7
3ème trim 2013	15	9	6	5
4ème trim 2013	21	11	11	9
1er trim 2014	31	16	12	9
2ème trim 2014	25	15	14	9
3ème trim 2014	26	14	12	11
4ème trim 2014	30	15	13	11
1er trim 2015	23	11	7	5
2ème trim 2015	32	13	10	4
3ème trim 2015	23	8	6	4
4ème trim 2015	21	6	3	1

CNR-MyRMA rapport d'activité pour l'année 2015 (septembre 2016)

Figure 2 : Répartition par trimestre de réception au CNR-MyRMA de l'échantillon biologique (prélèvement ou souche) des patients MDR de 2011 à 2015

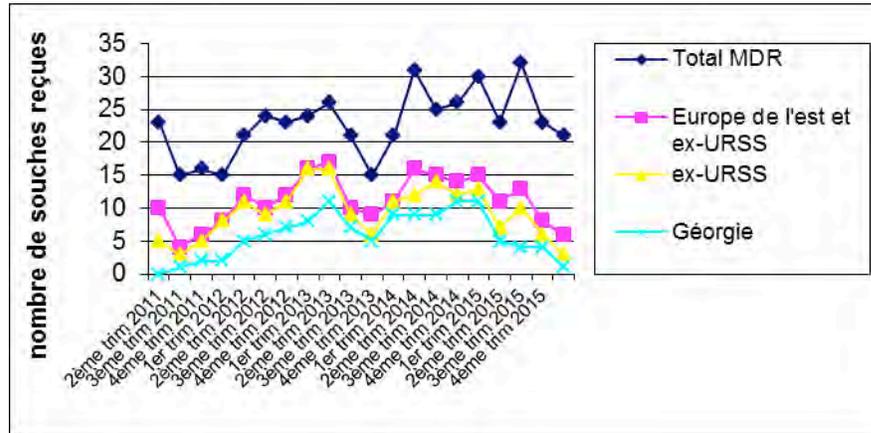


Tableau 4 : Répartition par régions des laboratoires ayant envoyé l'échantillon biologique (prélèvement ou souche) des patients MDR au CNR-MyRMA 2014 - 2015

Région	N souches reçues en	
	2014	2015
Alsace	5	2
Aquitaine	1	9
Auvergne		
Basse-Normandie	1	
Bourgogne		
Bretagne		2
Centre	2	1
Champagne-Ardenne		
Corse	1	1
Franche-Comté	2	
Guadeloupe		
Guyane		
Haute-Normandie	5	3
Île-de-France	58	48
La Réunion	2	
Languedoc-Roussillon	4	2
Limousin	1	1
Lorraine		1
Martinique		
Mayotte		
Midi-Pyrénées	3	3
Nord-Pas-de-Calais	7	6
Pays de la Loire		4
Picardie	1	
Poitou-Charentes		1
Provence-Alpes-Côte d'Azur	6	3
Rhône-Alpes	13	11
Total	112	98

Conclusions pour le dernier trimestre 2015

- Le nombre total de cas MDR reste au niveau haut des 4 dernières années.
- Le nombre de cas XDR est en diminution par rapport à l'année 2014 mais reste bien au-dessus du nombre de cas annuels observés avant l'augmentation de 2011.
- La diminution du nombre total de cas en provenance de Géorgie se confirme.
- L'augmentation du nombre de cas nés en France observée en 2014 se confirme en 2015.