



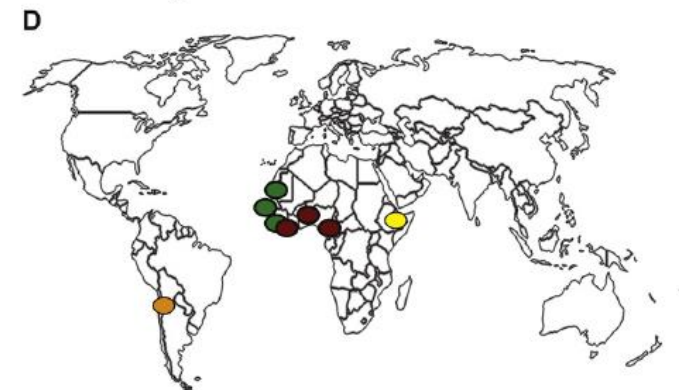
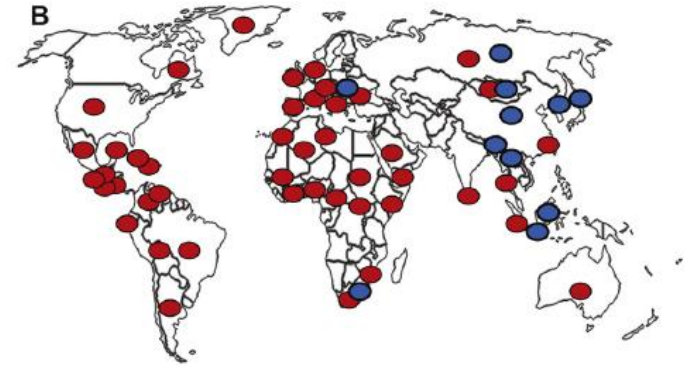
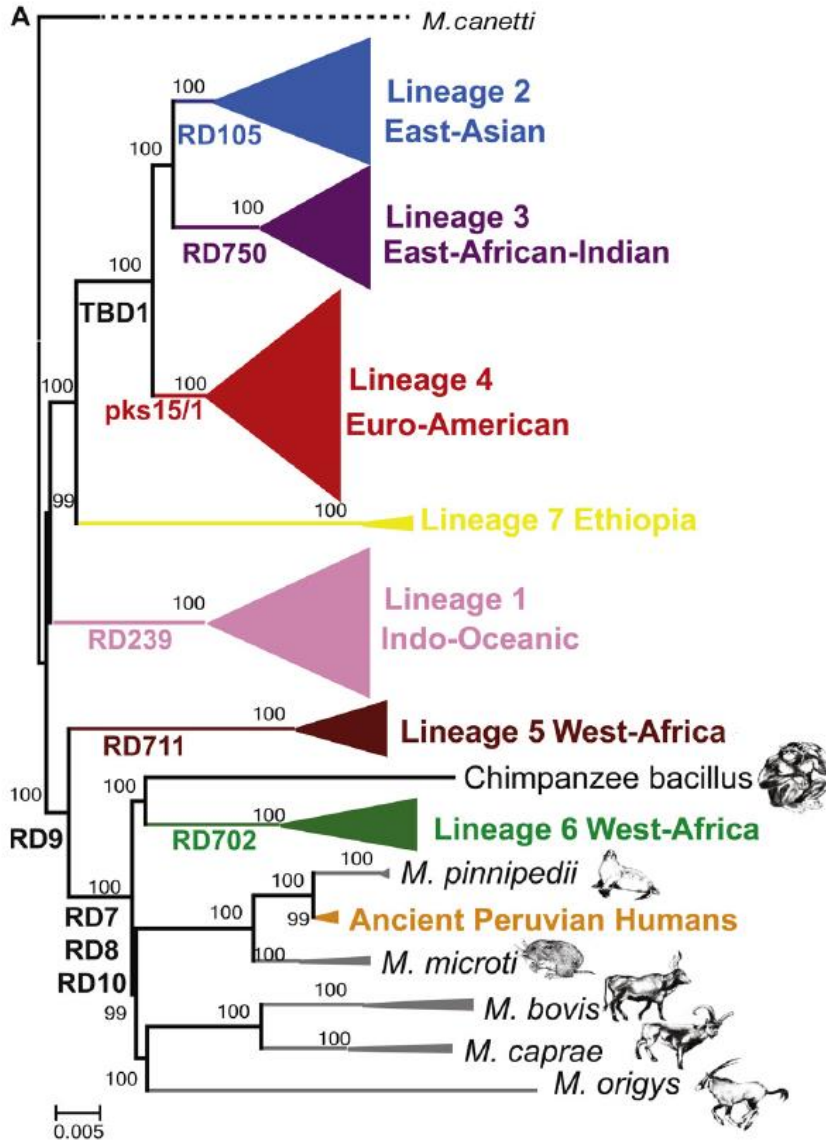
Diagnostic de la tuberculose latente ou maladie

Pr Nicolas Veziris

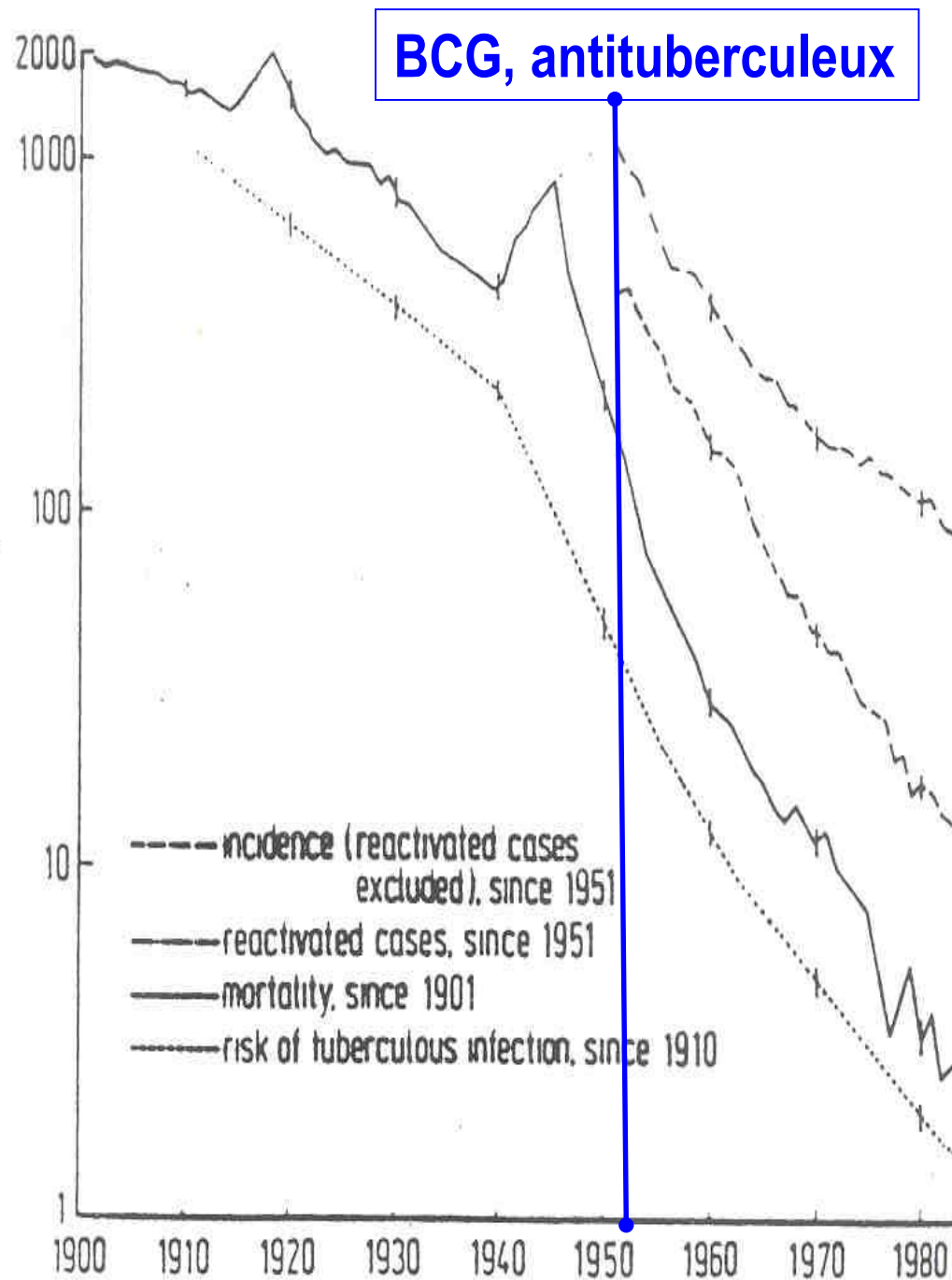
CNR des Mycobactéries, Département de Bactériologie,
Hôpital Saint-Antoine, APHP, CiMi, INSERM, Sorbonne Université

Epidémiologie

M. tuberculosis complex : répartition des lignées

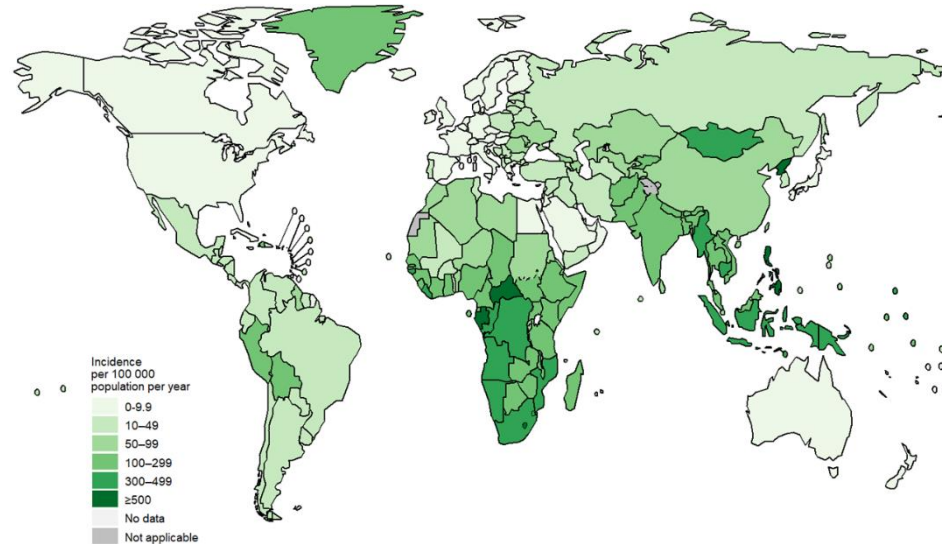


Taux de mortalité par tuberculose (pour 100 000) entre 1901 et 1983



Épidémiologie de la tuberculose dans le monde

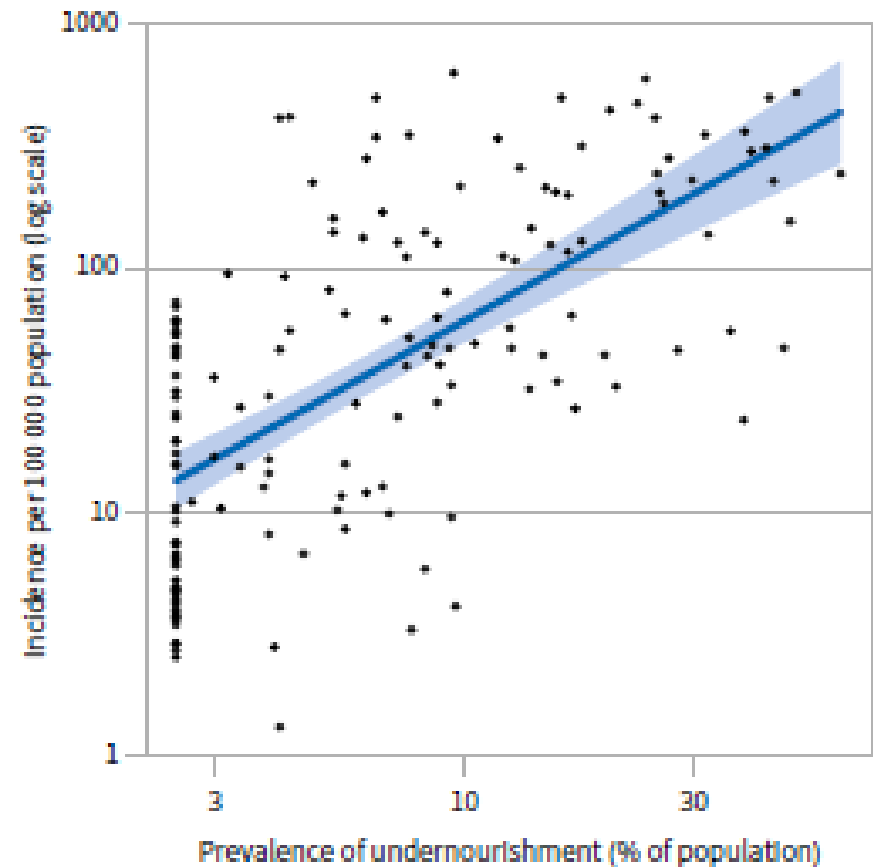
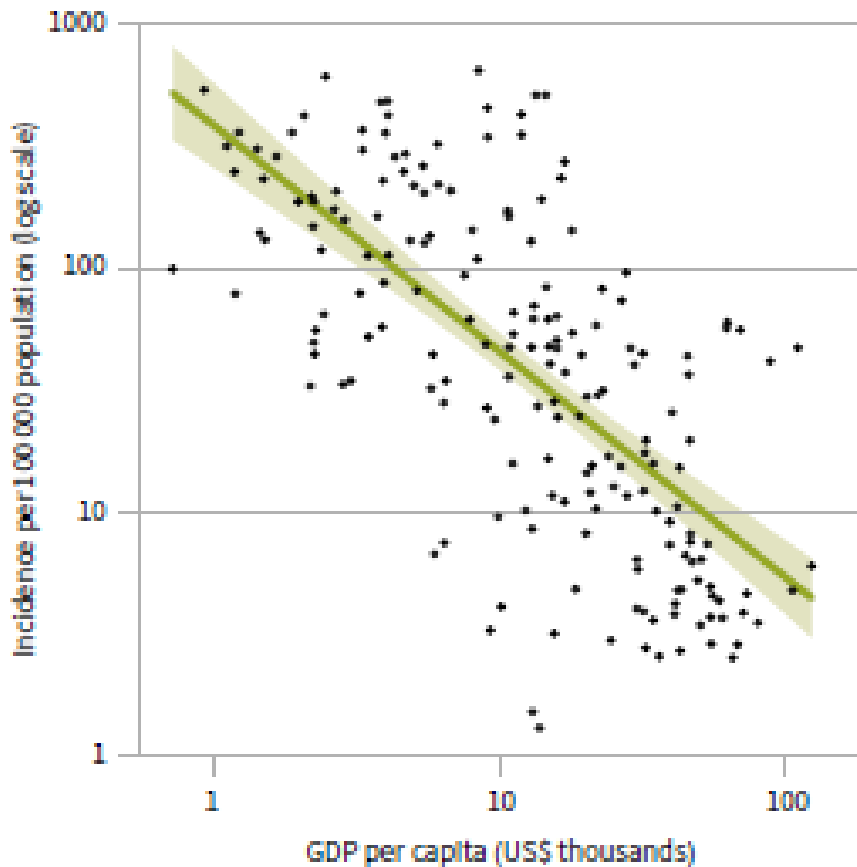
- 2 milliard d'infectés
- En 2022 : 10,6 millions de nouveaux cas



- Co-infection VIH : 671 000 cas (6%)
- 1,3 millions de morts dont 0,2 millions VIH+ (15%)

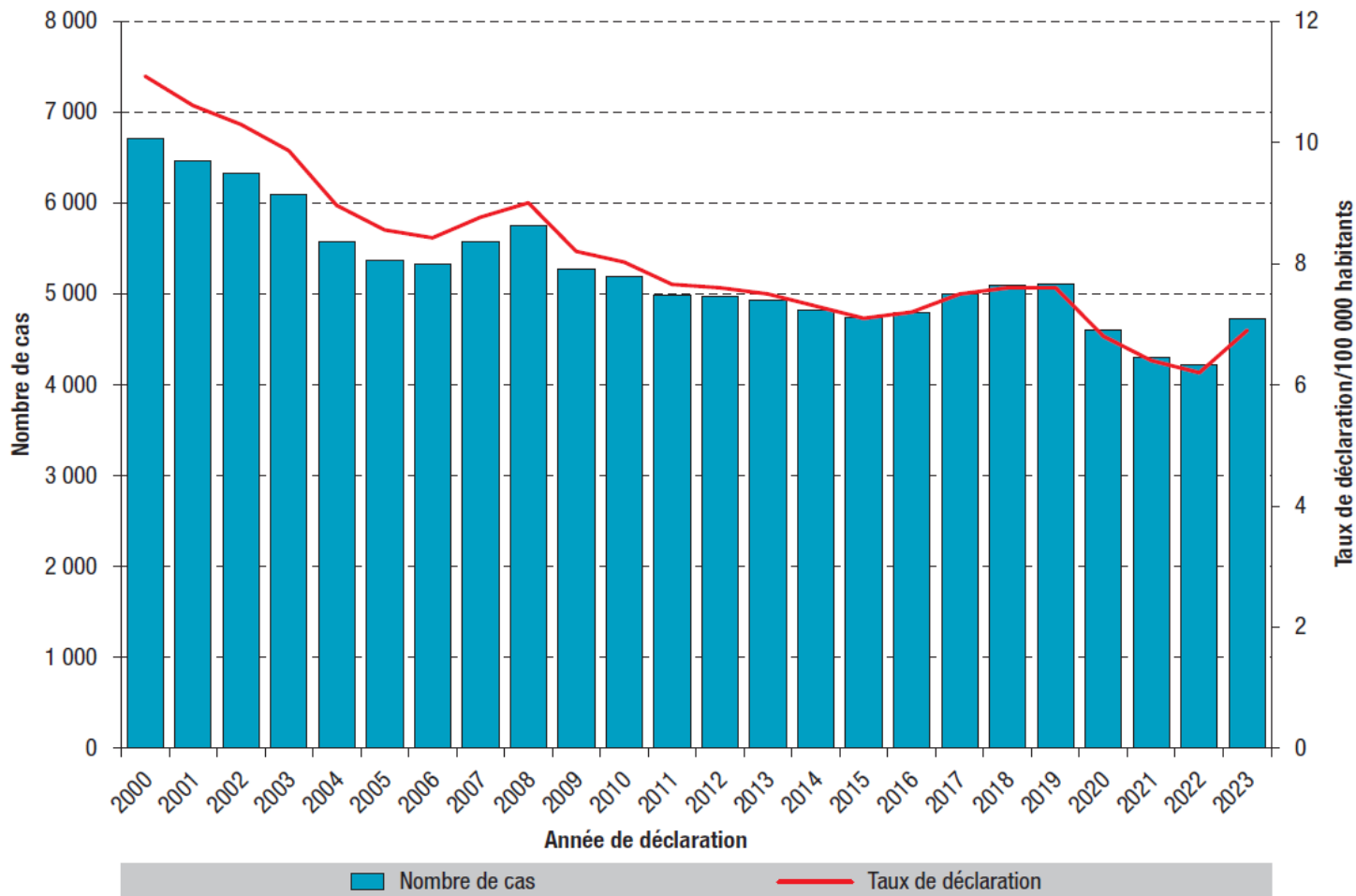
Maladie de la pauvreté

The relationship between GDP per capita and the prevalence of undernourishment, and TB incidence per 100 000 population, 2021³



France : pays à faible incidence

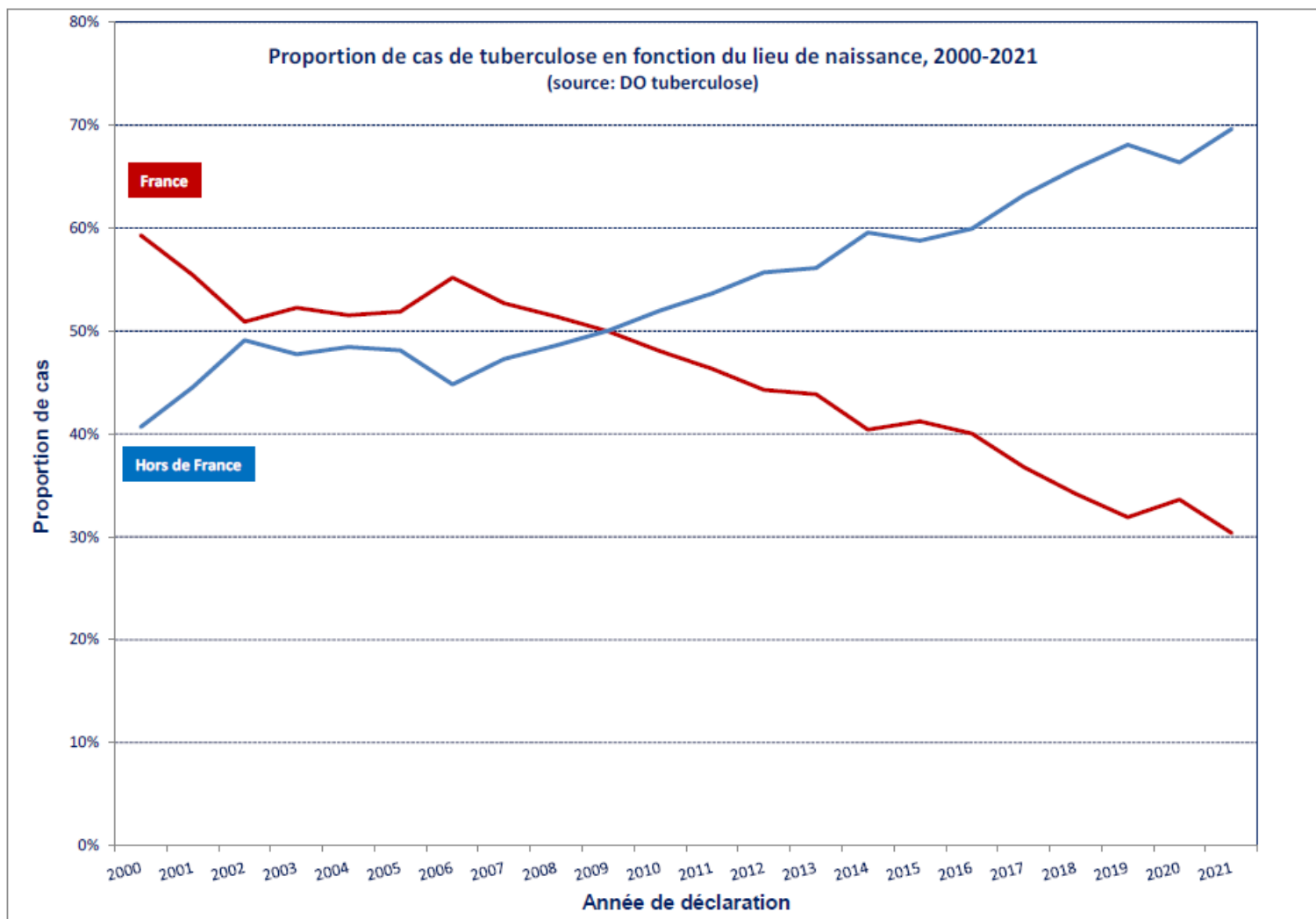
Nombre total de cas et taux de déclaration de tuberculose, France, 2000-2023^a



^a Données provisoires pour 2023.

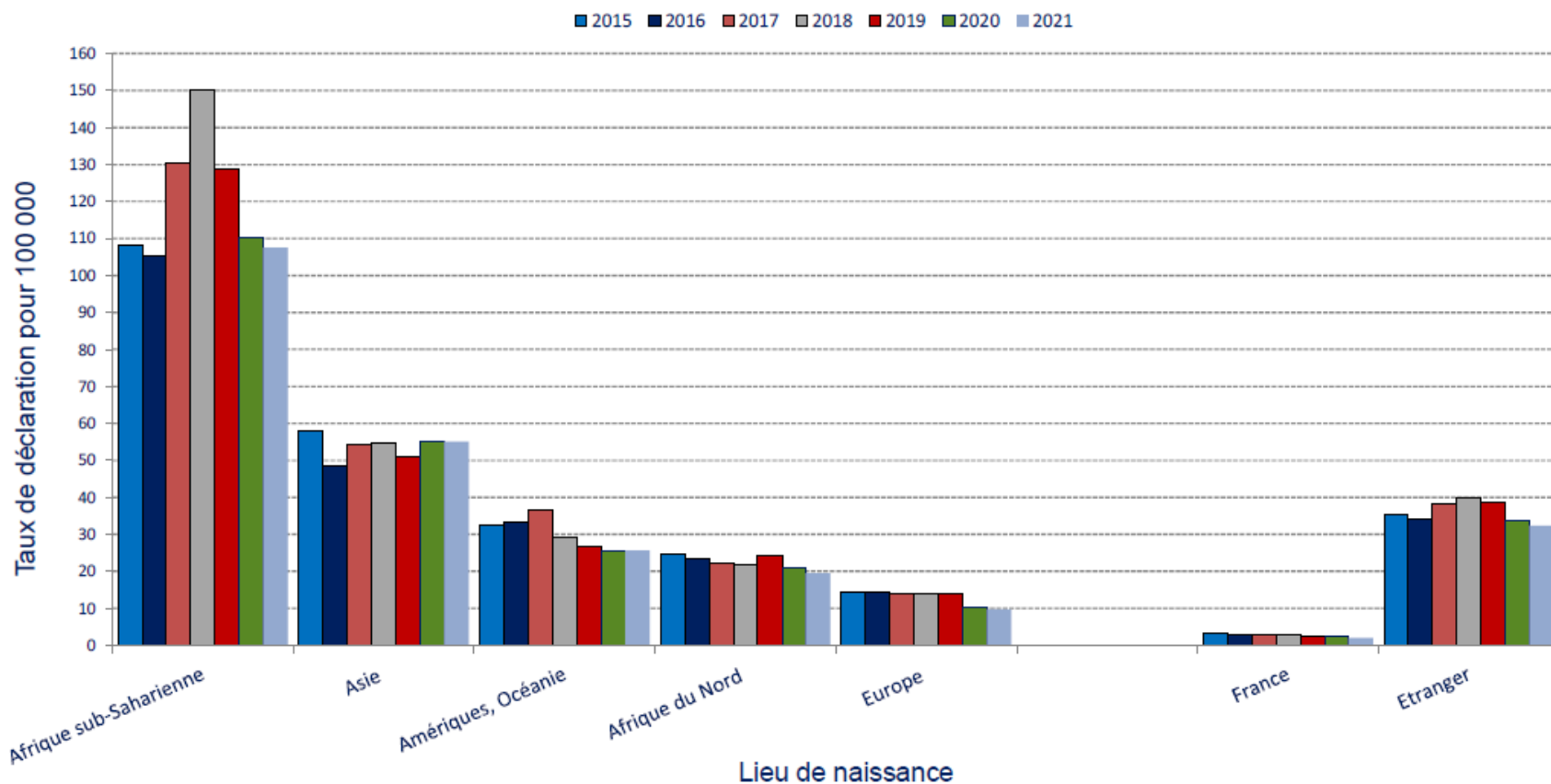
Baisse continue de l'incidence
= devient une maladie rare = perte de l'expertise

TUBERCULOSE ET LIEU DE NAISSANCE, FRANCE, 2000-2021.



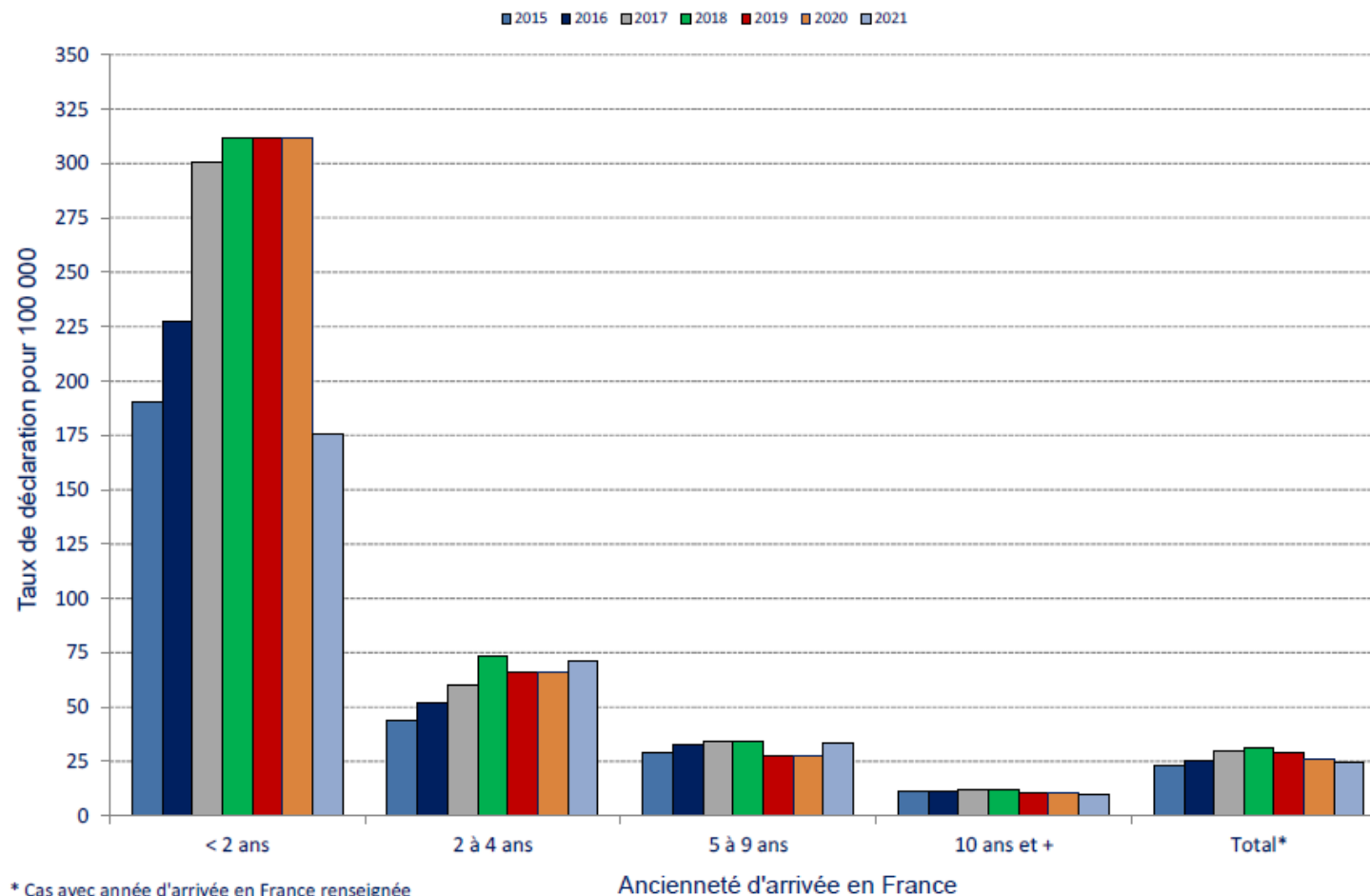
TAUX DE DÉCLARATION DE TUBERCULOSE PAR RÉGION DE NAISSANCE, FRANCE, 2015-2021

Taux de déclaration de tuberculose par lieu de naissance, France, 2015-2021
(source: DO tuberculose; données de population: Insee 2018)



TAUX DE DÉCLARATION DE TUBERCULOSE SELON L'ANCIENNETÉ D'ARRIVÉE EN FRANCE, 2015-2021

Figure 4. Taux de déclaration de tuberculose chez les personnes nées à l'étranger selon l'ancienneté* d'arrivée en France, 2015-2021 (source: DO tuberculose; données de population: Insee 2018)



* Cas avec année d'arrivée en France renseignée

TYPE DE RÉSIDENCE DES CAS DÉCLARÉS DE TUBERCULOSE MALADIE, FRANCE, 2022

Type de résidence	N	%
En collectivité	658	19,1% *
<i>Centre d'hébergement collectif</i>	388	11,2%
<i>Etablissement pour personnes âgées</i>	26	0,8%
<i>Etablissement pénitentiaire</i>	29	0,8%
<i>Autre</i>	174	5,0%
<i>Sans information</i>	33	0,9%

Personnes sans domicile	
Nombre de cas	182
Pourcentage	6,2% **
Taux (/100 000)	61

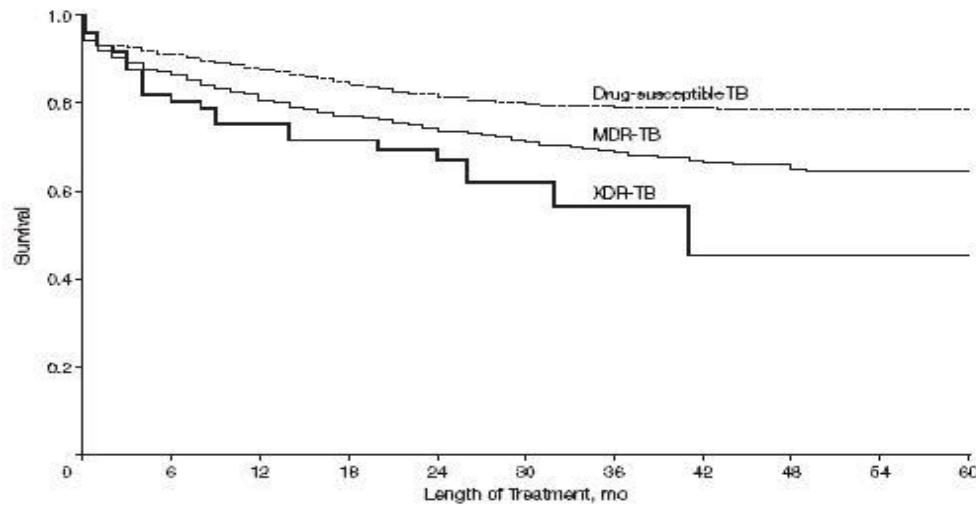
* Parmi les cas avec information renseignée (658/ 3446); ** Parmi les cas avec information renseignée (182/ 2943)

Source: Santé publique France, déclaration obligatoire de tuberculose; nombre de personnes sans domicile, source : Fondation Abbé Pierre/Insee

Résistance aux antituberculeux

- La multirésistance (MDR) de *Mycobacterium tuberculosis* aux antibiotiques est définie par la résistance simultanée à au moins :
 - isoniazide
 - rifampicine
- L'ultrarésistance (XDR) est définie depuis 2021 par la résistance à l'isoniazide et la rifampicine ainsi que
 - Fluoroquinolones et
 - Bédaquiline et/ou linézolide

Pronostic des cas MDR et XDR



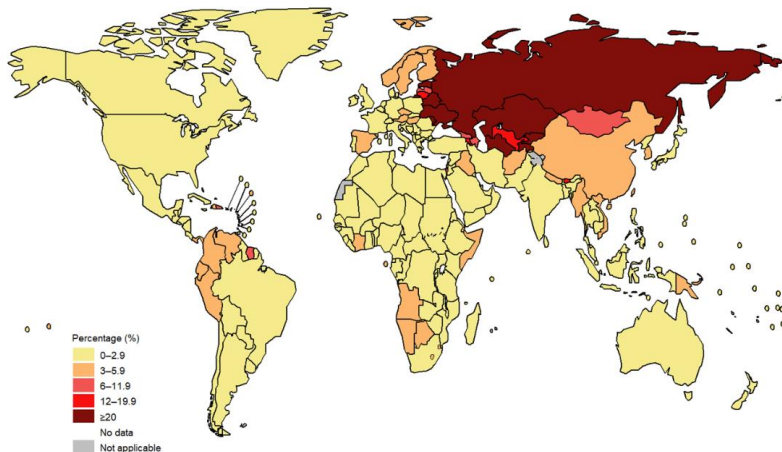
TB sensible

TB MDR

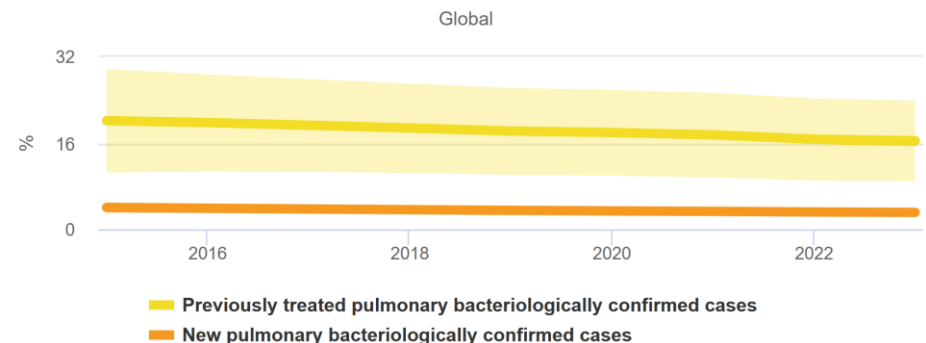
TB XDR

Résistance acquise aux antituberculeux

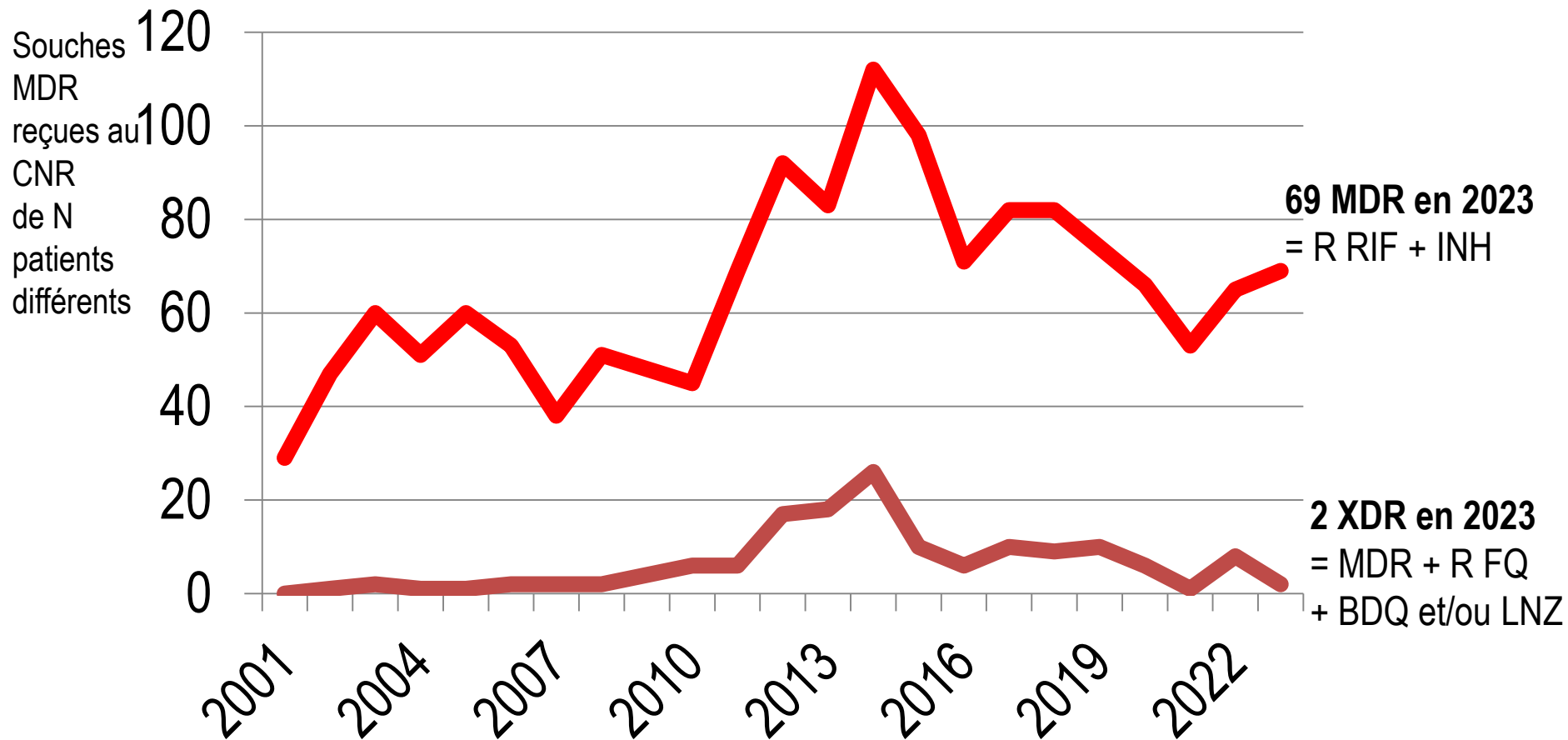
- Estimation OMS pour 2022: 1,3 millions INH-R
 - dont 410 000 MDR
 - Primaire : 3% des nouveaux cas
 - Secondaire : 17% des cas déjà traités
- dont 18% pré-XDR (=MDR R-FQ)



Estimated percentage of people with TB who had multidrug-resistant or rifampicin-resistant TB (MDR/RR-TB)



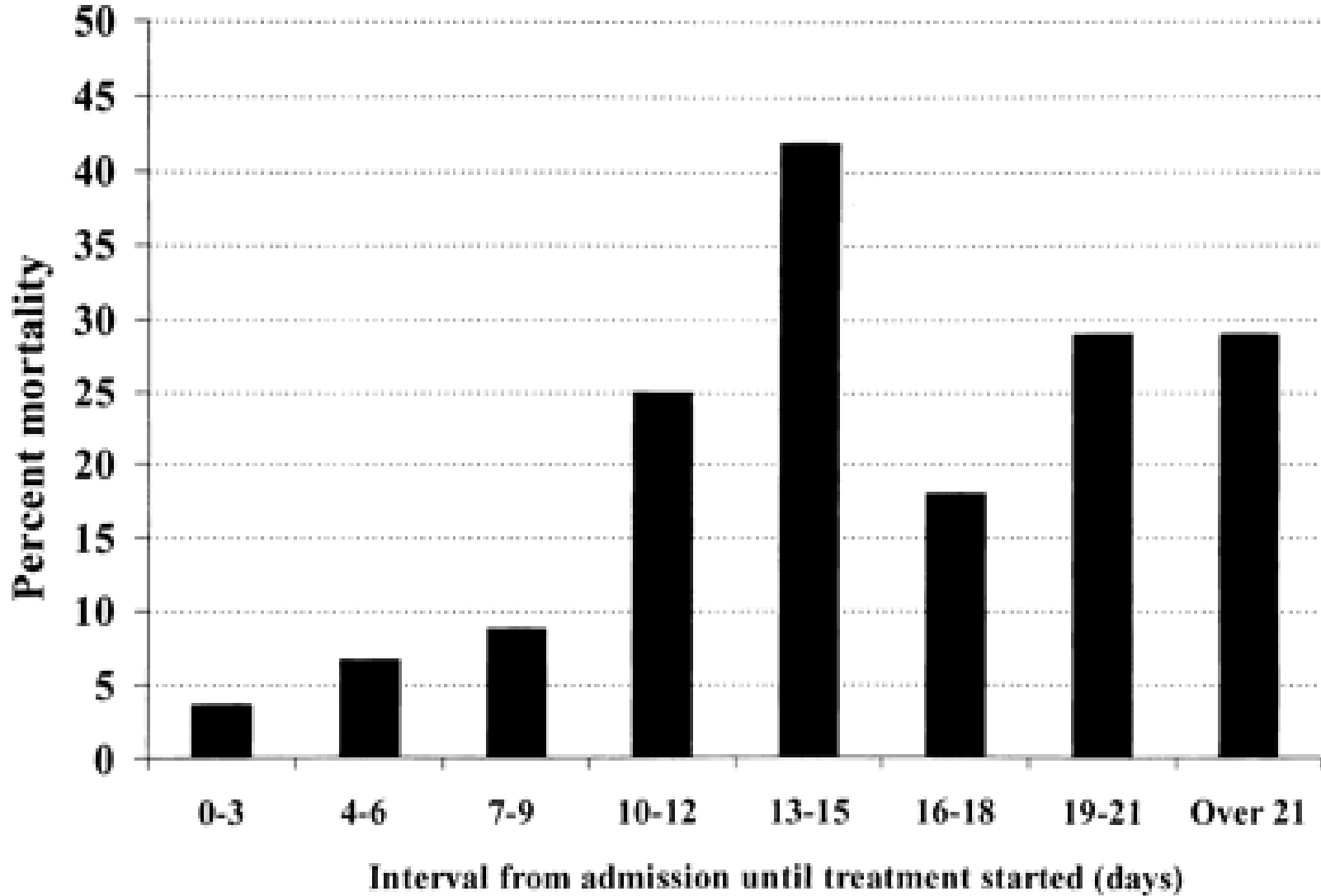
Evolution nombre MDR et XDR en France



50 à 100 MDR/an
1 à 20 XDR/an

Diagnostic

Impact du retard thérapeutique sur la mortalité



Impact de l'expertise hospitalière sur les performances diagnostiques de la tuberculose

	TB pour 10 000 admissions			P
	0,2-3,3	3,4-9,9	>10	
N hôpitaux	7	7	2	
N patients	79	223	127	
Dg initial erroné	56%	58%	16%	<0.0001
Délai traitement > 7 jours	43%	35%	12%	<0.0001
Décès	23%	12%	6%	<0.0001

Et en France?

Délai 1ers symptômes – 1^{ère} consultation = 47 jours

Délai 1^{ère} consultation – diagnostic = 48 jours

Table 4 Variables associated with total diagnostic delay, patient delay and health system delay, multivariate analysis

Diagnostic delay	OR (95%CI)	P value
Total delay > 60 days		
Medical insurance	0.24 (0.08–0.75)	0.014
Previously treated for tuberculosis	0.28 (0.08–1.00)	0.049
Number of health care contacts	2.29 (1.41–3.73)	0.001
Patient delay > 14 days		
Fever at symptom onset	0.42 (0.19–0.92)	0.03
Being followed by a general practitioner	0.22 (0.08–0.61)	0.004
Health system delay > 14 days		
First health care contact in hospital	0.15 (0.07–0.35)	<0.001
Antibiotic treatment	4.37 (1.81–10.56)	0.001
Medical insurance	2.59 (1.08–6.21)	0.034
Asthenia at first health care contact	2.57 (1.01–6.56)	0.048

OR = odds ratio; CI = confidence interval.

Tattevin, IJTLD 2012

Délais longs

Tests interféron ou IGRA

IDR = intradermoréaction

- IDR : injection intra-dermique de tuberculine après désinfection par une solution non alcoolique, lecture à 72h
- En l'absence de vaccination par le BCG, une IDR positive indique que le sujet a été infecté par *Mycobacterium tuberculosis* et confère un risque de tuberculose maladie de 5 à 10% tout au long de la vie

Limite de l'IDR

- Le diagnostic de l'infection tuberculeuse repose sur l'intra-dermo réaction à la tuberculine (IDR)
- L'IDR mesure une hypersensibilité retardée à la tuberculine
 - Mélange d'antigènes de *M. tuberculosis*, *bovis* et de mycobactéries atypiques
 - En théorie l'IDR est **moins spécifique** dans les populations vaccinées par le BCG

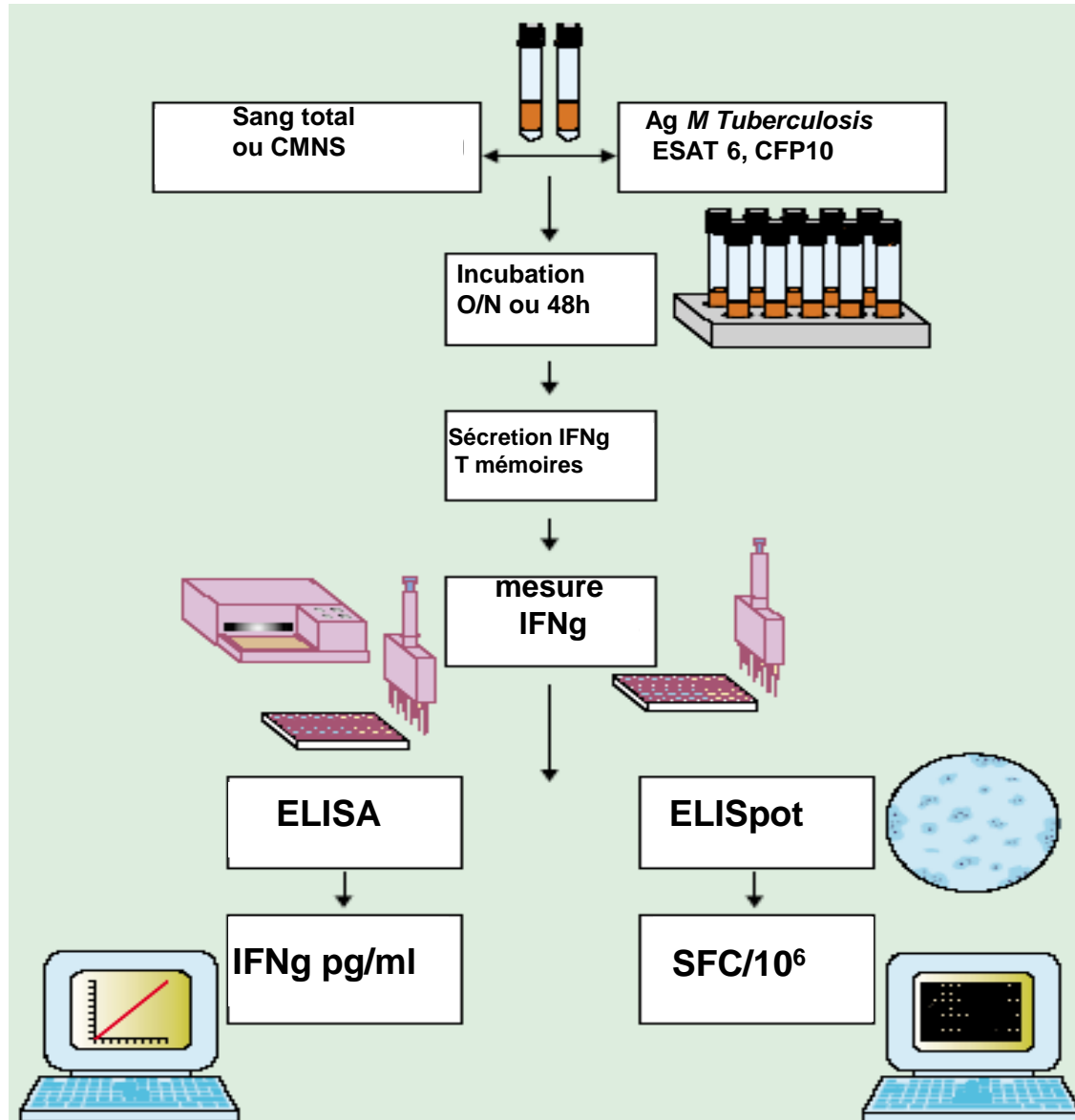
Principe des tests interféron

- Des sujets sensibilisés par des antigènes tuberculeux vont produire de l'**interféron gamma** en présence de ces mêmes antigènes
- Un haut niveau de production d'interféron gamma serait suggestif d'infection tuberculeuse
- Existence de tests «maison» mais aussi de **tests commercialisés** :
 - **QuantiFERON-TB** (cellestis limited, carnegie, victoria, australie) et **T SPOT-TB** (oxford immunotech, oxford, Grande-Bretagne)

Des antigènes spécifiques

- Deux antigènes codés par des gènes se trouvant dans la région RD1 (région de différenciation 1)
 - **ESAT6** (early secretory antigenic target 6)
 - **CFP10** (culture filtrate protein 10)
 - Ces antigènes sont « spécifiques » de *M. tuberculosis*, ils ne se trouvent **pas chez bovis BCG** ni chez la plupart des mycobactéries atypiques sauf...*kansasii*, *marinum*, *szulgai*

Pratique des tests



Spécificité des test interféron chez les sujets sains

- Chez sujets à faible risque de tuberculose

	Spécificité	
	BCG-	BCG+
IDR	98%	56%
Quantiferon	96%	100%
Elispot	92%	

Méta-analyse
Menzies 2007

⇒ Spécificité non influencé par BCG

Quelles indications potentielles pour ces nouveaux tests ?

- Diagnostic de la maladie
- Remplacement de l'IDR pour le diagnostic de l'infection tuberculeuse

Sensibilité des tests interféron pour le diagnostic de la tuberculose maladie

HAS, 2015

	QFT-GIT (%)	T-SPOT.TB (%)	IDR (%)
ECDC Europe, 2011 (Tableau 10)	67 (56-78)	87 (78-95)	71 (65-74)
CDC Etats-Unis, 2010 (Tableau 12)	83	90	89
Agence de santé publique du Canada, 2014 (Tableau 8)	80	90	80
Ministère de la santé de l'Espagne, 2010 (Tableau 13)	70 (63-78)	90 (86-93)	77 (71-82)
Bornes limites des estimations	67-83	87-90	71-89

⇒ Sensibilité 80 à 90% pour TB bactériologiquement confirmée



ELSEVIER

Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com

RECOMMANDATIONS

Valeurs des tests IGRA pour le diagnostic de la tuberculose maladie*Interferon gamma release assay tests for the diagnosis of active tuberculosis*F.-X. Blanc^{a,*}, S. Dirou^a, J. Morin^a, N. Veziris^b**Tableau 2** Valeurs cliniques des tests IGRA pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire chez le sujet immunocompétent

Référence	Pays	Effectifs	Test réalisé	Se	Se IC	Sp	Sp IC	VPP	VPP IC
Li et al., 2012 [4]	Chine	102	TSPOT-TB	88,9	74,7–95,6	57,1	44,9–68,6	54,2	41,7–66,3
Taki-Eddinet al. 2012 [6]	Syrie	91	QFT-GIT	89,9	83,6–96,2	67,4	57,6–77,2	75,4	66,4–84,5
Syed et al., 2010 [5]	Inde	275	QFT-GIT	90,6		55		77,5	
		213	IDR	68,9		75,5		78,1	
Janssens et al., 2007 [3]	Suisse	368	TSPOT TB	98		58			
Jafari et al., 2009 [2]	Allemagne	347	TSPOT TB sang	92		48		34	
			TSPOT TB LBA	91		79		55	
			IDR	65		81		58	
Goletti et al., 2006 [1]	Europe	55	TSPOT TB	91,3	72–99	59,3	41–76	61,6	

Tableau 4 Valeurs cliniques des tests IGRA pour le diagnostic de la tuberculose maladie (formes pulmonaires) chez le sujet immunodéprimé.

Référence	Pays	VIH	Effectifs	Test	Se	Se IC	Sp	Sp IC	VPP	VPP IC
Cattamanchi et al., 2012 [10]	Ouganda	Oui	95	TSPOT-TB sang	75	57–89	78	63–88	69	51–83
				TSPOT-TB LBA	73	20–89	48	32–64	43	27–61
Rangaka et al., 2012 [15]	Afrique du Sud	Oui	779	QFT-GIT	64		59,1		9,7	
				IDR	68		58,7		10,2	
Jung et al., 2012 [13]	Corée	Non	119	QFT GIT	59	44,9–72	61,3	54,4–67,6	42,6	32,4–52
				TSPOT TB	72	54,2–86,2	42,3	33,8–49,1	37,5	28,2–44,9
				IDR	41,2	28,3–50,8	91,8	85,8–96,8	70	48,2–86,4
Chen et al., 2011 [12]	Chine	Oui	147	TSPOT-TB	34,2	21,5–55,1	88,7	80,6–94,2	54,2	32,8–74,5
Aabye et al., 2009 [11]	Tanzanie	Oui	161	QFT-GIT total	74					
				QFT-GIT VIH +	65					
				QFT-GIT VIH –	81					
Raby et al., 2008 [14]	Zambie	Oui	112	QFT-GIT total	74	66–82				
				QFT-GIT VIH +	63	50–75				
				QFT-GIT VIH –	84	71–96				

VPP faible
peu/pas d'intérêt pour le diagnostic
de la TB maladie

Population suspecte d'infection tuberculeuse latente

- Problème : pas de Gold Standard
- Comparaison avec l'IDR et corrélation des résultats avec degré d'exposition, vaccination BCG etc.
- Mesure du risque de développer une tuberculose maladie en fonction du résultat du test et comparativement à l'IDR

QTF-G mieux corréllé qu'IDR à exposition TB chez les vaccinés BCG

Progression ITL vers maladie selon le test utilisé : IDR ou test IGRA

Immunodiagnostic	Populations	Pourcentages de progressions si test positif	Pourcentages de progressions si test négatif
IDR à la tuberculine (seuil à 10 ou 15 mm)	Sujets contact	1,25% à 4,8%	0,17% à 0,84%
	Contacts même toit	4% à 13%	0,001%
	Contacts enfants	37% à 67%	0,002%
	Migrants	1,9% à 15,8%	0% à 1,23%
	Immunodéprimés	3,9 à 14,3%	0,59% à 8,57%
	Atteints du VIH	7,61 à 14,3%	0,59 à 0,9%
Tests IGRA	Sujets contact	1,96% à 12,9%	0,56%
	Contacts enfants	2,7% à 12%	0,1% à 0,3%
	Migrants	0,9% à 5,2%	0,17% à 3,3%
	Immunodéprimés	0% à 14,5%	0% à 3,3%
	Atteints du VIH	8,3% à 14,5%	0 à 0,9%

Conclusion tests interféron

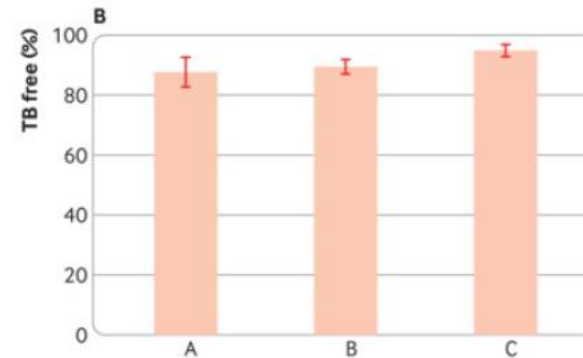
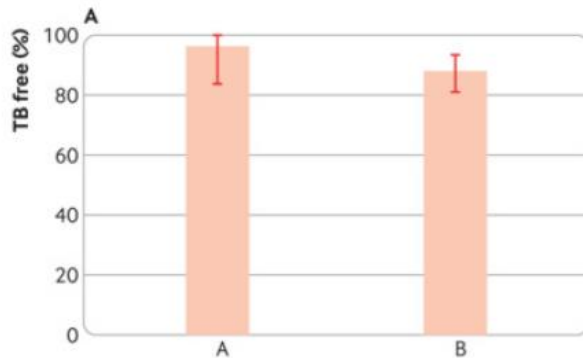
- Infection tuberculeuse latente
 - Apparaissent plus spécifiques que l'IDR dans un contexte vaccinal
 - Ces tests comme l'IDR ne distinguent pas infection et maladie, un examen clinique et une RX sont toujours nécessaires
 - Valeur prédictive de développement de maladie ultérieure un peu meilleure qu'IDR mais reste faible
- HCSP 2011, HAS 2015
 - A ne faire que si décision de traiter une éventuelle ITL
- HCSP 2019
 - ITL
 - Enquête autour d'un cas
 - avant anti-TNF
 - ITL VIH
 - Aide au diagnostic TB extra-pulmonaire enfant



Riad Sattouf, Pascal Brutal

IDR+ \neq Infection latente

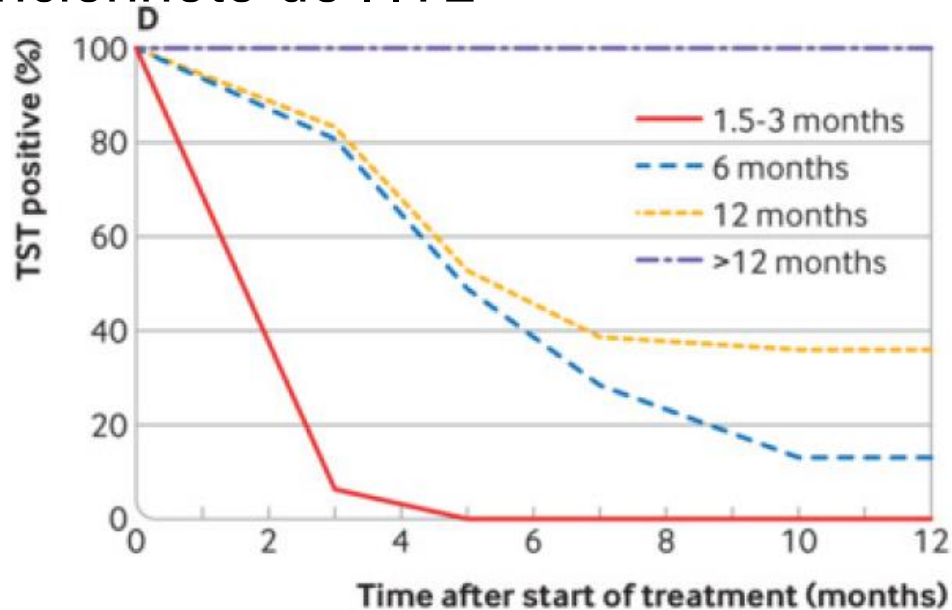
- Behr, BMJ 2019
 - % de patients IDR+ ne développant pas de TB maladie
 - A : VIH
 - B : transplantés



La majorité des IDR+ immunodéprimés ne développent pas de TB maladie

IDR+ \neq Infection latente

- Behr, BMJ 2019
 - Évolution positivité IDR après traitement ITL selon ancienneté de l'ITL



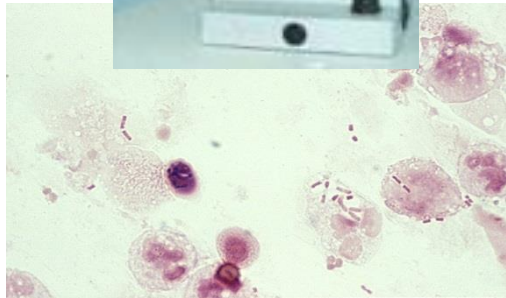
Si infection établie,
IDR reste + malgré
traitement

Diagnostic bactériologique

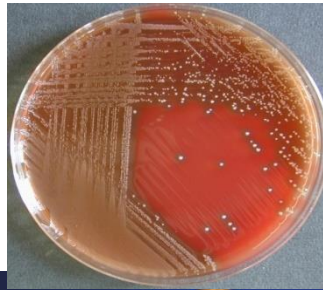
Diagnostic conventionnel en bactériologie

(1) les étapes

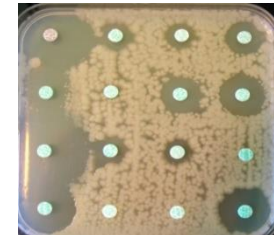
J0
examen microscopique



J1
Culture/identification



J2
antibiogramme



Laboratoire L3



Pression
négative



Accès sécurisé
via un sas



Masque FFP2 en permanence



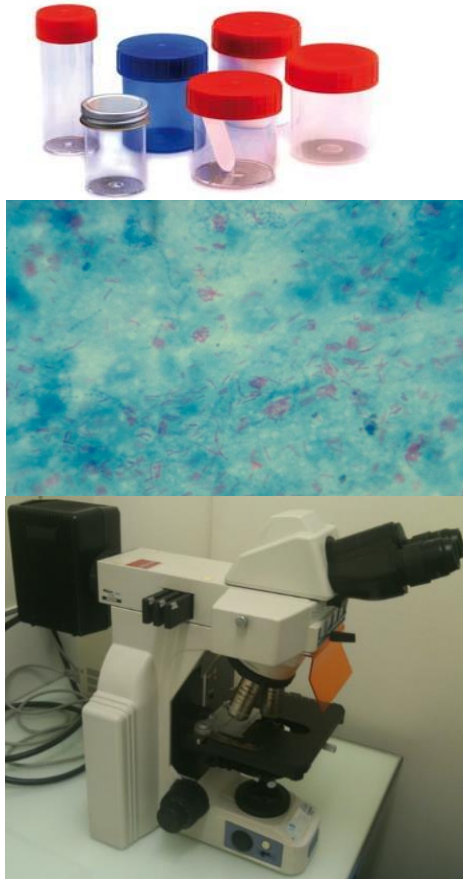
Manipulation sous
**Poste de
Sécurité
Microbiologique**

Diagnostic conventionnel

(1) les étapes de l'examen bactériologique

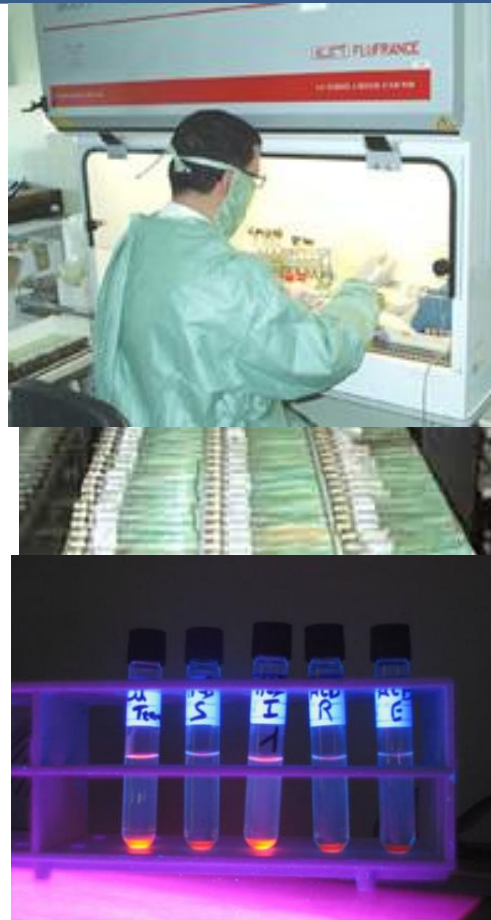
J0

examen microscopique



J3-M3

culture / identification



M1-2

antibiogramme



Diagnostic bactériologique : prélèvements

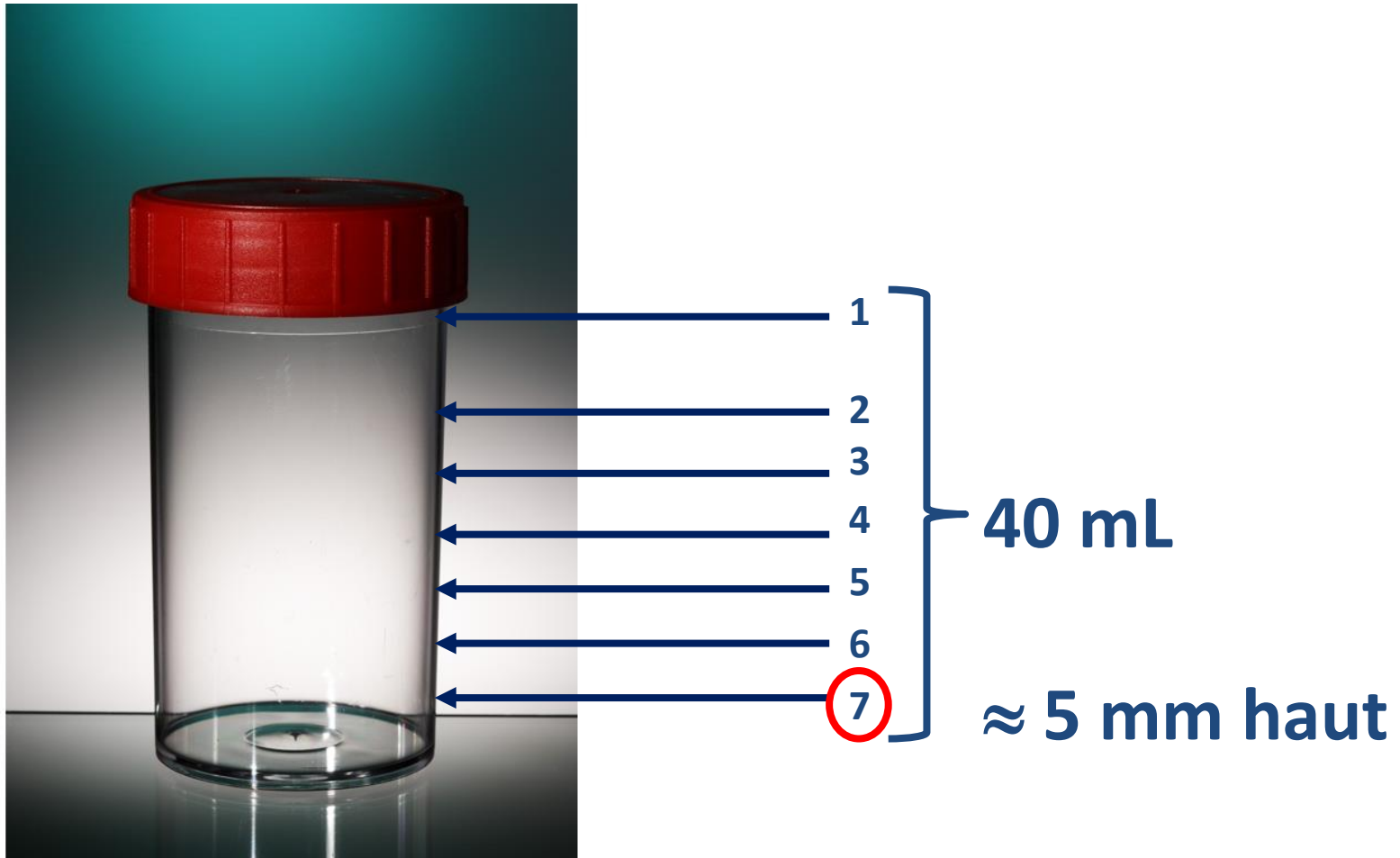
Prélèvements : qualité, volume

- Warren AJRCCM 200
 - Expectoration >5 mL Se=92%, <5mL Se=72%
- Alisjahbana, IJTLD 2005, Kahn Lancet 2007
 - Education patient sur qualité prélèvement améliore sensibilité

Au moins 5 mL

Apprendre aux patients à produire une bonne expectoration

**Contenance d'un « pot à crachat » ?
Laquelle de ces marques correspond à 5 ml ?**



Prélèvements : combien?

- Mase, IJTLD 2007
 - Apport mineur de la troisième expectoration pour la sensibilité de la microscopie

Table Incremental yield and increase in sensitivity of the third sputum specimen; weighted averages by subgroup

Subgroup	Incremental yield in number of smear-positive cases identified* % (95% CI)	Increase in sensitivity† % (95%CI)
Overall	2.3 (1.8–2.9), n = 29	3.1 (2.1–4.2), n = 20
Prospective studies	2.4 (1.7–3.1), n = 15	3.1 (1.3–5.0), n = 9
Retrospective studies	2.2 (1.4–3.1), n = 14	3.1 (1.8–4.4), n = 11
Fluorescence microscopy	3.0 (1.2–4.8), n = 10	2.4 (1.1–3.8), n = 12
Ziehl-Neelsen microscopy	2.3 (1.7–2.9), n = 19	4.7 (3.3–6.0), n = 8
Direct smears	2.3 (1.6–2.9), n = 17	2.3 (0.6–4.0), n = 6
Processed smears	5.6 (3.6–7.6), n = 12	4.1 (2.7–5.5), n = 14
Multicentre studies	2.4 (0.3–4.4), n = 4	n = 0

- Nelson, JCM 1998
 - Majorité de culture+ à 2 prélèvements

Collection order of specimen	No. of patients (%) that were:			
	Either ^a	Smear positive ^b		Smear negative
		Smear	Culture	
First	80 (67)	41 (73)	41 (73)	39 (61)
Second	33 (28)	8 (14)	11 (20)	22 (34)
Third	7 (5)	4 (7)	4 (7)	3 (5)
Fourth or later	0 (0)	3 (6)	0 (0)	0 (0)

- Mathew, JCM 2002
 - Pas de modification de la VPN avec une 3^{ème} expectoration

Day	No. of patients with negative result		NPV (%) (95% CI)	Increase (%) in NPV (95% CI)
	Culture	Smear		
1	451	461	97.8 (96.0–99.0)	
2	447	456	98.0 (96.3–99.1)	0.2 (–1.6–2.0)
3	444	452	98.2 (96.5–99.2)	0.2 (–1.6–2.0)

Multiplication des prélèvements améliore la sensibilité
 Pour la microscopie, 2 prélèvements suffisent
 Pour « éliminer » le diagnostic, 1 à 2 prélèvements suffisent

Récapitulatif prélèvements

- Expectations = 2
- Si pas d'expectoration ou BAAR-
 - Expectoration induite = LBA > Tubages
 - Probable intérêt des expectorations post-fibroscopie

**Diagnostic
bactériologique :
microscopie**

Recherche de BK dans les crachats par examen microscopique

Etape clé +++

Permet de dépister les formes les plus contagieuses (1/2 cas !)

Objectif de l'OMS = diagnostiquer 70% des tuberculoses M+

***Mycobacterium tuberculosis* (BK):**

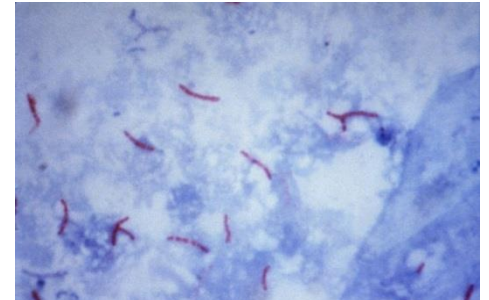
1. n'est pas présent dans la flore rhinopharyngée
2. peut être coloré spécifiquement (structure originale de sa paroi) :

coloration de Ziehl-Neelsen

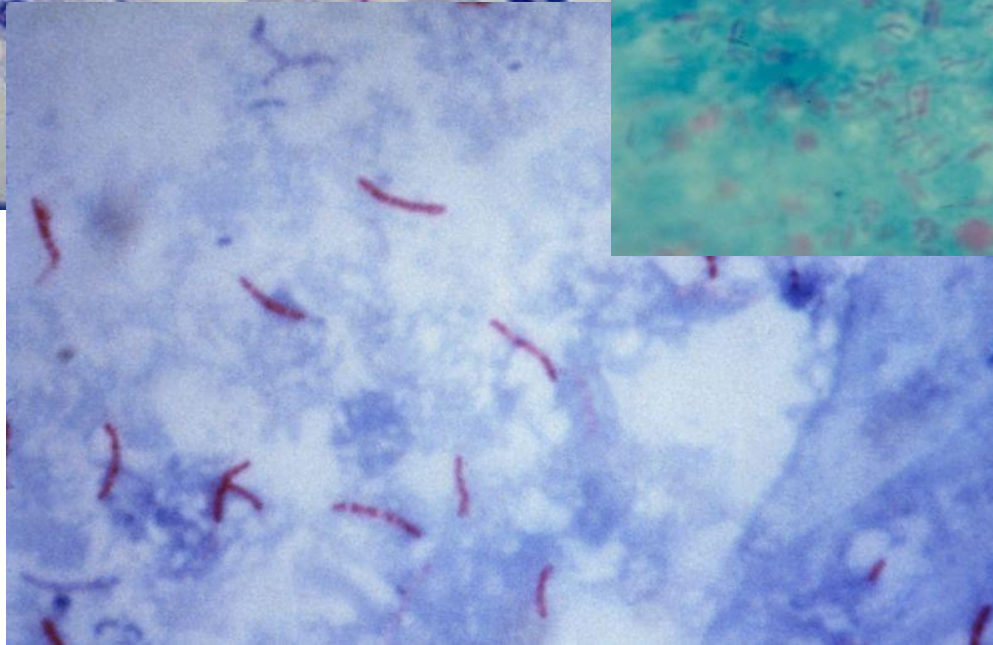
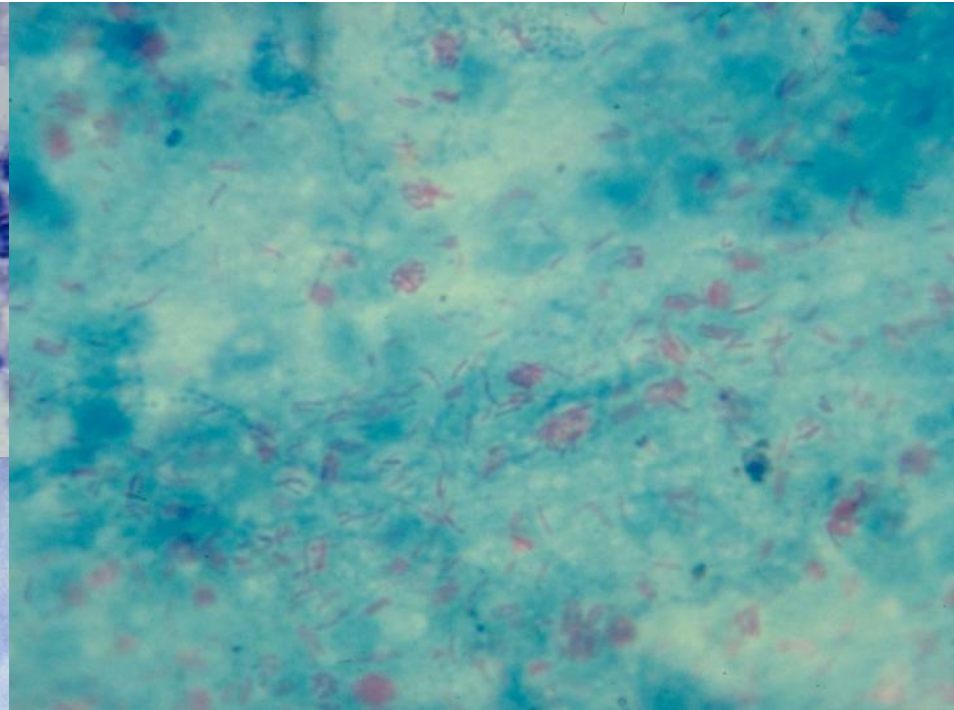
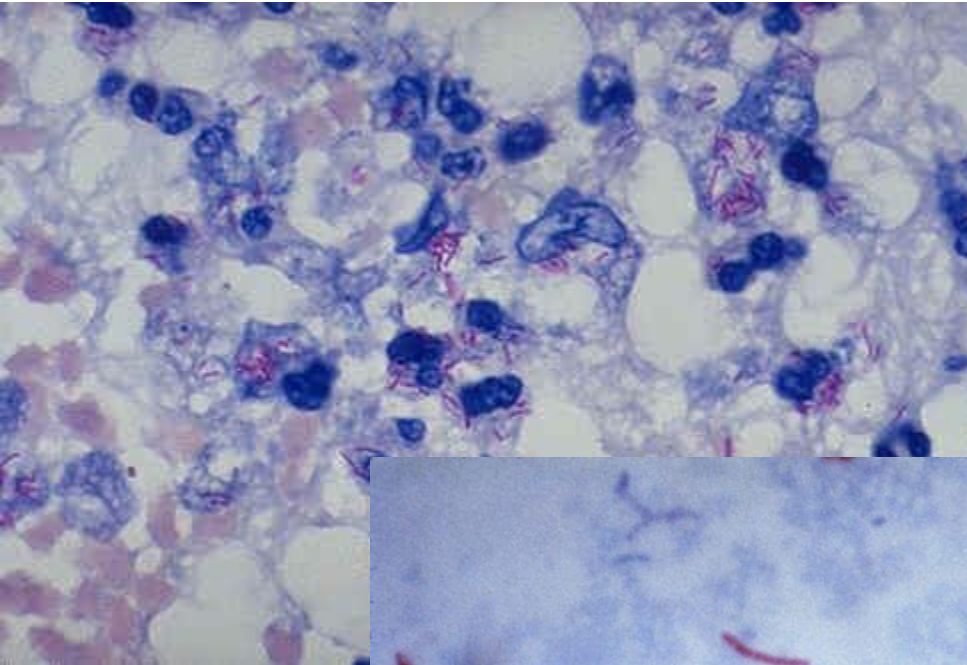
avec la fuchsine phéniquée (colorant fort rose) qui n'est pas éliminée par la double action de l'acide et de l'alcool (comme c'est le cas avec toutes les autres bactéries)

→ **BK = bacilles colorés en rose**

autres bactéries = colorées en bleu

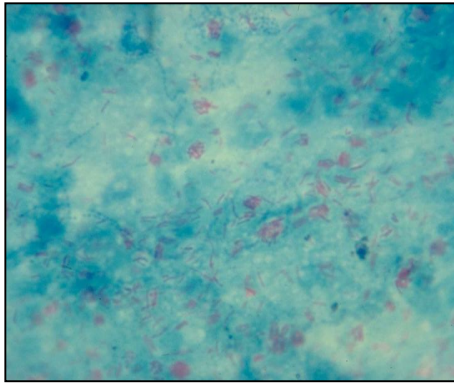


Mycobacterium tuberculosis (bacille de Koch)

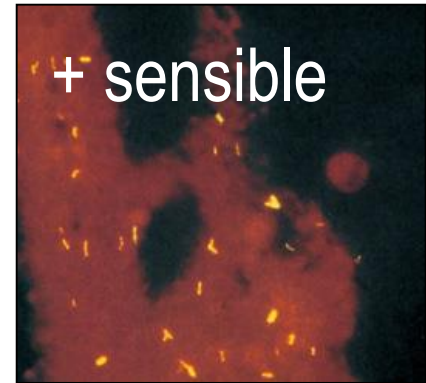


Différentes techniques de coloration

Ziehl Neelsen (x1000)
(15 min)



Auramine (x250)
(3 min)



Seuil =
 $5 \times 10^3 - 10^4$ bacilles/ml

- Nouvelles sources de fluorescence = LED
- durée de vie longue
 - robuste
 - pas de nécessité de courant continu/chambre noire



**Diagnostic
bactériologique :
culture**

Diagnostic de la tuberculose (mise en culture)

- Indispensable car :
 - plus sensible (10 à 100 BAAR/ml)
 - permet seule l'identification
 - permet la mesure de la sensibilité
 - permet le typage
- Impératifs :
 - décontamination si prélèvement contient une flore commensale (Δ mycobactéries pas insensibles aux agents décontaminants → surveiller le % culture contaminées)
 - tubes fermés (pour éviter la dessiccation, contamination)
 - exigences nutritionnelles +++ (milieux à l'œuf : Löwenstein-Jensen)
 - à 37°C (+/- 30°C) plusieurs semaines

Diagnostic de la tuberculose (mise en culture)

"classique" = milieux solides

- LONG (au moins 3 semaines)
- FASTIDIEUX



Diagnostic de la tuberculose (mise en culture)

Milieux liquides → gain de temps = 1 semaine



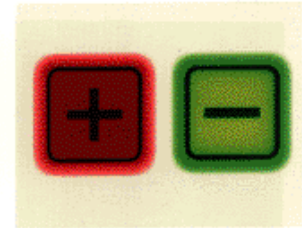
Step 1: Select workflow.



Step 2: Scan tube at instrument.



Step 3: Load where indicated by green LED.



Step 4: Remove positives and completed negatives as they occur.

Identification de l'espèce mycobactérienne à partir d'une culture

- 1^{ère} étape = éliminer une tuberculose !
- 2^{ème} étape = affirmer qu'ils s'agit d'une mycobactérie
- 3^{ème} étape = faire la diagnostic d'espèce précis
- Classiquement = méthodes phénotypiques :
 - vitesse de croissance
 - morphologie
 - pigmentation
 - classification de Runyon
 - caractéristiques biochimiques et de résistance aux antibiotiques

« Le test de grossesse de la tuberculose »



Test immunochromatographique d'identification de *M. tuberculosis* complex

Différents tests commercialisés : antigène MPT64 (!négatif chez BCG)

BD MGIT® TBc

BIOLINE TB Ag. MPT64®



1) Utilisation



Prélevez 100 µl de culture en milieu liquide, 100 µl de condensation ou colonies dissoutes dans 100 µl de diluant.

2) Lecture après 15 mn

NEGATIF



Visualisation de la bande contrôle

POSITIF

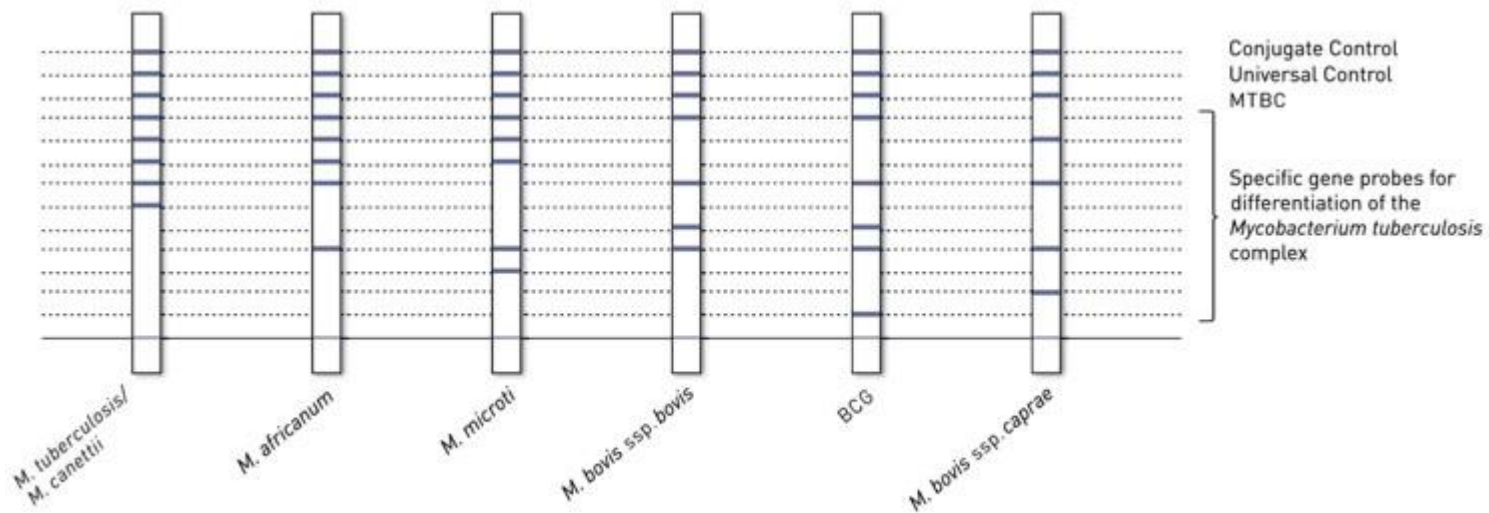


Visualisation de la bande contrôle et de la bande test du complexe *M. tuberculosis*

15 minutes, facile et pas cher (~ 5 euros)

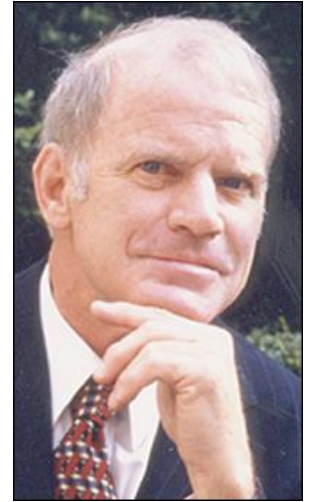
Complexe *M. tuberculosis*

- Genotype MTBC : identification membres complexe *M. tuberculosis* (++) *M. bovis*, R-pyrazinamide)



**Diagnostic
bactériologique :
amplification génique**

La PCR



- Réaction de polymérisation en chaîne
- PCR mise au point en 1983 par Kary Mullis
- L'amplification génique a pour but d'augmenter le nombre de copies d'un segment cible d'acide nucléique de manière à permettre sa détection
- Permet en théorie de détecter une molécule d'ADN
- Grand espoir pour le diagnostic de la tuberculose à partir des prélèvements

Performances de l'amplification génique dans le diagnostic bactériologique de la tuberculose

Tuberculose	Sensibilité	Spécificité	Prévalence	VPP	VPN
M+	98%	98%	85%	98%	90%
M-	72%	96%	5% ^a	?	?
			2% ^b	?	?
Extra-respiratoire (M-)	30%	98%	0,5%	?	?

a : pneumologie, SMIT, b : autres services

Performances de l'amplification génique dans le diagnostic bactériologique de la tuberculose BAAR -

Se = 72%	Culture +	Culture -
----------	-----------	-----------

Que faire devant ce constat?

Revue des Maladies Respiratoires 2004!

Nouveaux outils de diagnostic de la tuberculose : la révolution n'est pas achevée

PCR -	1,4 (5x0.28)	91,2 (95x0.96)
-------	-----------------	-------------------

$$= 49\%$$

$$VPN = 91,2 / (91,2 + 1,4) = 98\%$$

PCR : évolution des performances

Référence	Type d'étude	Technologie	Sensibilité parmi M-respiratoires
Sarmiento, JCM 2003	Méta-analyse	Plusieurs	72%

The NEW ENGLAND
JOURNAL *of* MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

SEPTEMBER 9, 2010

VOL. 363 NO. 11

Rapid Molecular Detection of Tuberculosis
and Rifampin Resistance

Catharina C. Boehme, M.D., Pamela Nabeta, M.D., Doris Hillemann, Ph.D., Mark P. Nicol, Ph.D.,
Shubhada Shenai, Ph.D., Fiorella Krapp, M.D., Jenny Allen, B.Tech., Rasim Tahirli, M.D., Robert Blakemore, B.S.,
Roxana Rustomjee, M.D., Ph.D., Ana Milovic, M.S., Martin Jones, Ph.D., Sean M. O'Brien, Ph.D.,
David H. Persing, M.D., Ph.D., Sabine Ruesch-Gerdes, M.D., Eduardo Gotuzzo, M.D., Camilla Rodrigues, M.D.,
David Alland, M.D., and Mark D. Perkins, M.D.

« At sites performing alternatives nucleic acid-amplification testing, the sensitivity of the MTB/RIF test performed directly on sputum was higher than that of Amplicor and similar to that of ProbeTec »

PCR : évolution des performances

Référence	Type d'étude	Technologie	Sensibilité parmi M-respiratoires
Sarmiento, JCM 2003	Méta-analyse	Plusieurs	72%
Boehme, NEJM 2010	Etude prospective	Xpert MTB/RIF	72%
Steingart, Cochrane 2014	Méta-analyse	Xpert MTB/RIF	67%

Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study

Susan E Dorman, Samuel G Schumacher*, David Alland, Pamela Nabeta, Derek T Armstrong, Bonnie King, Sandra L Hall, Soumitesh Chakravorty, Daniela M Cirillo, Nestani Tukvadze, Nino Bablishvili, Wendy Stevens, Lesley Scott, Camilla Rodrigues, Mubin I Kazi, Moses Joloba, Lydia Nakiyingi, Mark P Nicol, Yonas Ghebrekristos, Irene Anyango, Wilfred Murithi, Reynaldo Dietze, Renata Lyrio Peres, Alena Skrahina, Vera Auchynka, Kamal Kishore Chopra, Mahmud Hanif, Xin Liu, Xing Yuan, Catharina C Boehme, Jerrold J Ellner, Claudia M Denkinge, on behalf of the study team†*

« For tuberculosis case detection, sensitivity of Xpert Ultra was superior to that of Xpert in patients with paucibacillary disease »

PCR : évolution des performances

Référence	Type d'étude	Technologie	Sensibilité parmi M-respiratoires
Sarmiento, JCM 2003	Méta-analyse	Plusieurs	72%
Boehme, NEJM 2010	Etude prospective	Xpert MTB/RIF	72%
Steingart, Cochrane 2014	Méta-analyse	Xpert MTB/RIF	67%
Dorman, LID 2018	Etude prospective	Xpert Ultra	63%
		Xpert MTB/RIF	46%

Attention aux effets d'annonce!

Pas d'amélioration de la sensibilité en 15 ans

Attention à la spécificité

- Dorman, LID 2018 : Ultra vs MTB/RIF

	Sensitivity		Specificity		
	All culture-positive (95% CI; n/N)	Smear-negative, culture-positive (95% CI; n/N)	All culture-negative (95% CI; n/N)	No history of tuberculosis (95% CI; n/N)	Any history of tuberculosis (95% CI; n/N)
Xpert	83% (79-86; 383/462)	46% (37-55; 63/137)	98% (97-99; 960/977)	98% (97-99; 715/727)	98% (95-99; 244/249)
Xpert Ultra	88% (85-91; 408/462)	63% (54-71; 86/137)	96% (94-97; 934/977)	96% (95-98; 701/727)	93% (89-96; 232/249)

Ultra = spécificité plus basse → VPP plus basse?

- Zifodya, Cochrane Review, 2021

N cas détectés pour 1000 tests	Prévalence (%)					
	2,5		10		30	
	Ultra	Xpert	Ultra	Xpert	Ultra	Xpert
Vrais positifs	23	21	91	85	273	254
Faux négatifs	2	4	9	15	27	46
Vrais négatifs	932	959	860	886	669	689
Faux positifs	43	16	40	14	31	11
VPP	33%	57%	69%	86%	90%	96%

Attention à la perte de spécificité : baisse VPP sensible en particulier si faible suspicion

Comment améliorer la VPP de la PCR : de meilleurs prélèvements

- Jiang, IJTLD 2019
- Comparaison prélèvement sans consigne et explication importance purulence et volume >3mL

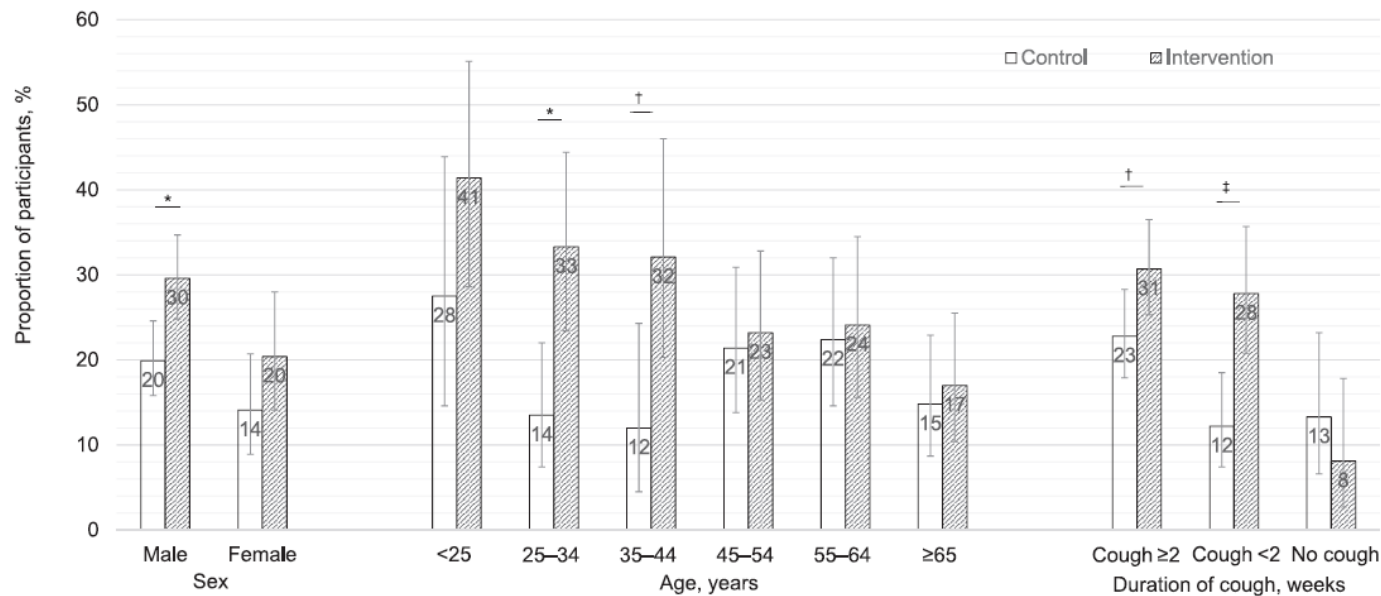


Figure 3 Molecular positivity among enrolled suspects, stratified by sex, age and self-reported symptoms. * $P < 0.01$. † $P < 0.05$. ‡ $P < 0.001$.

PCR+ associée à l'amélioration pré-analytique (27% vs 18%; $p=0,001$)

Comment améliorer la VPP de la PCR : de meilleures indications

- Maître, RMR 2021
- Analyse de la rentabilité des prélèvements respiratoires pour diagnostic par PCR

Aspiration bronchiques : N	1354
% positives en culture	38 (2,8%)
VPP théorique	70%
PCR faite sur X prélèvements	624 (46%)
VPP observée	89%

4,6 %C+ vs 1,6%
chez les non retenus
 $p < 0,05$

Stratégie PCR basée sur endoscopie bronchique avec prélèvements orientés par un expert

Amplification génique : Conclusion

- Pour faire un bon diagnostic il faut faire de bons prélèvements
- Diagnostic moléculaire à intégrer dans une stratégie diagnostique globale (pas de PCR « pêche à la ligne »)

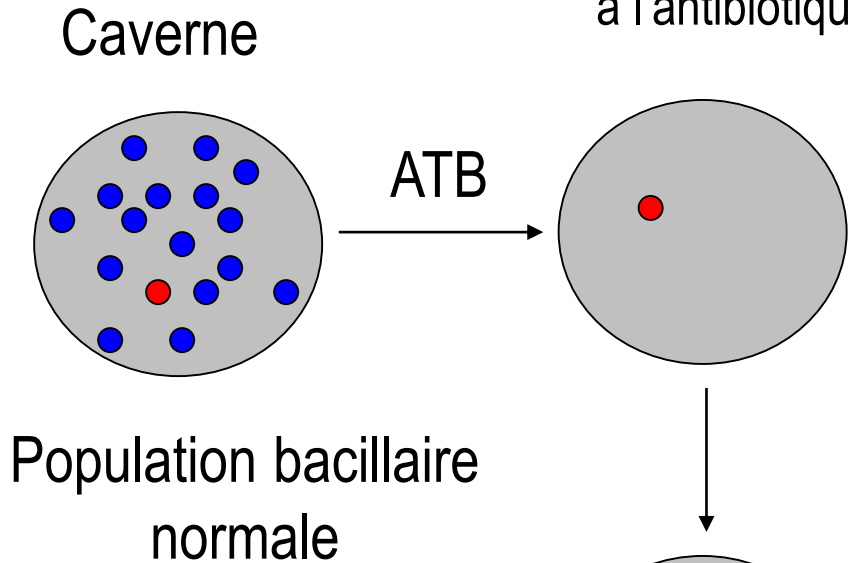


Diagnostic de la résistance

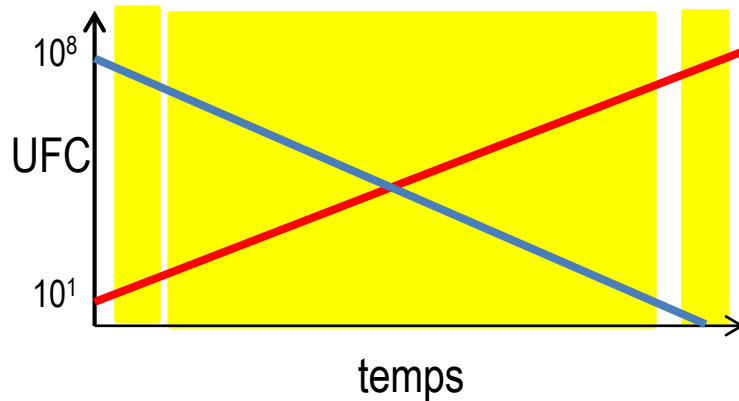
Bases microbiologiques : sélection de mutants résistants

- Bacille sensible
- Bacille résistant à l'antibiotique

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



Population bacillaire devenue résistante



Population bacillaire hétérogène due à la lenteur du processus de sélection

Diagnostic phénotypique

Diagnostic génotypique

Conséquences thérapeutiques

MESURE DE LA SENSIBILITÉ DU BACILLE TUBERCULEUX
AUX DROGUES ANTIBACILLAIRES
PAR LA MÉTHODE DES PROPORTIONS.

MÉTHODOLOGIE, CRITÈRES DE RÉSISTANCE,
RÉSULTATS, INTERPRÉTATION

par

G. CANETTI, N. RIST et J. GROSSET
(Institut Pasteur, Paris).



Critères bactériologiques

Une souche résistante à un antibiotique donné est une souche dont la teneur en variants résistants à l'antibiotique est considérablement plus élevée que celle des souches sauvages. On appelle *concentration-critique* la concentration sur laquelle on se fonde principalement (mais non exclusivement), pour faire la discrimination entre souche sensible et souche résistante. On appelle *proportion-critique* la proportion minima de colonies qui doit exister sur la concentration-critique pour qu'une souche soit classée comme résistante.

- La **concentration critique d'antibiotique** est choisie pour distinguer les souches probablement résistantes des souches probablement sensibles
- La **proportion critique de bactéries** est la proportion minimale de colonies résistantes à la concentration critique qui dans une population va faire classer la souche comme résistante

Souche R = souche avec proportion de bacilles R
>>>celle d'une souche S

Proportion critique

b) La proportion-critique doit être très supérieure à la teneur *moyenne* des souches sauvages en variants de la résistance correspondante, afin de tenir compte des souches sauvages où les variants résistants sont particulièrement abondants.

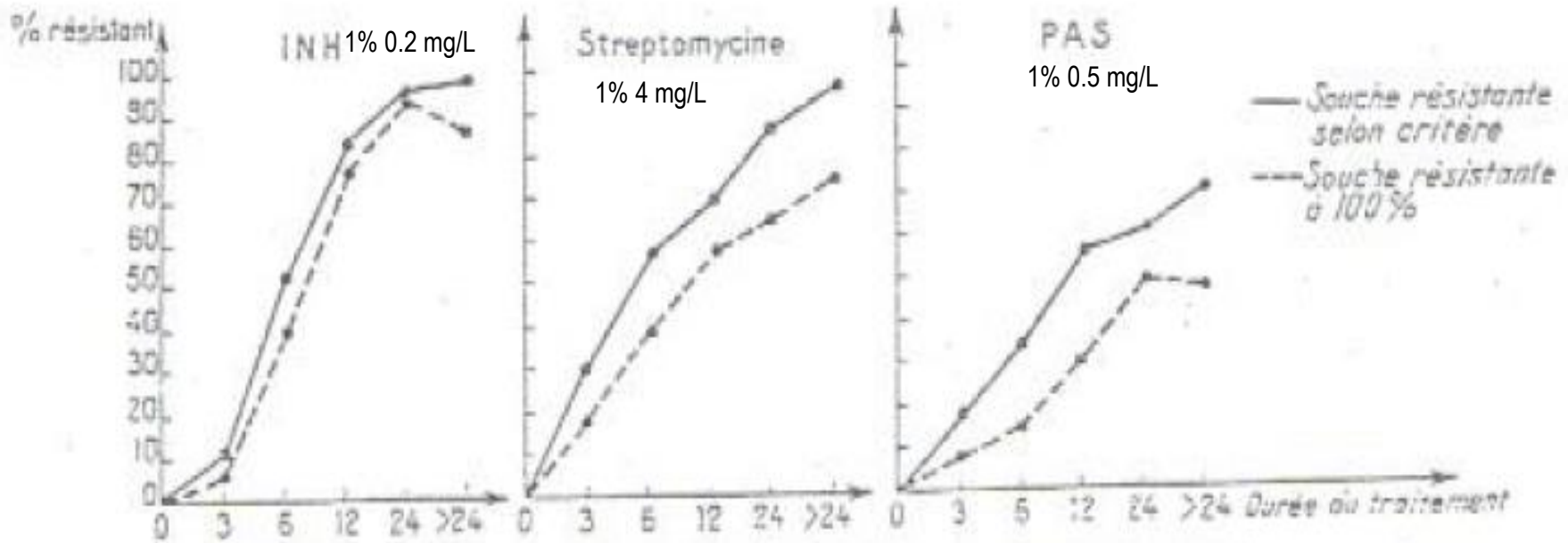
- **La proportion critique doit être très supérieure à la proportion naturelle de mutants résistants dans une souche sauvage**

c) La proportion-critique doit être un nombre très simple, afin qu'elle soit facile à retenir, et facile à calculer lors d'un test de résistance. Etant donné le caractère quelque peu arbitraire de la proportion-critique, il est toujours possible de choisir un pareil nombre. Les seules proportions-critiques adoptées ici sont, selon les antibiotiques, 1 %, 10 % ou 100 % (1), ainsi qu'on le verra plus loin. La simplicité du nombre choisi est un facteur essentiel pour la facilité d'emploi de la méthode.

- **Elle a été fixée par soucis de simplicité à 1%**

Contrôle clinique des critères

On a vu que de bons critères de résistance doivent satisfaire à une exigence fondamentale : extérioriser de manière cohérente la montée de fréquence des souches résistantes avec la prolongation des traitements. Les tableaux XII et XIII

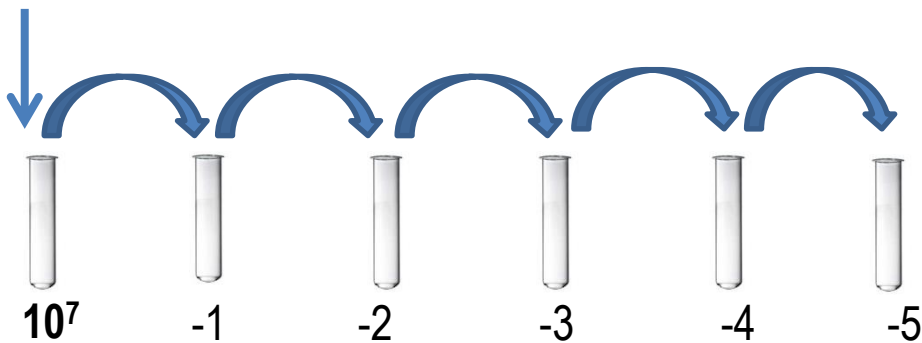


↑ durée traitement → ↑ proportion patients infectés par une souche classée "R" (= bonne "sensibilité")

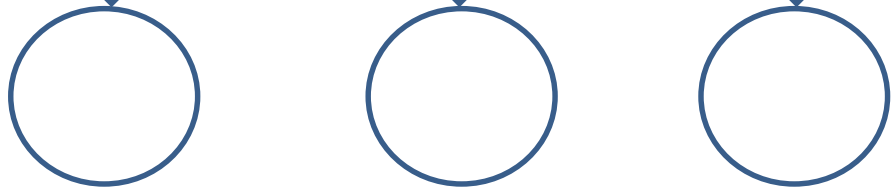
La méthode des proportions



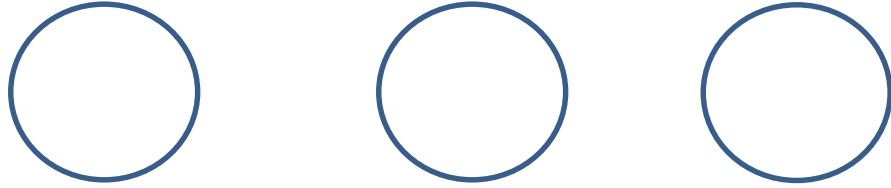
Culture primaire



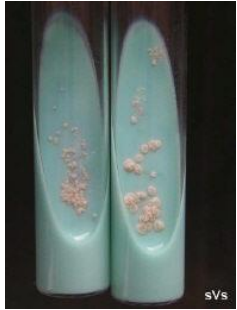
Milieu avec ATB



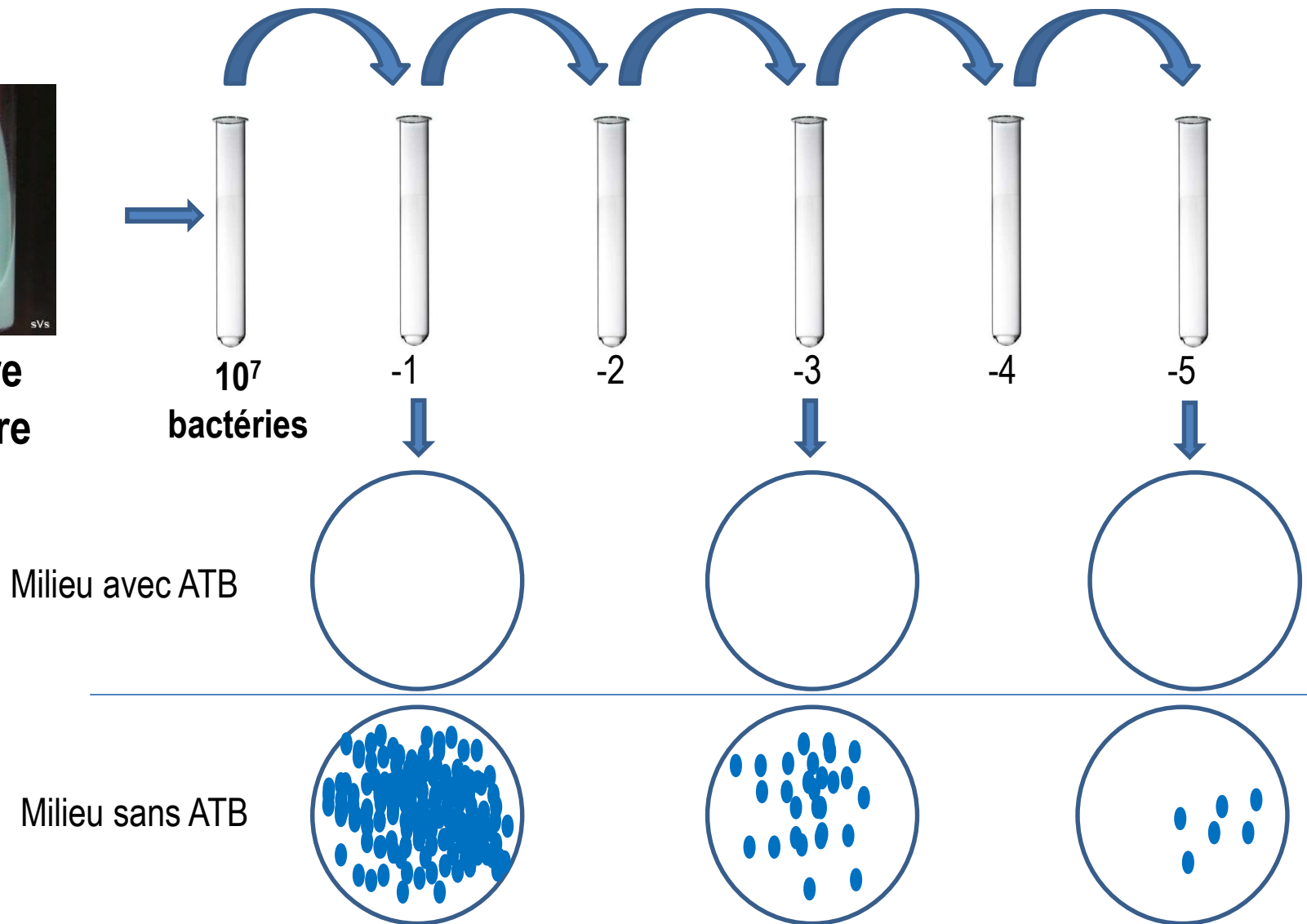
Milieu sans ATB



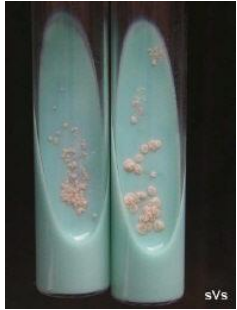
Cas n°1: souche uniformément sensible (proportion mutants résistants < 1%)



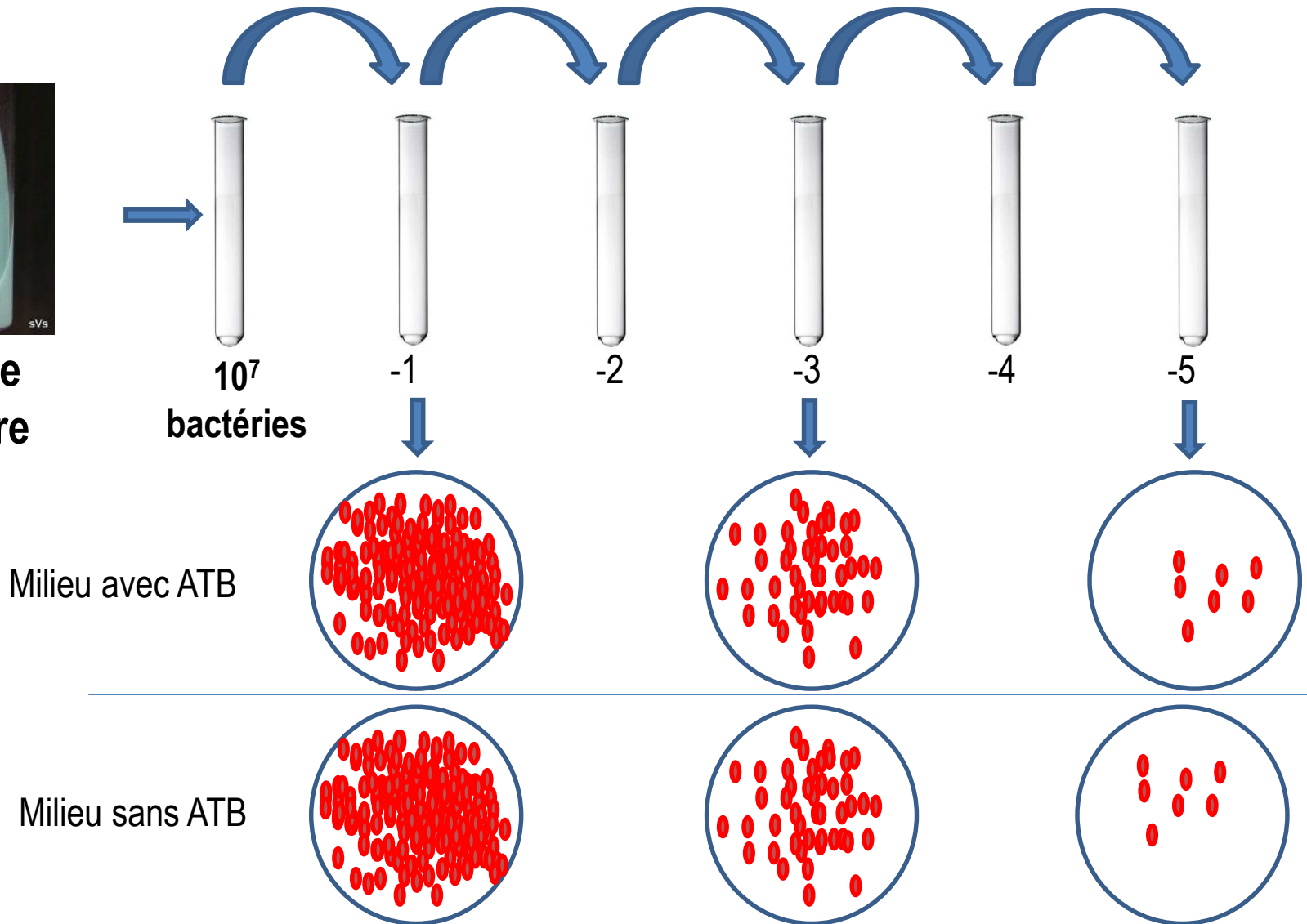
**Culture
primaire**



Cas n°2: souche uniformément résistante (proportion mutants résistants = 100 %)



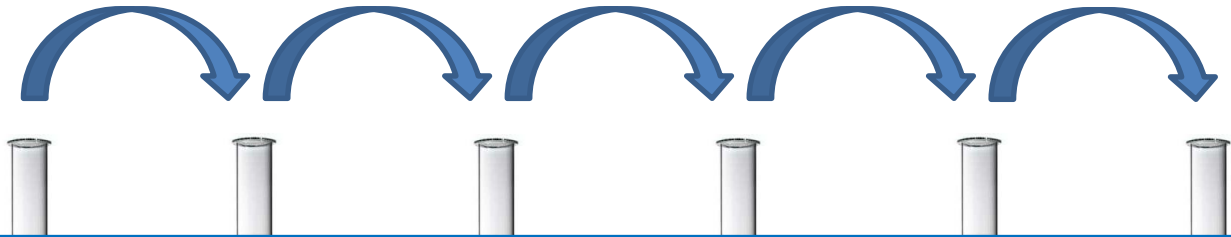
**Culture
primaire**



Cas n°3: souche hétérogène (=hétérorésistance)

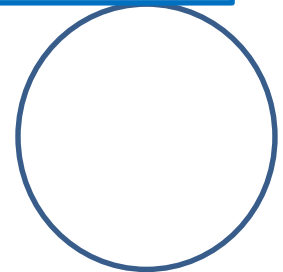
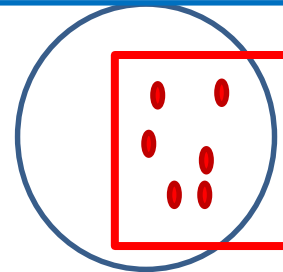
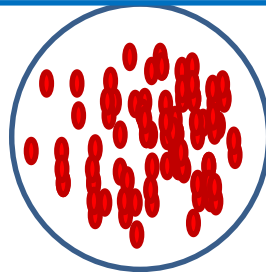


Culture
primaire

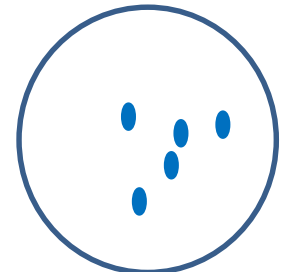
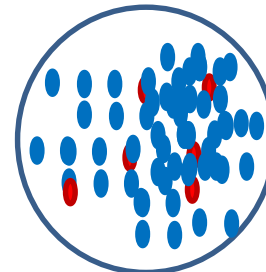
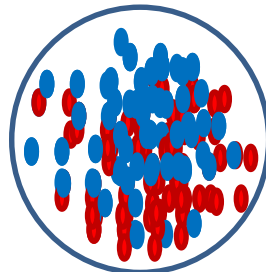


Proportion de mutants résistants $< 1\%$ \rightarrow souche S
 $\geq 1\%$ \rightarrow souche R

Milieu avec ATB



Milieu sans ATB



Culture liquide de *M. tuberculosis*

RADIOMETRIC DETECTION OF THE METABOLIC ACTIVITY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Dan M. Cummings, David Ristroph, Edwaldo E. Camargo, Steven M. Larson, and Henry N. Wagner, Jr.

*National Health Laboratory, Arlington, Virginia,
First Army Medical Laboratory, Fort Meade, Maryland,
and the Johns Hopkins Medical Institutions, Baltimore, Maryland*

J Nucl Med. 1975;16:1189-1191.

Rapid Drug-Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis*¹⁻⁴

DIXIE E. SNIDER Jr, ROBERT C. GOOD, JAMES O. KILBURN, LEONARD F. LASKOWSKI Jr,
RODNEY H. LUSK, J. JOSEPH MARR, ZULEMA REGGIARDO, and GARDNER MIDDLEBROOK

- Impossibilité de compter les colonies
 - Comment reproduire la méthode des proportions?
-
- Comparaison de 2 méthodes :

Inoculum dilué au 1/100 pour tube témoin
Croissance tube ATB \geq tube témoin \rightarrow R
Croissance tube ATB $<$ tube témoin \rightarrow S

A : 1% reproduit

Croissance tube ATB \geq 50% tube témoin \rightarrow R
Croissance tube ATB $<$ 50% tube témoin \rightarrow S

B : Plus de 1%

Méthode A (1%) $>$ Méthode B
BACTEC 460 basé sur la méthode du 1%

Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs

TABLE 3.3 DST methods and critical concentrations for first- and second-line DST

DRUG GROUP ^a	DRUG	STANDARDIZED DST METHOD AVAILABLE	DST CRITICAL CONCENTRATIONS (µg/ml)			
			Löwenstein- Jensen ^b	Middlebrook 7H10 ^b	Middlebrook 7H11 ^b	MGIT960
Group 1 First-line oral anti-TB agents	Isoniazid	Solid, liquid	0.2	0.2	0.2	0.1
	Rifampicin ^c	Solid, liquid	40.0	1.0	1.0	1.0
	Ethambutol ^d	Solid, liquid	2.0	5.0	7.5	5.0
	Pyrazinamide	Liquid	-	-	-	100.0
Group 2 Injectable anti-TB agents	Streptomycin ^e	Solid, liquid	4.0	2.0	2.0	1.0
	Kanamycin	Solid, liquid	30.0	5.0	6.0	2.5
	Amikacin	Solid, liquid	30.0	4.0	-	1.0
	Capreomycin	Solid, liquid	40.0	4.0	-	2.5
Group 3 Fluoroquinolones	Ofloxacin ^f	Solid, liquid	4.0	2.0	2.0	2.0
	Levofloxacin	Solid, liquid	-	1.0	-	1.5
	Moxifloxacin ^g	Solid, liquid	-	0.5/2.0	-	0.5/2.0
	Gatifloxacin ^h	Solid	-	1.0	-	-
Group 4 ⁱ Oral bacteriostatic second-line anti-TB agents	Ethionamide	Solid, liquid	40.0	5.0	10.0	5.0
	Prothionamide	Solid, liquid	40.0	-	-	2.5
	Cycloserine	Solid	30.0	-	-	-
	<i>Para</i> -aminosalicylic acid	Solid, liquid	1.0	2.0	8.0	4.0

Recommandations internationales
1 concentration par antibiotique

Diagnostic phénotypique

- Méthode des proportions utilisée depuis plus de 50 ans
- Basée sur une concentration et une proportion critique
 - Passée du solide au liquide
- Corrélation avec échec clinique

Diagnostic phénotypique

Diagnostic génotypique

Conséquences thérapeutiques

Diagnostic génotypique : le début

Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*

AMALIO TELENTI PAUL IMBODEN FRANCINE MARCHESI
DOUGLAS LOWRIE STEWART COLE M. JOSEPH COLSTON
LUKAS MATTER KURT SCHOPFER THOMAS BODMER

Lancet 1993; **341**: 647–50.

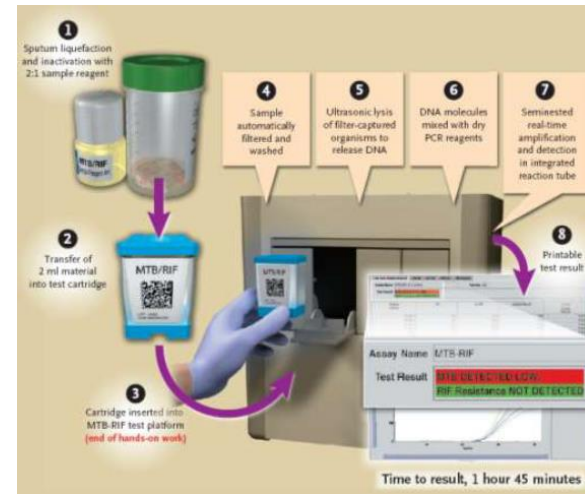
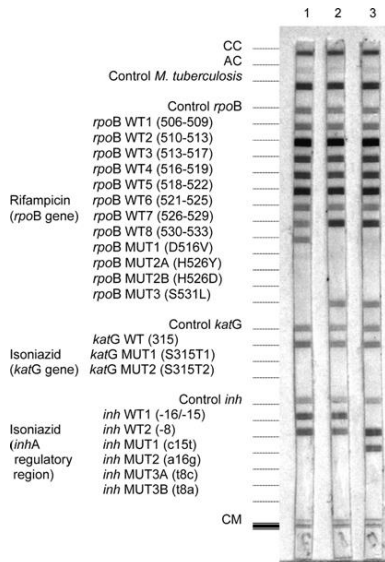
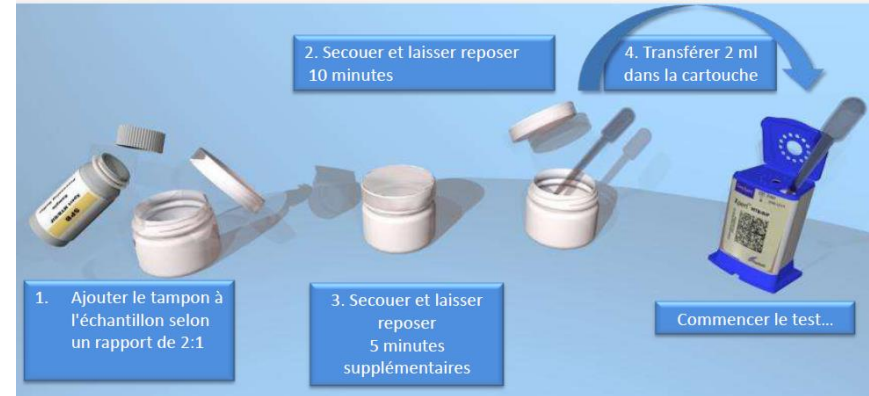
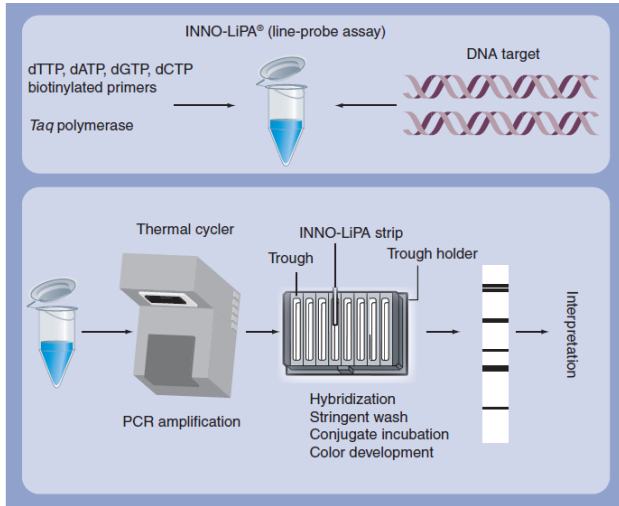
- 122 souches clinique *M. tuberculosis*
- Amplification/séquençage *rpoB*
- Pas de mutation dans les 56 souches sensibles (séquence identique H37Rv)
- Mutations *rpoB* dans 64/66 souches résistantes

Première démonstration de la possibilité d'un diagnostic génotypique
Bonne prédiction de la résistance (64/64 mutés sont résistants = 100%)
Prédiction imparfaite de la sensibilité (56/58 non mutées sont sensibles = 97%)

Diagnostic génotypique

- Mise en évidence de mutations sur les gènes qui confèrent la résistance à l'antibiotique
 - Amplification du gène et étude des mutations sur les amplifiats
- Permettent d'accélérer le diagnostic des résistances mais
 - Dépendent de la connaissance des mécanismes de résistance et de l'impact des mutations sur le phénotype de résistance
- Plusieurs tests :
 - INNOLIPA RifTB
 - MTBDR*plus*
 - Xpert MTB/RIF
 - MTBDR*s/*

Technologies MTBDR, Xpert MTB/RIF



Gènes étudiés

		Gène étudié	Code pour
Rifampicine	MTBDRplus	<i>rpoB</i>	ARN polymerase
	Xpert MTB/RIF		
Isoniazide	MTBDRplus	<i>katG</i> 315 Région régulatrice <i>inhA</i>	Catalase Synthèse acides mycoliques
Fluoroquinolones	MTBDRsl	<i>gyrA</i>	ADN gyrase
Amikacine		<i>rrs</i>	ARN
Kanamycine			
Capréomycine			
Ethambutol			

Performances : méta-analyses

		sensibilité	spécificité
Rifampicine	MTBDR <i>plus</i>	98%	99%
	Xpert MTB/RIF	94%	98%
Isoniazide	MTBDR <i>plus</i>	84%	99%
Fluoroquinolones	MTBDR <i>s/</i>	87%	97%
Amikacine		83%	99%
Kanamycine		44%	99%
Capréomycine		82%	97%
Ethambutol		68%	80%

Steingart 2013
Feng 2013
Ling 2008

Performances

- excellentes pour rifampicine ⇒ recommandé pour toute nouveau cas de TB pour dépistage de la multirésistance (90% des RIF-R sont MDR) : Recommandation HCSP 2015
- bonnes pour isoniazide, fluoroquinolones, amikacine, capréomycine
- médiocres pour kanamycine et éthambutol

Un test avec mutation *rpoB* est-il toujours prédictif de résistance à la rifampicine?

Si sensibilité = 100% pour détection de résistance à la rifampicine et spécificité de 98%, alors quelle est la VPP d'un test détectant une mutation?

France

Avec
ATCD

Sans
ATCD

Prévalence de la résistance	30%	9%	2%
N souches R pour 1000 patients	300	90	20
N faux positifs pour 1000 tests (Sp=98%)	20	20	20
VPP	94%	82%	50%

VPP dépend de prévalence résistance
En cas de faible probabilité, contrôler le test



Deeplex MycTB : exemple de résultat

- Prédiction de résistance basée sur la détection de variants et comparaison avec database
- Variants inconnus listés
- Détection d'hétérogénéité jusqu'à 2%

Composite reference coverage **99.3%**
 Median depth of coverage* **25759x**

Drug resistance associated variants³

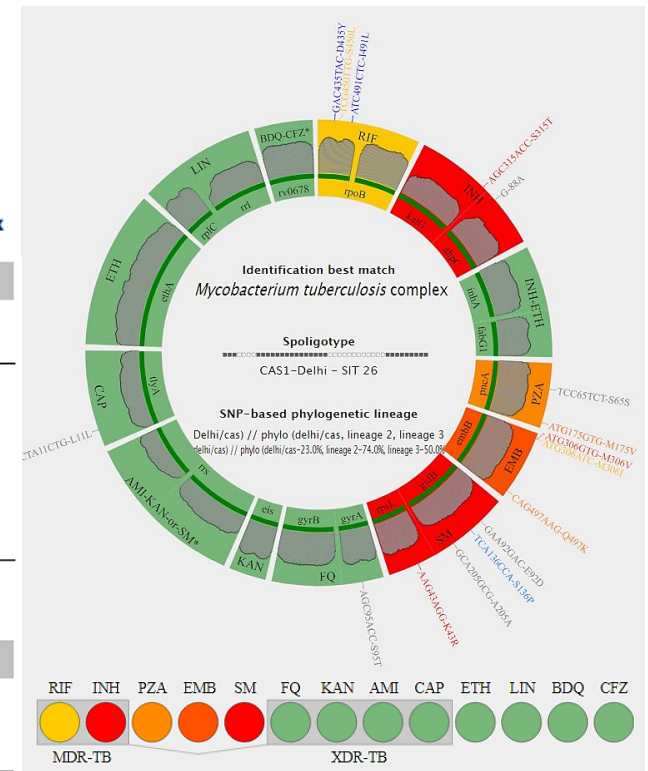
Gene	Genomic position	Codon change	% Variant	Dx-score	AA change	Drug*	Confidence	PMID
<i>embB</i>	4247429	ATG306GTG	76.0	2018.00	M306V	EMB	n/a	Campbell PJ et al., 2011
<i>embB</i>	4247431	ATG306ATC	20.8	718.50	M306I	EMB	n/a	Campbell PJ et al., 2011
<i>embB</i>	4248002	CAG497AAG	23.5	1638.00	Q497K	EMB	n/a	Plinke C et al., 2010
<i>katG</i>	2155168	AGC315ACC	100	557.25	S315T	INH	High	Marttila HJ et al., 1996
<i>pncA</i>	2288719	ATG175GTG	47.5	948.75	M175V	PZA	High	n/a
<i>rpoB1</i>	761155	TCG450TTG	18.2	1634.25	S450L	RIF	High	Campbell PJ et al., 2011
<i>rpsL</i>	781687	AAG43AGG	83.8	13069.50	K43R	SM	High	Feuerriegel S et al., 2012

No drug resistance associated variants detected in the other gene targets.

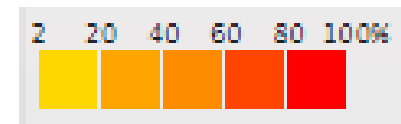
Uncharacterized variants³

Uncharacterized variants designate sequence variants of as yet unknown association with drug sensitivity or resistance.

Gene	Genomic position	Codon change	% Variant	Dx-score	AA change	Drug*
<i>gidB</i>	4407797	TCA136CCA	31.0	1415.25	S136P	SM
<i>rpoB1</i>	761277	ATC491CTC	83.6	14776.50	I491L	RIF
<i>tlyA</i>	1917972	CTA11CTG	99.7	591.75	L11L	CAP



% de variants associés à la résistance



Deplex : performances

- Jouet, ERJ 2021
- 429 souches, comparaison avec antibiogramme phénotypique

	Phenotypically resistant					Phenotypically susceptible					All	
	Deplex Myc-TB n				Total n	Deplex Myc-TB n				Total n	Sensitivity %	Specificity %
	R	R _h	S	U		R	R _h	S	U			
Rifampicin	159	0	1	2	162	3	0	253	6	262	98.1 (94.7–99.4)	98.9 (96.7–98.2)
Isoniazid [#]	176	0	3	8	187	3	0	200	34	237	94.1 (89.8–96.7)	98.7 (96.3–99.6)
Pyrazinamide [¶]	39	3	7	4	53	0	0	146	5	151	79.2 (66.5–88.0)	100 (97.5–100)
Ethambutol	95	0	8	5	108	26	2	285	3	316	88.0 (80.5–92.8)	91.1 (87.5–93.8)
Streptomycin	49	0	5	36	90	1	0	91	33	125	54.4 (44.2–64.3)	99.2 (95.6–99.9)
Fluoroquinolones [*]	17	1	1	2	21	0	0	183	13	196	85.7 (65.4–95.0)	100 (98.1–100)
Amikacin	9	0	0	0	9	0	0	184	14	198	100 (70.1–100)	100 (98.1–100)
Kanamycin	2	1	1	0	4	0	0	3	0	3	75.0 (30.1–95.4)	100 (43.9–100)
Capreomycin	2	1	1	0	4	0	0	5	0	5	75.0 (30.1–95.4)	100 (56.6–100)
Ethionamide	18	1	1	6	26	6	0	172	12	190	73.1 (53.9–86.3)	96.8 (93.3–98.5)
Linezolid	0	0	0	0	0	0	0	20	2	22	NA	100 (85.1–100)
Total	566	7	28	63	664	39	2	1542	122	1705	86.3 (83.5–88.7)	97.6 (96.7–98.2)

Bonne prédiction résistance et sensibilité

Whole genome sequencing

- Makhado, Lancet ID, 2018
- *rpoB* mutation Ile491Phe not screened by commercial tests
- Restrospective analysis of 1823 isoniazid resistant and rifampin susceptible strains
- 277 strains randomly selected for study
- Deeplex-MycTB deep sequencing
 - 37 with *rpoB* Ile491Phe mutation = MDR

WGS detects low-level rifampin resistance better than current genotypic tests and than phenotypic DST
Is WGS able to predict susceptibility?

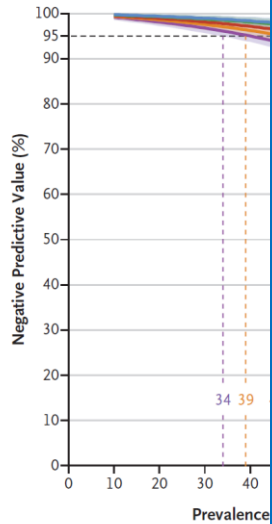
Prediction of Susceptibility
by
The CRyPTIC C

10 209 *M. tu*

Detection (%)

R

S



Beware of announcements!

10 209 genomes



7516 complete DST



5865 interpretable genomes



5250 concordant with DST
=70% of strains with DST
= 51% of genomes

**Proof of concept but not
of feasibility in real life**

**ceptibility
revalence**

Quelles performances en cas de population hétérogène?

- Zetola, JCM 2014
 - Xpert MTB/RIF détecte
 - Toutes les souches RIF-R si résistance homogène
 - La moitié des souches RIF-R si population résistante = 90 à 99% de la population totale
 - Aucune souche RIF-R si population résistante <90% de la population totale
 - Hétérorésistance non détectée = facteur de mauvais pronostic
- Folkvardsen, JCM 2013
 - MTBDR_{plus} détecte 1/5 souches R-INH si 1% de la population (mais mieux que séquençage)
- Bernard, JAC 2016
 - Séquençage *gyrA*, *gyrB* ne détecte que 1/3 des souches hétérogènes

Tests peu performants si population hétérogène

Mutation ≠ Résistance

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

Mutation ne conférant pas la résistance

- Aubry, PLOS One 2014
 - Souches détectées comme résistance aux fluoroquinolones par MTBDRs/ mais phénotypiquement sensibles
 - Polymorphisme régional



Table 3. Characteristics of mutations in drug target genes from the 15 MDR-TB isolates.

No. of isolates	Drug target genes					MIRU-VNTR patterns	Spoligotyping based defined clades
	<i>rpoB</i>	<i>katG</i>	<i>rpsL</i>	<i>gyrA</i>	<i>gyrB</i>		
N=8	D516V	S315T	wt	T80A+A90G	wt	253333253232237253214423	T
N=1	D516V	S315T	wt	T80A+A90G	wt	254333253232237253214423	T
N=1	S531L+V577M	H270P	wt	wt	G559A	255333143262325262213423	T
N=1	D516Y	S315T	K43R	wt	wt	273335444432455253213423	Beijing
N=1	L511R+D516Y	S315T	K43R	wt	wt	273335444432655253213423	Beijing
N=1	L511P+D516Y	S315T	K43R	wt	wt	273335444432655253213423	Beijing
N=1	S531L	S315T	K43R	wt	wt	251313542122437262112415	LAM
N=1	S531Q	Del	wt	wt	wt	251323142122234262213523	LAM

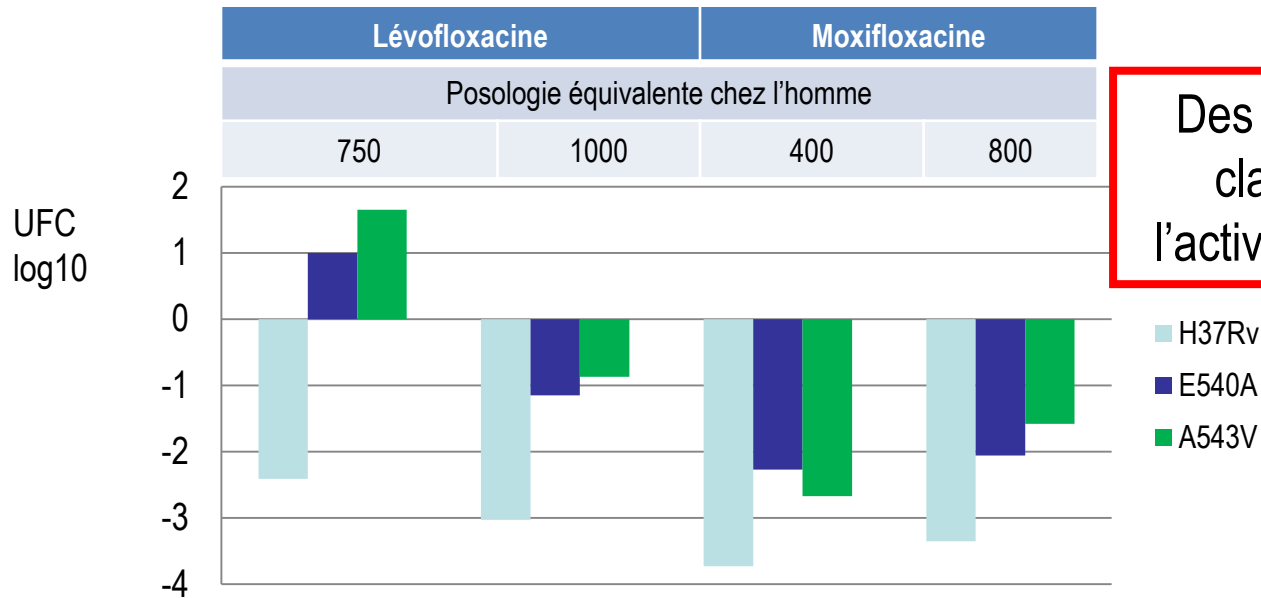
Les tests génotypiques peuvent ne pas avoir les mêmes performances dans tous les contextes épidémiologiques

GyrB : bas niveaux de résistance mal détectés par tests phénotypiques

Génotype		Phénotype : CMI (µg/ml)	
GyrA	GyrB	lévofloxacine	moxifloxacine
WT	WT	≤ 0,25	≤ 0,25
WT	E540A	0,5	0,5
WT	A543V	1	0,5

« Officiellement » sensibles

Medicine	Abbreviation	Critical concentrations (µg/ml) for DST by medium			
		Löwenstein-Jensen ¹	Middlebrook 7H10 ¹	Middlebrook 7H11 ¹	BACTEC MGIT liquid culture ¹
Levofloxacin (CC)	LFX ^{2,3}	2.0	1.0	-	1.0
Moxifloxacin (CC)	MFX ^{2,3}	1.0	0.5	0.5	0.25



Des mutants GyrB avec CMI classées « S » réduisent l'activité des quinolones *in vivo*

Maitre, JAC 2016

Un exemple où le diagnostic génotypique est supérieure au diagnostic phénotypique

Rifampicine et bas niveau de résistance

Détection résistance en

LJ et MGIT



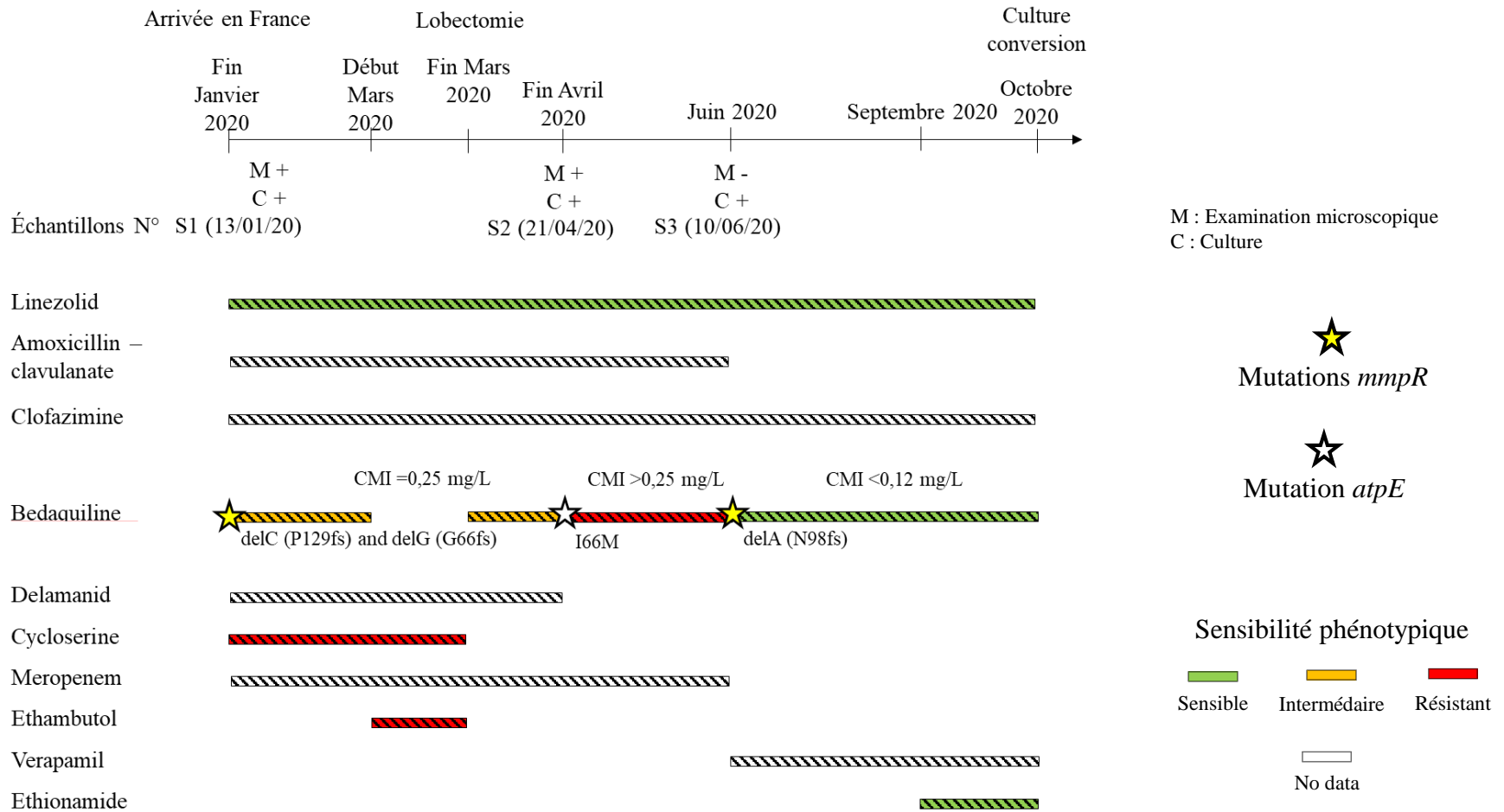
tuberculosis isolates

<i>rpoB</i> mutation type	No. of strains	LJ result (MIC ₉₉ [μg/ml])	No. (%) of isolates determined to be resistant	
			LJ (at MIC ₉₉)	MGIT (at 1 μg/ml)
511Pro	6	80-640	6 (100)	0
513Lys	2	>640	2 (100)	2 (100)
513Pro	3	>640	3 (100)	3 (100)
516Phe	4	>640	4 (100)	4 (100)
516Val	15	320->640	15 (100)	15 (100)
516Tyr	6	320->640	6 (100)	0
522Gln	11	320->640	11 (100)	8 (73)
522Leu	2	>640	2 (100)	2 (100)
526Asp	11	≧640	11 (100)	8 (73)
526Arg	5	>640	5 (100)	5 (100)
526Leu	10	≧640	10 (100)	6 (60)
526Tyr	14	≧640	14 (100)	10 (71)
526Asn	5	80->640	5 (100)	1(20)
531Leu	10	≧640	10 (100)	10 (100)
531Trp	4	>640	4 (100)	4 (100)
533Pro	14	160->640	14 (100)	0
572Phe	7	40->640	6 (86)	0

Certaines mutations *rpoB* confèrent un bas niveau de résistance difficile à détecter phénotypiquement **mais** qui ont été associées à des échecs du traitement
! révision CC par OMS
1 → 0,5 mg/L

Bédaquiline

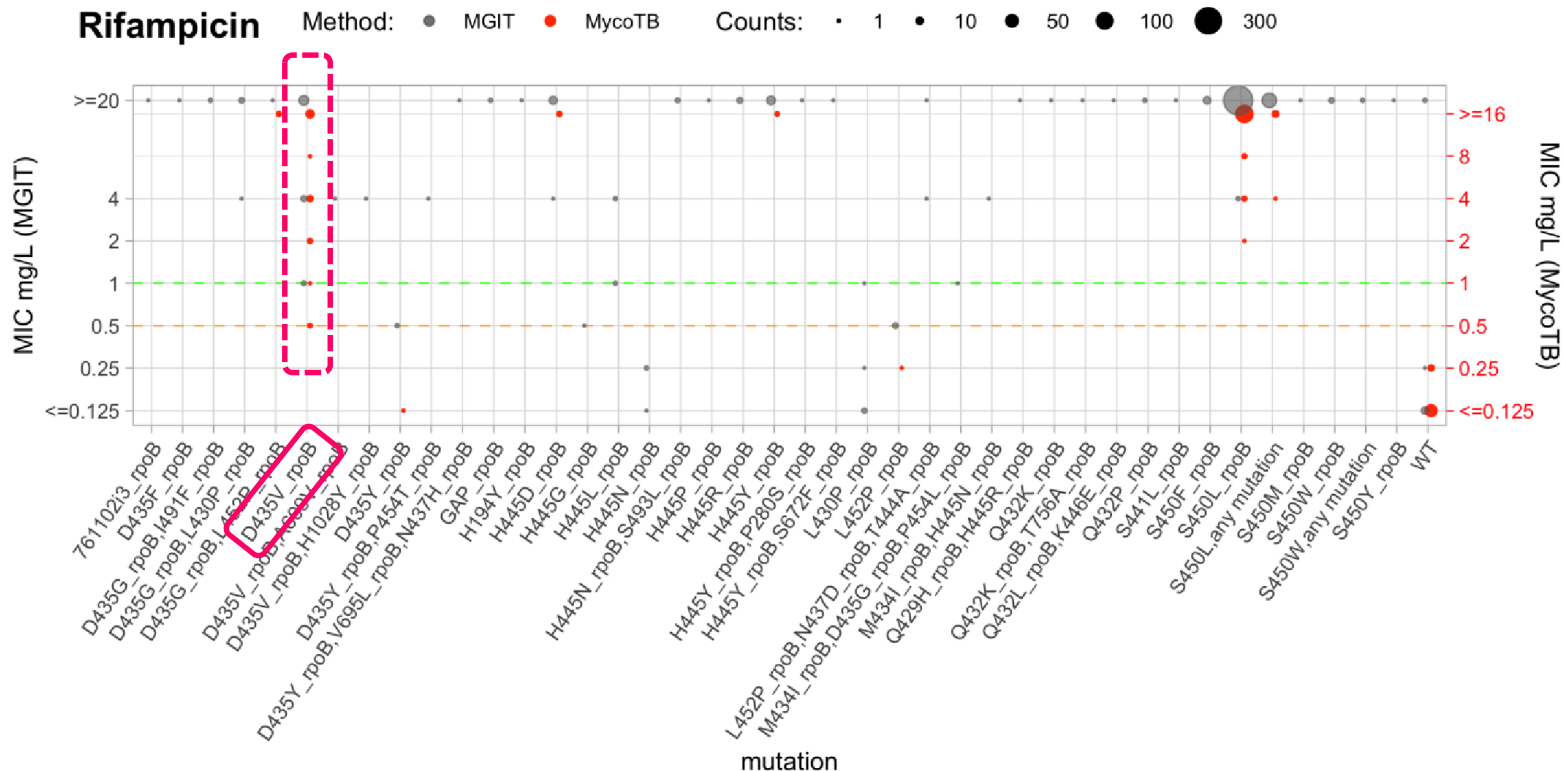
Fournier Le Ray, EID 2022



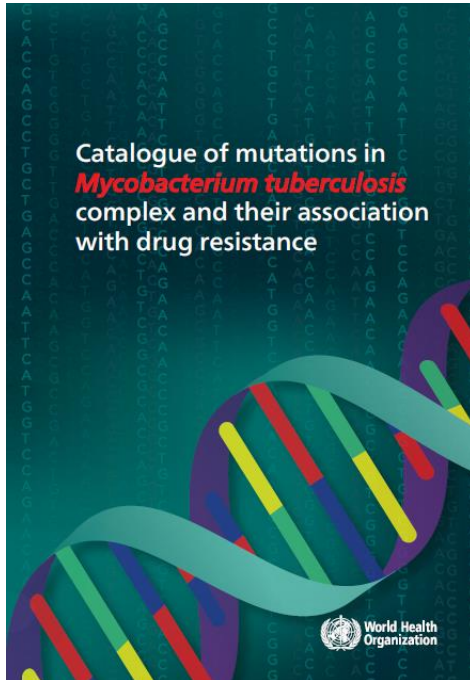
Multiples mutants différents avec phénotypes différents
Guérison malgré émergence mutant *atpE*

Variabilité de la correspondance génotype / phénotype

- Finci, Lancet Microbe 2022
- Mesure CMI sur 900 souches



Interprétation du génotype : un travail de pro



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

96 pages

Rifampicin

Only mutations in *rpoB* were found to be associated with RIF resistance. The 24 group-1 mutations (Assoc w R), which included two mutations outside the RRDR (V170F and I491F), and the remaining six borderline RIF-resistance mutations (L430P, D435Y, H445L, H445N, H445S and L452P) yielded a sensitivity of 92.3% (95% CI, 91.8–92.8%) for predicting phenotypic drug susceptibility in the ALL dataset. The 117 group-2 mutations (Assoc w RI) were all in the RRDR and had a combined sensitivity of only 3.5% (95% CI 3.2–3.9%). The vast majority of these RRDR mutations were too rare to meet the criteria for definitive classification into group 1 or 5. Instead, they were classified according to the expert rule that any RRDR mutation, with the exception of synonymous mutations, should be assumed to confer RIF resistance. This expert rule was first introduced by WHO in 2018 and reaffirmed in 2021 (4, 19, 20).

Drug	Mutant (common name)	MUT present_pheno S	MUT absent_pheno S	MUT present_pheno R	MUT absent_pheno R	SENSITIVITY	SPECIFICITY	PPV	NPV SOLO	PPV SOLO,lb	NPV SOLO,ub	OR SOLO	INITIAL CONFIDENCE GRADING	SUPPORTING DATASET	ADDITIONAL GRADING CRITERIA	FINAL CONFIDENCE GRADING
RIF	rpoB_S450L	74	24473	6536	3333	66.2%	99.7%	98.9%	98.6%	98.3%	98.9%	584.342	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_D435V	9	24424	732	9117	7.4%	100.0%	98.8%	98.7%	97.6%	99.4%	236.417	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_H445Y	4	24429	347	9502	3.5%	100.0%	98.9%	98.7%	96.7%	99.6%	392.067	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_H445D	3	24430	288	9561	2.9%	100.0%	99.0%	98.9%	96.9%	99.8%	234.224	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_D435Y	44	24389	162	9687	1.6%	99.8%	78.6%	58.9%	49.0%	68.3%	4.287	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_S450W	5	24428	151	9698	1.5%	100.0%	96.8%	96.2%	91.4%	98.8%	63.979	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_L452P	53	24380	121	9728	1.2%	99.8%	69.5%	59.5%	50.6%	68.0%	3.910	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_H445L	8	24425	115	9734	1.2%	100.0%	93.5%	92.9%	86.5%	96.9%	32.934	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_S450F	0	24433	112	9737	1.1%	100.0%	100.0%	100.0%	96.5%	100.0%	Inf	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_L430P	103	24330	106	9743	1.1%	99.6%	50.7%	23.1%	16.3%	31.2%	0.806	Uncert. Sig.	ALL-WHO	Borderline	1) Assoc w R
RIF	rpoB_H445R	2	24431	79	9770	0.8%	100.0%	97.5%	97.0%	89.5%	99.6%	80.020	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_V170F	0	24433	71	9778	0.7%	100.0%	100.0%	100.0%	90.0%	100.0%	Inf	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_I491F	57	24376	54	9795	0.5%	99.8%	48.6%	44.1%	34.3%	54.3%	2.113	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_H445N	39	24394	46	9803	0.5%	99.8%	54.1%	23.5%	12.8%	37.5%	0.786	Uncert. Sig.	ALL-WHO	Borderline	1) Assoc w R
RIF	rpoB_D435F	3	24430	39	9810	0.4%	100.0%	92.9%	92.1%	78.6%	98.3%	29.054	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R
RIF	rpoB_H445C	3	24430	36	9813	0.4%	100.0%	92.3%	91.4%	76.9%	98.2%	26.555	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R

Drug	Mutant (common name)	MUT present_pheno S	MUT absent_pheno S	MUT present_pheno R	MUT absent_pheno R	SENSITIVITY	SPECIFICITY	PPV	NPV SOLO	PPV SOLO,lb	NPV SOLO,ub	OR SOLO	INITIAL CONFIDENCE GRADING	SUPPORTING DATASET	ADDITIONAL GRADING CRITERIA	FINAL CONFIDENCE GRADING
RIF	rpoB_S450L	74	24473	6536	3333	66.2%	99.7%	98.9%	98.6%	98.3%	98.9%	584.342	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R

Drug	Mutant (common name)	MUT present_pheno S	MUT absent_pheno S	MUT present_pheno R	MUT absent_pheno R	SENSITIVITY	SPECIFICITY	PPV	NPV SOLO	PPV SOLO,lb	NPV SOLO,ub	OR SOLO	INITIAL CONFIDENCE GRADING	SUPPORTING DATASET	ADDITIONAL GRADING CRITERIA	FINAL CONFIDENCE GRADING
RIF	rpoB_D435V	9	24424	732	9117	7.4%	100.0%	98.8%	98.7%	97.6%	99.4%	236.417	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R

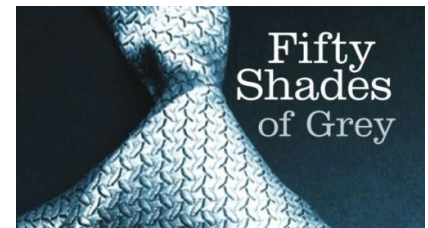
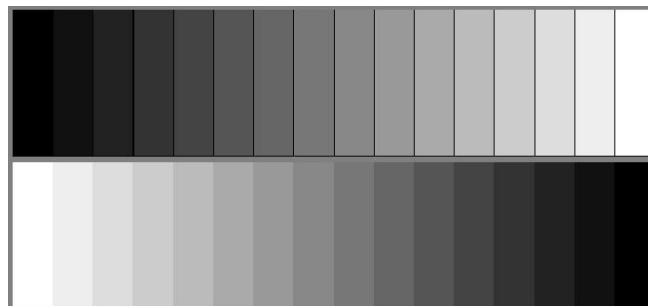
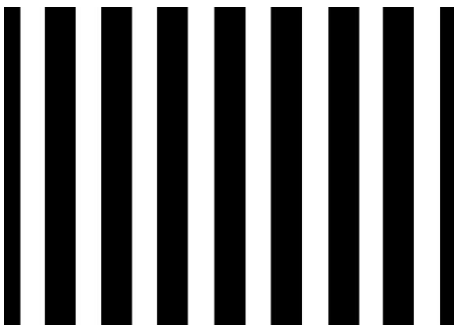
Drug	Mutant (common name)	MUT present_pheno S	MUT absent_pheno S	MUT present_pheno R	MUT absent_pheno R	SENSITIVITY	SPECIFICITY	PPV	NPV SOLO	PPV SOLO,lb	NPV SOLO,ub	OR SOLO	INITIAL CONFIDENCE GRADING	SUPPORTING DATASET	ADDITIONAL GRADING CRITERIA	FINAL CONFIDENCE GRADING
RIF	rpoB_H445Y	4	24429	347	9502	3.5%	100.0%	98.9%	98.7%	96.7%	99.6%	392.067	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R

Drug	Mutant (common name)	MUT present_pheno S	MUT absent_pheno S	MUT present_pheno R	MUT absent_pheno R	SENSITIVITY	SPECIFICITY	PPV	NPV SOLO	PPV SOLO,lb	NPV SOLO,ub	OR SOLO	INITIAL CONFIDENCE GRADING	SUPPORTING DATASET	ADDITIONAL GRADING CRITERIA	FINAL CONFIDENCE GRADING
RIF	rpoB_H445D	3	24430	288	9561	2.9%	100.0%	99.0%	98.9%	96.9%	99.8%	234.224	Assoc w R	ALL-WHO		1) Assoc w R

Rifampicine = 5 pages

Diagnostic des résistances: Conclusion

- Transition progressive du diagnostic phénotypique vers le diagnostic génotypique
- Mutation n'est pas synonyme de résistance
 - toutes les mutations ne confèrent pas la résistance
 - variabilité des niveaux de résistance en fonction des mutations

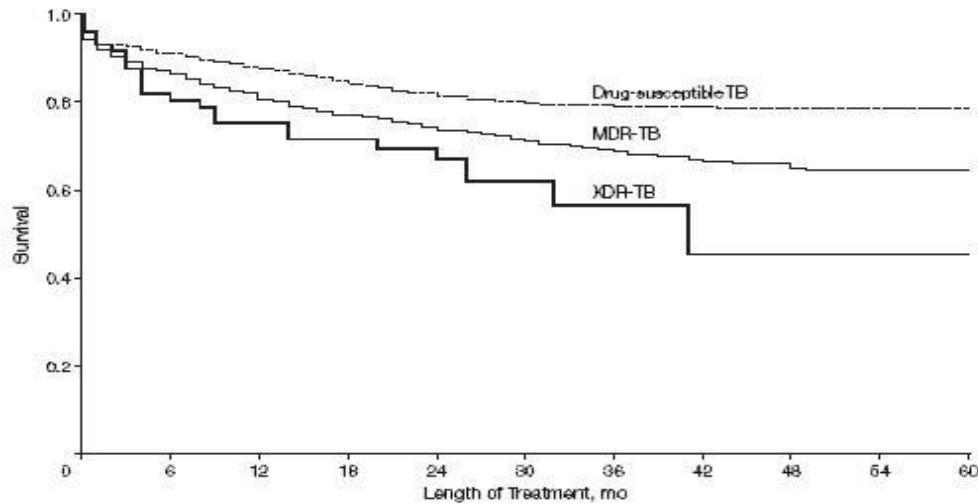


Diagnostic phénotypique

Diagnostic génotypique

Conséquences thérapeutiques

Résistance *in vitro* : conséquences thérapeutiques

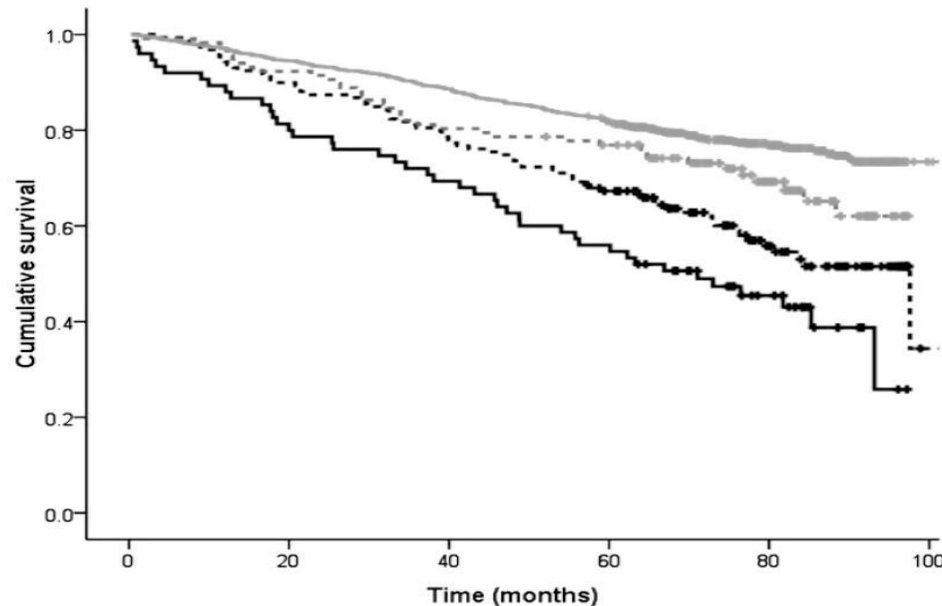


TB sensible

TB MDR = R rifampicine et isoniazide

TB XDR = MDR + R aminosides et fluoroquinolones

Shah et al., JAMA, 2008



TB MDR

TB MDR + aminosides R

TB MDR + fluoroquinolones R

TB XDR

Kim et al., AJRCCM, 2010

Résistance *in vitro* : conséquences thérapeutiques

- Rigouts JAC 2016

Table 3. Cure versus failure/relapse for high-dose gatifloxacin-based treatment stratified by MIC values; only one pre-MDR-treatment isolate per patient included

GAT MIC (mg/L)	Failure/relapse	Cure	Total	Percentage cured	OR to fail	95% CI
≤0.25	3	84	87	96.6	1	
0.5	1	17	18	94.4	1.6	0.16–16.8
1	3	14	17	82.4	6.0	1.1–32.8
2	7	9	16	56.3	21.8	4.8–99.3
4	8	7	15	46.7	32.0	6.9–148.5
8	5	0	5	0.0	undef	
>8	3	0	3	0.0	undef	
Total	30	131	161	81.4		

GAT, gatifloxacin; undef, undefined.