

RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2024

Année d'exercice 2023

CNR Mycobactéries et résistance aux antituberculeux

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	<u>Fédération de Bactériologie-Hygiène – DMU BioGem – APHP.Sorbonne Université</u>	Pr Jérôme ROBERT
Laboratoire Associé	Service de Mycobactériologie spécialisée et de référence – Hôpital Bichat - APHP Nord-Université Paris Cité	Pr Emmanuelle CAMBAU

Résumé analytique / Faits marquants	5
Executive summary / Highlights	6
1 Missions et organisation du CNR	7
1.1 Organigramme du CNR-MyRMA	7
1.2 Mission et Organisation	7
1.3 Démarche Qualité	8
2 Activités d'expertise	9
2.1 Evolution des techniques	9
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	9
2.2.1 Evaluation du kit Cepheid Xpert® MTB/XDR	9
2.2.2 Validation de la trousse Deeplex MycLEP (Genoscreen)	9
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	10
2.4 Collections de matériel biologique	10
2.5 Activités d'expertises	10
2.5.1 Résumé des activités d'expertise microbiologique	11
2.5.2 Résistance aux antituberculeux pour les souches de M. tuberculosis MDR	12
2.5.3 Résistance acquise des mycobactéries non tuberculeuses	14
2.6 Activités de séquençage	14
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	15
3 Activités de surveillance	16
3.1 Description du réseau de partenaires	16
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	16
3.2.1 Surveillance des infections à Mycobacterium bovis	16
3.2.2 Surveillance de la méningite tuberculeuse à culture positive	17
3.2.3 Infections à mycobactéries non tuberculeuses	17
3.2.4 Surveillance de la lèpre en France et dans les départements et territoires ultra-marins (DROM)	18
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	19
3.3.1 Surveillance de la résistance de M. tuberculosis aux antituberculeux (réseau Azay-Mycobactéries)	19
3.3.2 Registre national des cas de tuberculose MDR en France	21
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	21
3.4.1 Mycobacterium tuberculosis	21
3.4.2 Mycobactéries non tuberculeuses	22
3.4.3 Mycobacterium leprae	22
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	22
4 Alertes	23
4.1 Tuberculose	23
4.2 Mycobactéries non tuberculeuses	23
5 Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	26
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	26

5.1.1	Site internet du CNR-MyRMA	26
5.1.2	RCP tuberculoses complexes	26
5.1.3	RCP des infections à mycobactéries non tuberculeuses	27
5.1.4	RCP lèpre	27
5.1.5	Accueil de stagiaires ou visiteurs	28
5.2	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	28
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	29
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	30
6.1	Activités de recherche lors de l'année 2023	30
6.1.1	Tuberculose	30
6.1.2	Mycobactéries non tuberculeuses	30
6.1.3	Lèpre	30
6.2	Liste des publications et communications de l'année 2023 concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	31
6.2.1	Publications internationales	31
6.2.2	Publications nationales	33
6.2.3	Communications orales invitées	33
6.2.4	Communications orales sans invitation	34
6.2.5	Communications affichées	34
6.2.6	Organisation : congrès international	34
6.2.7	Chapitre d'ouvrage	34
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	35
8	Programme d'activité pour les années suivantes	36
8.1	Etudes épidémiologiques et cliniques sur la tuberculose	36
8.2	Mécanismes de résistance acquise aux antibiotiques antimycobactériens	36
8.3	Recherche et étude de nouveaux antibiotiques antimycobactériens	37
8.4	Chimiothérapie expérimentale des infections à mycobactéries	37
8.5	Etude des mycobactéries non tuberculeuses (MNT) responsables de mycobactérioses	38
8.6	Lèpre	38
	Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	39
	- 1A - Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	39
	- 1B - Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	40
	- 1C - Locaux et équipements	41
	- 1D - Collections de matériel biologique	43
	- 1E - Démarche qualité du laboratoire	45
	Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	46
	- 2A - Liste des techniques de référence	46
	- 2B - Liste des techniques recommandées par le CNR	49
	- 2C – Détails du fonctionnement des RCP	52

Tableau 1 : résultats de l'étude de la trousse Deeplex MycLEP	10
Tableau 2. Evolution des activités d'expertise du CNR- MyRMA de 2017 à 2023	11
Tableau 3. Résistance phénotypique (%) aux antibiotiques des souches de <i>M. tuberculosis</i> complex reçues pour multirésistance (MDR) au CNR-MyRMA de 2014 à 2023	12
Tableau 4. Répartition, par pays de naissance, des patients pour lesquels des souches ultrarésistantes (XDR) ont été reçues au CNR-MyRMA 2014 et 2023	13
Tableau 5. Nombre et proportion de cas de tuberculose à <i>Mycobacterium bovis</i> (réseau Azay-Mycobactéries)	17
Tableau 6. Résistance aux antituberculeux de 1ère ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol) en 2022	19
Tableau 7. Description des souches disponibles au CNR pour contrôle de qualité avec leurs noms et caractéristiques génétiques et phénotypiques	44
Tableau 8. Techniques génotypiques utilisées pour l'identification des mycobactéries	47
Tableau 9. Détection de mutations déterminant la résistance acquise aux antimycobactériens	48
Tableau 10. Techniques disponibles pour le génotypage des mycobactéries	48
Figure 1 : organigramme du CNR des mycobactéries	7
Figure 2 : organigramme du Centre de Ressources Biologiques de la Pitié-Salpêtrière	8
Figure 3. Evolution de la distribution des cas MDR selon le pays de naissance de 2006 à 2023	13
Figure 4. Nombre annuel de cas de méningite tuberculeuse à culture positive chez les enfants de 5 ans et moins.	17
Figure 5. Proportion (%) de cas enregistrés par le réseau Azay-Mycobactéries par rapport aux cas enregistrés dans la déclaration obligatoire	19
Figure 6. Fréquence de la résistance (%) à ≥ 1 antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2022 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés en France	20
Figure 7. Fréquence de la résistance (%) à ≥ 1 antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2022 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés à l'étranger	20
Figure 8 : comparaison des souches de <i>M. abscessus</i> subsp. <i>massiliense</i>	24
Figure 9. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance à la rifampicine chez <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	49
Figure 10. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance autre que la rifampicine chez <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	49
Figure 11. Logigramme pour le typage moléculaire pour comparaison de souches de <i>M. tuberculosis</i>	50
Figure 12. Logigramme pour identification et diagnostic de la résistance aux antimycobactériens chez les mycobactéries non tuberculeuses	50
Figure 13. Logigramme pour l'investigation des épidémies et des cas liés aux soins lors d'infections à mycobactéries non tuberculeuses	51
Figure 14. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de lèpre	51

RESUME ANALYTIQUE / FAITS MARQUANTS

L'activité d'expertise microbiologique du CNR-MyRMA a été relativement soutenue en 2023 avec une systématisation de la mesure des CMI (en relation étroite avec les projets internationaux), une utilisation plus intense des techniques moléculaires et l'évaluation de nouvelles techniques. La surveillance des infections à mycobactéries est continue depuis près de 30 ans grâce à des réseaux de laboratoires partenaires. L'augmentation du nombre de cas de méningite tuberculeuse chez les enfants ≤ 5 ans observée en 2021 n'est pas confirmée en 2022. Pour *M. tuberculosis*, la résistance globale aux antituberculeux est quasi stable. En revanche, le nombre de cas de tuberculose à bacilles multirésistants continue à augmenter depuis 2021, bien que le nombre de cas nés en Ukraine soit en baisse par rapport à 2022. Toutefois le nombre total de cas de tuberculose enregistrés au CNR a également augmenté. Le CNR a reçu 69 souches de *M. tuberculosis* à bacilles MDR (dont les cas de Tahiti) dont 12% étaient également résistantes aux fluoroquinolones (pré-XDR) et 5% à la bédaquiline. Le nombre de cas de lèpre enregistré au CNR a légèrement baissé (48 cas dont 32 nouveaux cas) à la fois pour les cas présents en France métropolitaine (n=18) et dans les DROM (n=14). De plus, le CNR a contribué aux travaux concernant quatre alertes d'infections à mycobactéries non tuberculeuses (MNT) dont une alerte européenne de cas d'endocardites et une de cas groupés d'infections iatrogènes à *M. abscessus subsp. massiliense*. Finalement, l'activité de conseil dans le cadre de réunions pluridisciplinaires est constante et chargée avec notamment 245 dossiers pour 195 patients discutés au cours des « RCP tuberculose », 144 dossiers au cours de la RCP pour les infections MNT et 55 lors des RCP mensuelles pour la lèpre.

EXECUTIVE SUMMARY / HIGHLIGHTS

The CNR-MyRMA's microbiological expertise activity was relatively sustained in 2023, with systematic measurement of MICs (in close collaboration with international projects), more intensive use of molecular techniques and the evaluation of new techniques. The surveillance of mycobacterial infections has been ongoing for almost 30 years, thanks to two networks of partner laboratories. The increase in the number of cases of tuberculous meningitis in children aged ≤ 5 years observed in 2021 has not been confirmed in 2022. For *M. tuberculosis*, overall resistance to anti-tuberculosis drugs is roughly stable. However, the number of cases of multi-drug-resistant tuberculosis has continued to rise since 2021, although the number of cases born in Ukraine is lower than that of 2022. The CNR received 69 strains of *M. tuberculosis* with an MDR pattern (including the cases of Tahiti), 12% of which were also resistant to fluoroquinolones (pre-XDR) and 5% to bedaquiline. The number of leprosy cases recorded by the CNR fell slightly (48 cases, including 32 new cases), both for cases in mainland France (n=18) and in the French overseas departments and territories (n=14). In addition, the CNR contributed to investigate four alerts concerning non-tuberculous mycobacterial infections (NTM), including one European alert concerning cases of endocarditis and one concerning clustered cases of iatrogenic infections with *M. abscessus subsp. massiliense*. Finally, our advisory work during the three consilia (RCPs, multidisciplinary meetings) ran by the NRC remained constant and busy, with 245 cases for 195 patients discussed at the tuberculosis RCPs, 144 cases at the RCPs for NCD infections and 55 at the monthly leprosy RCPs.

1 Missions et organisation du CNR

1.1 Organigramme du CNR-MyRMA



Figure 1 : organigramme du CNR des mycobactéries

Directeur : Pr Jérôme ROBERT, Fédération de Bactériologie-Hygiène, Site Pitié-Salpêtrière, APHP.Sorbonne Université – jerome.robert@cnrmyrma.fr

Cadre : Nathalie BACON, Fédération de Bactériologie-Hygiène, Site Pitié-Salpêtrière, APHP.Sorbonne Université – nathalie.bacon@aphp.fr

Secrétariat : téléphone : 01 42 16 20 70 – télécopieur : 01 42 16 20 72

Directeur du Laboratoire associé : Pr Emmanuelle CAMBAU, Service de Mycobactériologie spécialisée et de référence, Site Bichat, APHP GHU Nord-Université Paris Cité – emmanuelle.cambau@cnrmyrma.fr

Secrétariat : Isabelle DUPRIEZ, téléphone 0140256351 - télécopieur 0140256350

Courriel générique : cnrmyrma@cnrmyrma.fr

Courriel du laboratoire associé : cnrmyrma.bichat@cnrmyrma.fr

Site internet : <https://cnrmyrma.fr>

Les principaux changements intervenus en 2023 dans le personnel sont :

- Le recrutement de 3 biologistes à la Pitié-Salpêtrière
 - o Esther GYDE, PH
 - o Tania PETERSEN, AHU
 - o Corentin POIGNON, AHU
- Le départ d'une biologiste de la Pitié-Salpêtrière
 - o Florence MOREL, Assistante
- Le recrutement d'une ingénieure bio-informaticienne à la Pitié-Salpêtrière
 - o Azadeh SAFFARIAN

La liste complète du personnel est disponible sur le site du CNR : <https://cnrmyrma.fr/personnel-du-cnr-myrama/>.

1.2 Mission et Organisation

Les missions sont définies dans le cahier des charges général et spécifique du CNR et sont reprises sur le site internet du CNR-MyRMA (<https://cnrmyrma.fr/2022/02/06/les-missions-du-cnr-myrama/>) et de Santé publique France.

Les missions et organisation du CNR n'ont pas changé en 2023 par rapport à 2022.

Pour rappel, l'activité du CNR-MyRMA repose sur deux laboratoires complémentaires.

Ses **missions spécifiques** sont définies par Santé publique France (voir [site de Santé publique France](https://www.santepubliquefrance.fr/)) lors de l'appel d'offre 2023-2027 et sont groupées en 4 thématiques.

1. **Expertise**
2. **Conseil**
3. **Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique**
4. **Contribution à l'alerte**

1.3 Démarche Qualité

Les 2 laboratoires du CNR-MyRMA se sont inscrits depuis 2013 dans la démarche d'accréditation selon la norme ISO EN 15189 dans le cadre du processus général enclenché par leur hôpital respectif. Chacun des 2 laboratoires est accrédité à travers son Département Médical et Universitaire (DMU) de Biologie médicale, la partie du DMU de chaque hôpital étant considéré comme un seul laboratoire de biologie médicale (LBM). Ce dernier est enregistré au COFRAC comme un laboratoire unique. Les certificats d'accréditation sont disponibles en ligne sur le site du COFRAC aux adresses ci-dessous :

- pour le Laboratoire coordonnateur : Pitié -Salpêtrière : n° 8-3253, <https://tools.cofrac.fr/annexes/sect8/8-3253.pdf>
- pour le laboratoire associé : depuis 2020 : site Bichat, N° 8-3490, <https://tools.cofrac.fr/annexes/sect8/8-3490.pdf> .

Le laboratoire coordonnateur est intégré au Centre de ressource Biologique de la Pitié-Salpêtrière sous la filière "BAC" (cf. Organigramme ci-dessous).

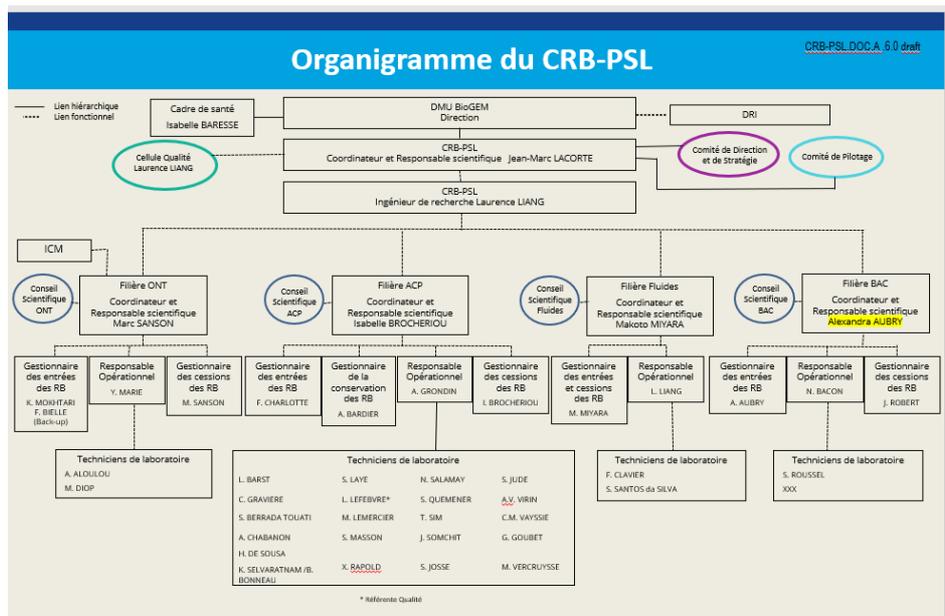


Figure 2 : organigramme du Centre de Ressources Biologiques de la Pitié-Salpêtrière

Le laboratoire associé est intégré au Centre de ressources Biologiques de l'hôpital Lariboisière.

2 Activités d'expertise

2.1 Evolution des techniques

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antituberculeux est développée dans le cadre du comité spécifique EUCAST des antimycobactériens (EUCAST-AMST, https://www.eucast.org/ast_of_mycobacteria) dont Emmanuelle CAMBAU est responsable depuis 2018.

Les deux laboratoires du CNR font partie du réseau Eucast-AMST pour tester les nouveaux protocoles visant à harmoniser et standardiser l'évaluation in vitro des antituberculeux pour faciliter la mise sur le marché des nouveaux antituberculeux en accord avec l'Agence Européenne du médicament. En 2023, le travail de EUCAST-AMST a porté sur la détermination des CMI de la bédaquiline, du delamanide, de la clofazimine et du pretomanide.

De plus, une étude de calibration est en cours pour valider les tests de sensibilité faits avec la technique proposée par Becton-Dickinson (MGIT 960) pour la bédaquiline, et les microplaques ThermoFisher pour la bédaquiline, la clofazimine, le linézolide et la lévofloxacine. La phase 1 (comparaison répétabilité et reproductibilité sur la souche de référence *M. tuberculosis* H37Rv) de cette étude a été faite en 2022 et 2023. La phase 2 (étude de 180 souches cliniques) a débuté fin 2023 et se prolongera en 2024. Les résultats ne seront rendus publics qu'à l'issue de l'étude.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

2.2.1 Evaluation du kit Cepheid Xpert® MTB/XDR

Cette évaluation en cours depuis 2021 vise à tester dans le cadre des activités du CNR, l'intérêt du kit Xpert® MTB/XDR qui est un test multiplex PCR identifiant des mutations dans les gènes d'intérêts pour la résistance à l'isoniazide, aux fluoroquinolones, aux aminosides et à l'éthionamide.

L'analyse des souches et prélèvements s'est achevée en 2023. L'analyse des résultats est en cours.

2.2.2 Validation de la trousse Deeplex MycLEP (Genoscreen)

Nous avons participé à la validation de la trousse diagnostique Deeplex MycLEP, développée par la société Genoscreen. Deeplex MycLEP est une trousse de NGS-amplicon, les amplicons étant soit des gènes de résistance (n=7), soit des SNPs de phylogénie (n=18) et des séquences VNTR (n=11). Nous avons comparé les résultats de résistome obtenus par Deeplex aux résultats des génomes complets (WGS) (cf. publication Jouet et al, 2023). Nous avons inclus dans cette étude : 11 souches cliniques, 3 souches obtenues lors d'expérience murines (deux fois la souche de référence Thai 53 pour la reproductibilité et une souche résistante aux quinolones).

La concordance a été obtenue pour 13/14 séquences pour les gènes de résistance. Pour une souche, une double mutation *folP1* (T53A et P55L) avait été trouvée par WGS et seule une des mutations (T53A) a été trouvée par l'analyse Deeplex. Les analyses de couverture ont montré qu'il était probable qu'il existe une duplication partielle de *folP1* dans cette souche, pouvant expliquer l'absence d'amplification de la portion contenant la mutation P55L. Pour les SNPs de phylogénie, et VNTR, certaines séquences ne pouvaient pas être étudiées lorsque la profondeur du WGS était faible. La limite de détection déterminée pour le coffret est de 80 copies de génome dans le test (2µL) et de 10% pour la détection d'un allèle avec mutation.

Nous avons ensuite testé 81 prélèvements cliniques conservés au laboratoire et 4 souches de références. Les résultats ont été valides avec le coffret Deeplex MycLep® pour 61 échantillons (59 prélèvements cliniques et 2 souches de référence). Nous avons remarqué qu'il n'y avait pas de résultat lorsque l'extrait d'ADN n'était pas suffisamment purifié (protocole thermique Woods and Cole 1989) ou que la quantité de bacilles lépreux était faible (Ziehl négatif ou < 1 bacille/champ).

Les résultats sont résumés dans le tableau 6 et sont en cours de publication.

Tableau 1 : résultats de l'étude de la trousse Deeplex MycLEP

Echantillon	N	Résultats Deeplex MycLep	
		positif	négatif ou ininterprétable
Cliniques (biopsies cutanées)	81	59	22
Souris (souches de référence)	4	2	2
Typage			
Type 1		29	
	1A	1	
	1C	2	
	1D	26	
Type 3		3	
	3K	2	
	3 non identifiés	1	
Type 4		15	
	4N	13	
	4O	2	
Mutations			
	rpoB	1	
	folP1	9	
	gyrA	2	
	autres	0	
Purification ADN insuffisante			11
quantité bacilles insuffisante (BI 0 ou 1)			13

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Les techniques transférées vers d'autres laboratoires correspondent à celles figurant dans la liste des techniques commercialisées recommandées par le CNR-MyRMA aux laboratoires pratiquant la mycobactériologie en annexe 2.

2.4 Collections de matériel biologique

En 2023, le CNR a enrichi ses collections avec :

- les souches de *M. tuberculosis* multirésistantes isolées en 2023,
- les souches *M. tuberculosis* reçues pour identification et/ou test de sensibilité aux antibiotiques,
- les souches de MNT reçues pour identification et/ou test de sensibilité aux antibiotiques,
- les prélèvements reçus dans le cadre du diagnostic de la lèpre

Les détails sont en annexe 1.

2.5 Activités d'expertises

Tous les prélèvements et les souches qui nous sont transmis sont enregistrés à leur arrivée dans le SIL des laboratoires, ce qui permet leur suivi et la traçabilité des examens réalisés.

En plus du temps de subculture qui dépend de l'espèce de mycobactéries considérée (3 jours à 3 mois), il faut tenir compte des paramètres variables suivants : contamination des milieux contenant la souche nécessitant une seconde subculture, rareté de l'espèce considérée faisant appel à l'application de techniques "maisons" ou de recherche, besoin de vérification de résultats rares ou mettant en jeu le pronostic du patient.

Jusqu'à présent, nous n'avons pas pu mesurer de délais "habituels" de rendu des résultats car chaque cas est pris en charge de façon spécifique par rapport au problème clinique, épidémiologique ou microbiologique qu'il nous est demandé de résoudre. Nous essaierons une évaluation globale informatique lorsque notre SIL aura évolué en 2024 (passage en version Glims V10 pour la Pitié-Salpêtrière et Glims V9 pour Bichat).

2.5.1 Résumé des activités d'expertise microbiologique

Le nombre de souches et prélèvements et fiches de données reçus par le CNR-MyRMA est résumé dans le Tableau 2.

Tableau 2. Evolution des activités d'expertise du CNR- MyRMA de 2017 à 2023

Souches soumises à	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Identification	858	889	813	717	671	715	553
<i>M. tuberculosis</i> complex	460	443	336	292	234	226	116
Mycobactéries atypiques	398	446	477	425	437	489	437
Tests phénotypiques de sensibilité	556	560	514	480	475	531	559
<i>M. tuberculosis</i> complex ^b	277	270	261	221	168	174	182
Mycobactéries atypiques	279	290	253	259	307	357	377
Tests génotypiques de sensibilité	529	501	532	474	476	536	542
<i>M. tuberculosis</i>	280	230	220	236	236	232	246
Mycobactéries atypiques	249	271	312	238	240	304	296
Génotypage épidémiologique ^c	227	445	248	155	nd	140	175
<i>M. tuberculosis</i>	197	344	228	140	nd	108	171
Mycobactéries atypiques	30	101	20	15	34	32	4
Séquençage génome (WGS)	68	217	224	169	nd	223	348
<i>M. tuberculosis</i> ^d	38	119	141	125	nd	163	337
Mycobactéries atypiques	30	98	83	44	50	60	11
Biopsies « lèpre ^d »	111	111	106	63	129	139	165
	(27)	(33)	(33)	(12)	(32)	(48)	(30)

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

c : empreintes digitales génomiques (épidémiologie) – à partir de 2023, les analyses deeplex sont comptabilisées dans cette catégorie

d : à partir de 2023, les analyses deeplex sont comptabilisées dans cette catégorie

e : dont (N) patients avec des biopsies positives à *M. leprae* .

nd : non disponible

Origine des prélèvements :

Les données des deux laboratoires du CNR-MyRMA (sans les prélèvements pour recherche de lèpre) montrent que plus de 102 établissements différents ont adressé un prélèvement au CNR-MyRMA dont :

- 44% des prélèvements proviennent d'un CHU de métropole
- 40% d'un CH de métropole
- 9% d'un LABM
- 3% d'un établissement d'outre-mer, et le reste avait une origine non retrouvée.

Au total, 26% des prélèvements provenaient d'Ile-de-France.

Pour ce qui concerne les prélèvements pour recherche de lèpre (n=165), la répartition d'origine des prélèvements était la suivante pour 2023 : CHU (dont hôpitaux des armées) 45%, DROM 35%, CH 13%, LABM 4%, étranger 3%

2.5.2 Résistance aux antituberculeux pour les souches de *M. tuberculosis* MDR

Pour chaque antibiotique, le profil de sensibilité par les méthodes phénotypiques n'étant pas disponibles pour toutes les souches, les proportions de résistance sont données par rapport au nombre de souches testées.

Tableau 3. Résistance phénotypique (%) aux antibiotiques des souches de *M. tuberculosis* complex reçues pour multirésistance (MDR) au CNR-MyRMA de 2014 à 2023

Années (n souches testées)	2014 (111)	2015 (98)	2016 (71)	2017 (79)	2018 (80)	2019 (69 ^μ)	2020 (66 [°])	2021 (53)	2022 (63 [°])	2023 (69)
A Fluoroquinolones	39	20	17	18	25	17 [§]	18	21	19	12
Bédaquiline	3	2	0	3	6	0	1	2	6	5
Linézolide	1	1	1	4	4	1	0	0	2	0
Clofazimine										1.5 [€]
B Cyclosérine	19	10	13	13	21	48	44	34	52	61
Ethambutol	70	65	55	53	66	58	55	53	69	45
Délamanide					5 [£]	0 [£]	0 [£]		2	6
Prétomanide										5
C Pyrazinamide	50	43	48	48	60	66 ^μ	63 ^μ	45	66	71
Amikacine	12	14	12	4	9	6	3	2	5	6
Streptomycine	81	69	72	67	79	78	70	85	60	82
Ethionamide	64	71	52	23	36	87	95 [#]	91 [#]	72	58

A: antibiotiques à utiliser en premier pour le traitement des tuberculoses MDR

B: antibiotiques à associer en priorité à ceux de la liste A pour le traitement des tuberculoses MDR

C: autres antibiotiques

^μ % calculé sur respectivement 59 et 49 souches en 2019 et 57 et 50 souches en 2020 qui ont eu un test de sensibilité au pyrazinamide et au PAS; 39 pour le PAS en 2021

[§] parmi les 12 souches résistantes à 2 mg/l d'ofloxacine (définition OMS de la résistance aux fluoroquinolones), 4 (un tiers) restaient sensibles à 2 mg/l de moxifloxacine en 2019.

[£] calculé sur les 61 souches qui ont pu bénéficier d'un test de sensibilité à l'éthionamide en raison d'un problème de lot

[£] test pratiqué sur 73 des 80 souches de 2018 et 12 des 69 souches de 2019 et 10 souches en 2020

[°]: 4 souches non testées phénotypiquement (trop dysgoniques) en 2019 et 2020, et 2 en 2022

[#]: sur 41 souches en 2020 et 22 en 2021 car problème de fournisseur

[€]: calcul sur 63 souches en 2023

Evolution 2006-2023 de la distribution par pays de naissance des patients porteurs des souches MDR reçues au CNR-MyRMA

La

Figure 3 montre l'évolution de la distribution du nombre de cas MDR selon la zone géographique de naissance des patients sur les 18 dernières années (année de réception de la souche). En raison de l'actualité, nous avons continué à individualiser les cas porteurs de souches MDR et nés en Ukraine. Les données montrent que les cas d'origine ukrainienne qui étaient en faible nombre avant 2022 ($0 < n \leq 4$), ont augmenté significativement en 2022 ($n=11$) mais sont revenus en 2023 à un nombre proche de celui des 10 dernières années 2012-2021 ($n=5$). Par ailleurs, le nombre de cas nés en Géorgie ($n=5$), qui avait augmenté en 2022 ($n=12$) par rapport à 2020 et 2021 (3 à 6 cas), est redescendu en 2023 au même niveau qu'auparavant.

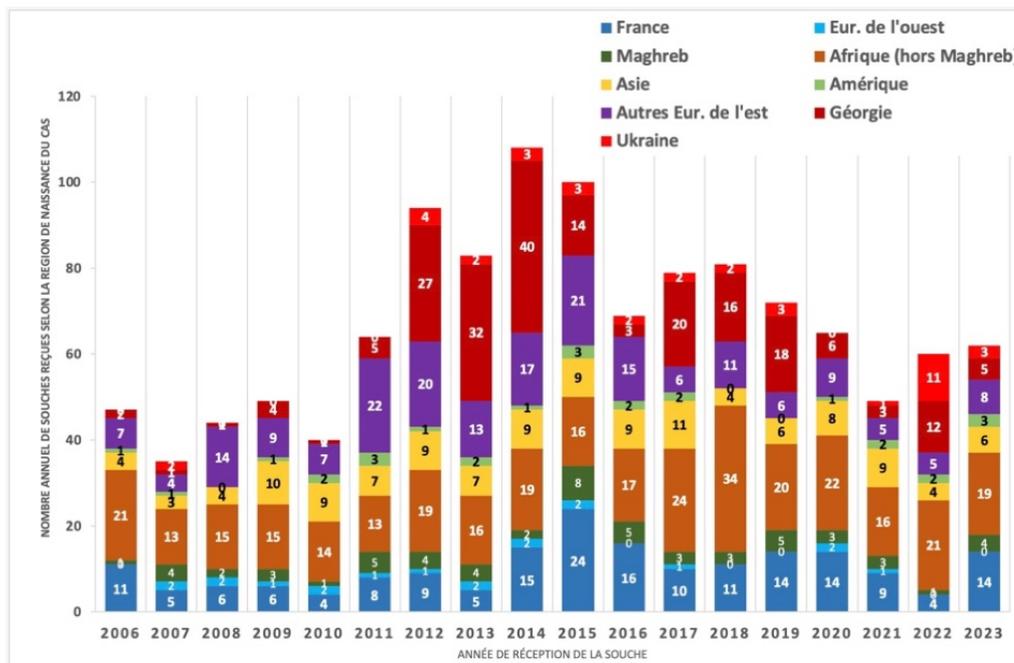


Figure 3. Evolution de la distribution des cas MDR selon le pays de naissance de 2006 à 2023

Le Tableau 4 ci-dessous montre le nombre de souches XDR reçues au cours des 10 dernières années. Le nombre de cas est en baisse notable de 2020 à 2023 par rapport aux années précédentes.

Tableau 4. Répartition, par pays de naissance, des patients pour lesquels des souches ultrarésistantes (XDR) ont été reçues au CNR-MyRMA 2014 et 2023

AN	EUROPE OCCIDENTALE	AFRIQUE DU NORD	AFRIQUE SUBSAHARIENNE	AMERIQUE	ASIE	EUROPE DE L'EST ET EX-URSS	TOTAL (% PARMIS LES MDR)	
							Ancienne définition	Nouvelle définition ^{a,b}
2014	2 (France, Portugal)		1 (RD Congo)			23 (20 Géorgie, 3 Russie)	26 (23,4)	
2015	1 (France)					9 (5 Géorgie, 1 Arménie, 1 Russie, 2 Tchétchénie)	10 (10,2)	
2016	3 (France)					3 (1 Géorgie, 1 Moldavie, 1 Tchétchénie)	6 (8,4)	
2017	1 (France)					9 (7 Géorgie, 1 Lituanie, 1 Russie)	10 (12,2)	3 (3,8)
2018	1 (France)					10 (9 Géorgie, 1 Moldavie)	11 (13,4)	2 (2,5)
2019						10 (7 Géorgie, 1 Bulgarie, 1 Moldavie, 1 Ukraine)	10 (13,5)	1 (1,4)
2020						6 (3 Géorgie, 1 Moldavie, 1 Russie, 1 Tchétchénie)	6 (9,1)	1 (1,5)
2021						1 (Géorgie)	1 (1,9)	1 (1,9) (Géorgie)
2022				1 (Pérou)		7 (4 Géorgie, 2 Ukraine, 1 Arménie)	8 (12,3)	1 (1,5) (Géorgie)
2023	1 (France)					2 (Moldavie, Ukraine)	3* (4,5)	2 (3,0) (Géorgie, Congo)

a: la définition d'un bacille XDR avant 2021 est la suivante – bacille MDR et ayant une résistance additionnelle à un des antibiotiques injectables. A partir de 2021, la définition est la suivante - bacille MDR et ayant une résistance additionnelle à une des fluoroquinolones et à bédaciline ou linézolide.

* le pays de naissance est inconnu pour un cas de 2023

2.5.3 Résistance acquise des mycobactéries non tuberculeuses

Le CNR-MyRMA concentre ses efforts en matière de tests de sensibilité aux antibiotiques des mycobactéries non tuberculeuses (MNT) sur les cas d'infections, et en particulier ceux ayant déjà fait l'objet d'un traitement (échecs thérapeutiques et rechutes). En effet, les infections à MNT 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 démontré et publié par le CNR-MyRMA (Renvoisé et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2015). De plus, les tests de sensibilité des MNT sont faits dans le cadre des guidelines 2020 auxquelles nous avons participé (Daley et al. ERJ 2020, Daley et al. CID 2020). En suivant ces guidelines, il est conseillé de faire une détection génotypique ou phénotypique de la résistance aux macrolides (clarithromycine ou azithromycine) et à l'amikacine chez les souches de *M. avium* complex et de *M. abscessus*. Les CMI des autres antibiotiques sont données à titre d'information mais le traitement est en général discuté en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP MNT, voir infra).

En 2023

- 10% des souches testées de *M. avium* complex étaient non sensibles à la clarithromycine
- 4 souches de *Mycobacterium abscessus* (3 *susp abscessus* et 1 souche *subsp. massiliense*) avaient une mutation du gène *rrl* en rapport avec une résistance acquise de haut niveau aux macrolides.

2.6 Activités de séquençage

En 2023, 131 WGS ont été réalisés, ainsi que 206 Deeplex® Myc-TB (technique commerciale basée sur le séquençage ciblé de 24 gènes d'intérêt impliqués dans la résistance aux principaux antituberculeux) pour la tuberculose et 11 pour les MNT.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Plateforme P2M de l'Institut Pasteur (Vincent Enouf); (NextSeq500) Plateforme de l'équipe IAME UMR1137 Inserm faculté de médecine Bichat (Erick Denamur, accès interne Mini Seq) et plateforme Hopital Bichat service de génétique (Catherine Boileau, accès interne MiSeq et NextSeq)

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Développement d'un <i>pipeline</i> d'analyse bio-informatique local, basé sur des logiciels open source, utilisé sur la plateforme Galaxy, permettant la détection de mutations et leur interprétation grâce à des databases publiques (2023 WHO catalogue of mutations, PhyResSE, http://phyresse.org ; TB-profiler, https://tbd.r.ishtm.ac.uk). Pour les étapes d'analyse WGS les logiciels standalones open source sont priorités. Pour les MNT, le logiciel Bionumerics (Biomerieux) est utilisé avec en complément une analyse bio-informatique locale.

	Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?
	Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques
	Pour les MNT, les analyses bio-informatiques sont les suivantes : recherche de SNPs et cgMLST lors de cas groupés, et de suspicion de rechute, et de la résistome prédiction pour des patients avec des infections chroniques à <i>M. avium</i> complex ou <i>M. abscessus</i> et discordance phénotype et génotype obtenue par les tests commerciaux.
	Pour la tuberculose, le séquençage est utilisé par le CNR en complément d'autres techniques de séquençage moléculaires, pour établir des résistotypes et pour analyse phylogénétique, notamment dans le cadre des TB-MDR et de l'investigation d'épidémies. Les outils utilisés sont ceux mentionnés ci-dessous, utilisé pour
	rechercher des mutations associées à la résistance de MNT aux antibiotiques lorsqu'il y a une discordance entre le phénotype et le génotype obtenu par des tests commerciaux (Genotype NTMDR).

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémie

69 souches de TB-MDR

52 souches non multirésistantes de *M. tuberculosis* pour suspicion de cas groupés.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance

Tuberculose, n=69 : le séquençage de génomes complets est réalisé de façon systématique pour les souches de TB-MDR (le WGS n'a pas pu être réalisé pour 1 souche MDR du fait de l'absence de subculture)
 MNT, n=11 souches : les souches ont été séquencées pour suspicion d'épidémies ou enquêtes d'infections liées aux soins avec recherche environnementale, dont 4 à des fins de santé publique et 7 à des fins de surveillance (souches de patients avec suspicion de résistance)

Les séquences brutes sont déposées dans un NAS, les génomes après assemblage sont conservés dans un NAS et sauvegardés sur un disque dur externe. Lorsque les séquences font l'objet de publications, elles sont déposées sur GenBank.

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Dans le cadre de l'investigation de deux épidémies transfrontalières à *M. tuberculosis* résistant au délamanide, le CNR a partagé les séquences de 4 souches (séquences déposées sur le site SRA sous la référence suivante : [PRJNA1045873](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA1045873)).

3 Activités de surveillance

La surveillance des infections à mycobactéries est effectuée grâce à des réseaux de laboratoires partenaires. En 2023, nous avons recueilli leurs données concernant les cas de 2022, qui montrent une stabilité des infections humaines à *M. bovis*, une diminution des cas de méningite tuberculeuse à culture positive (2 cas en 2022 vs. 7 cas en 2021, et une résistance aux antituberculeux globalement stable.

Le CNR reçoit directement les informations concernant les cas de tuberculose multirésistants. En 2023, le nombre de souches de bacilles tuberculeux multirésistants est en très légère hausse par rapport à 2022 (cf supra), et le nombre de cas XDR est inférieur à 2022. Le nombre de cas MDR provenant d'Ukraine est aussi inférieur à celui de 2022.

Le nombre de cas de lèpre enregistré au CNR en 2023 est en légère baisse par rapport à 2022 (30 vs. 48). Nous avons déclaré à l'OMS 25 nouveaux cas pour la France métropolitaine et pour les DROMs ne déclarant pas directement dans leur région OMS.

3.1 Description du réseau de partenaires

Dans le cadre de la surveillance de la tuberculose, en complément de Santé publique France, le CNR-MyRMA s'appuie sur 2 réseaux.

- 1- Le réseau AZAY-Mycobactéries des laboratoires de mycobactériologie des CHU.

Le réseau adresse ses données N-1 ; en 2023, le réseau a donc collecté les données de 2022.

Le réseau regroupe 34 laboratoires qui représentent 45 CHU de métropole. Les DROM ne sont pas représentés dans ce réseau car à la création du réseau, il n'y avait pas de CHU dans ces régions, et ensuite, les laboratoires n'ont pas répondu aux sollicitations de rejoindre le réseau.

Le réseau AZAY-Mycobactéries a pour objectif une surveillance de la résistance primaire et secondaire aux antituberculeux de première ligne et de stratifier les résultats selon les variables d'intérêt.

- 2- Le réseau des laboratoires qui ont une activité de mycobactériologie en France

Le réseau adresse ses données N-1 ; en 2023, le réseau a donc collecté les données de 2022.

Le réseau comporte 123 correspondants – le taux de réponse à l'enquête 2022 a été de 89%. Celui de 2023 est de 70%. De manière intéressante le nombre de cas rapporté en 2023 (n=2969) est très peu différent de celui de 2022 (n=3168), ce qui indique que ce sont les laboratoires qui ont peu de cas qui n'ont pas encore répondu à l'enquête 2023. Pour rappel, les correspondants du réseau AZAY-Mycobactéries font de facto partie de ce réseau national.

Ce réseau avait pour objectif à son origine, la surveillance exhaustive de la tuberculose à bacilles multirésistants (résistants à isoniazide et rifampicine). Depuis, il sert également à la surveillance de la tuberculose résistante à la rifampicine (et sensible à l'isoniazide), et de la méningite tuberculeuse. Il sert également pour des enquêtes ponctuelles (tuberculose à *M. bovis*, infections à MNT) ou pour la diffusion d'alertes.

- 3- Le CNR-MyRMA participe aux activités du groupe Mycomed de la Société française de microbiologie (SFM) pour des échanges sur les nouveautés scientifiques et les pratiques médicales sur la tuberculose et les infections à MNT.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.1 Surveillance des infections à *Mycobacterium bovis*

La surveillance est effectuée par le réseau Azay-Mycobactéries. L'ensemble des laboratoires n'identifie pas

systématiquement l'espèce au sein du complexe *M. tuberculosis* ; les proportions de *M. bovis* au sein des tuberculose sont donc calculés uniquement pour les laboratoires faisant systématiquement cette identification (Tableau 5).

Tableau 5. Nombre et proportion de cas de tuberculose à *Mycobacterium bovis* (réseau Azay-Mycobactéries)

Année	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Nombre total de cas <i>M. bovis</i>			31	37	32	45	44	29	27	29
Nombre de cas <i>M. bovis</i> *	10	16	19	26	23	33	34	24	23	25
Nombre de tuberculose à culture+*	1119	1179	1131	1241	1487	1354	1408	1101	1261	1163
Pourcentage de <i>M. bovis</i> *	0,9	1,4	1,7	2,1	1,6	2,4	2,4	2,2	1,8	2,1

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

En 2022, le nombre de cas de *M. bovis* est similaire aux deux années précédentes. La proportion de cas de *M. bovis* au sein de tous les cas de tuberculose n'est pas significativement différente de celle des 3 dernières années.

Parmi les 29 cas de 2022, l'âge médian était de 37 ans. Six cas étaient nés en France (un cas de pays de naissance inconnu âgé de 4 ans) dont 3 âgés de 15 ans et moins, un cas entre 40 et 50 ans et deux de plus de 70 ans.

3.2.2 Surveillance de la méningite tuberculeuse à culture positive

En 2022, les correspondants du réseau du CNR ont diagnostiqué 2 méningites tuberculeuses chez les enfants de 5 ans et moins. Ce chiffre contraste avec l'année 2021 qui recensait 7 cas (Figure 4). Un des deux cas de 2022 était né en France et pour le second, l'information était inconnue.

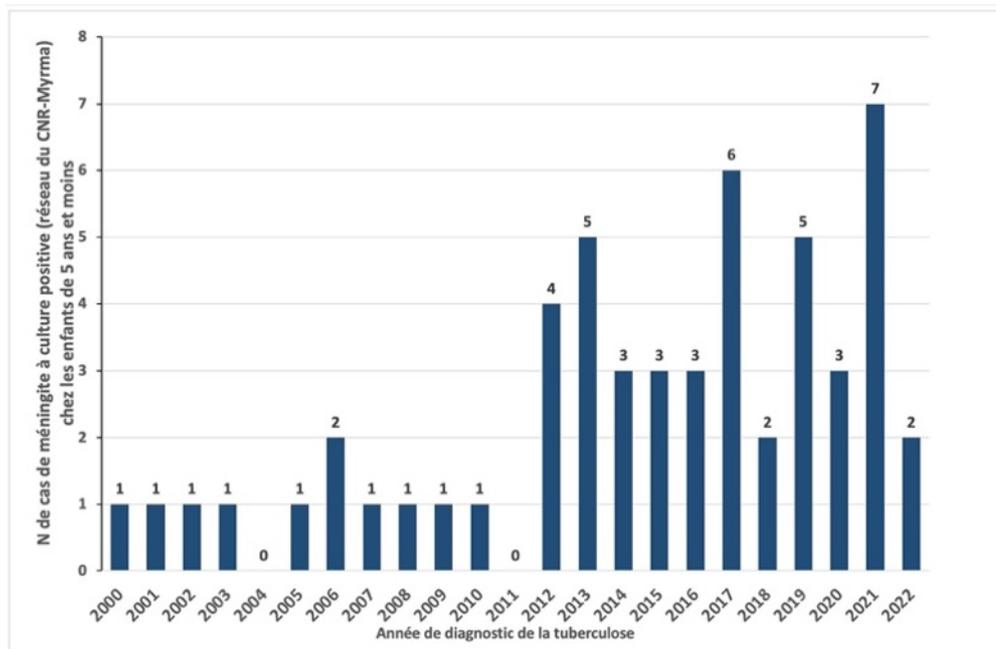


Figure 4. Nombre annuel de cas de méningite tuberculeuse à culture positive chez les enfants de 5 ans et moins.

3.2.3 Infections à mycobactéries non tuberculeuses

La répartition des principales espèces de mycobactéries non tuberculeuses reçues pour identification en 2023 était la suivante :

- 200 souches du **complexe *M. avium* (MAC)** dont 90 *M. avium*, 31 *M. intracellulare* et 53 *M. chimaera*. Parmi ces souches, 61% ont été considérées comme responsables d'infections, essentiellement respiratoires.
- 60 souches de ***M. abscessus*** dont 52 *M. abscessus subsp. abscessus*, 3 *M. abscessus subsp. bolletii*, 5 *M. abscessus subsp. massiliense*. Au total 60% des souches reçues étaient responsables d'infections.
 - 46 souches étaient issues de prélèvements respiratoires et 30 étaient considérées comme responsables d'infections, les autres responsables de colonisation parfois persistante ;
 - 14 souches étaient issues de prélèvements extra-pulmonaires dont 4 cutanéomuqueux, 6 ostéo-articulaires, 1 ORL, 1 d'un ganglion et 1 d'un prélèvement sanguin. Ces souches sont liées à une infection liée aux soins ou d'inoculation en milieu communautaire.
- 33 souches de ***M. xenopi***, toutes considérées comme responsables d'infections.
- 34 souches de **complexe *M. fortuitum*** et apparentés dont 18 *M. fortuitum fortuitum*, 2 *M. porcinum*, 5 *M. senegalense*, 2 *M. setense*, 2 *M. houstonense*, 1 *M. houstonense*, 1 *M. boenickei*, 1 *M. mageritense*, et 2 *M. mucogenicum*. Au total, 68%, étaient considérées comme responsables d'infections. Parmi les 21 extra-respiratoires ont été répertoriées 6 infections cutanéomuqueuses, 3 bactériémies, 10 infections ostéo-articulaires ou post-opératoires, 2 infections du sein. Parmi les 13 souches isolées de prélèvements respiratoires, 2 étaient considérées comme associées à une infection potentielle.
- 26 souches de ***M. chelonae*** et apparentées (*M. salmoniphilum*), dont 23 soit 88% considérées comme responsables d'infections, essentiellement des infections extra-respiratoires, dont :
 - 10 cutanéomuqueuses, 5 ostéo-articulaires, 1 bactériémie sur cathéter, 6 autres prélèvements sanguins et une infection du système nerveux central
- 23 souches de ***M. kansasii***, agent classique d'infections pulmonaires mimant la tuberculose, toutes considérées comme responsables d'infections.

3.2.4 Surveillance de la lèpre en France et dans les départements et territoires ultra-marins (DROM)

Le CNR-MyRMA reçoit toutes les demandes de diagnostic microbiologique de lèpre pour les cas suspectés présents en France métropolitaine ainsi que les demandes venant de territoires ultra-marins où le diagnostic microbiologique est difficile (Réunion, Guyane, Martinique et Guadeloupe) ou requiert des examens complémentaires (Nouvelle Calédonie, Polynésie). Depuis la pandémie Covid-19, nous ne recevons plus systématiquement les demandes en provenance de Mayotte.

De plus nous répondons aux demandes d'aide à la prise en charge pour des patients diagnostiqués les années précédentes, mais présentant des complications. Ceci est fait au cours de la réunion de concertation professionnelle (RCP) mensuelle (voir infra).

En 2023, nous avons reçu 165 prélèvements pour 118 patients avec suspicion de lèpre ou suivi sous traitement. Parmi eux, 41 (24,8%) prélèvements ont été positifs en PCR ou en microscopie, ce qui correspond à 30 (25,4%) patients avec un diagnostic de lèpre. Ces patients étaient 15 nouveaux cas et 15 patients dont le traitement avait déjà été commencé sur la base d'un diagnostic clinique et pour lesquels un suivi microbiologique sous traitement était nécessaire, ou étaient suspects de rechutes devant de nouveaux signes cliniques apparus après l'arrêt du traitement.

Les 30 patients diagnostiqués vivaient pour 13 (43,3%) d'entre eux dans les DROM (8 en Guyane, 1 à Mayotte, 1 à la Réunion, 3 en Nouvelle Calédonie) et pour les 17 restants en France métropolitaine. Les 15 nouveaux cas ont été pris en charge pour 7 cas dans les DROM (2 Nouvelle Calédonie, 2 à la Réunion, et 3 en Guyane) et pour les 8 cas restants dans 8 hôpitaux et 6 régions sanitaires différentes de France métropolitaine. Ceci montre bien la distribution large des cas de lèpre en France, comme cela a été écrit dans le rapport du Haut conseil de santé publique auquel nous avons participé entre 2020 et 2022 (rapport publié en 2023).

Parmi les 30 cas de lèpre avec un diagnostic positif (examen microscopique ou PCR), il a été possible d'étudier la résistance (seule la méthode génotypique est possible dans le diagnostic microbiologique de la lèpre car *M. leprae* ne cultive pas in vitro) pour 14 cas (11 des nouveaux cas et 3 des cas suivis qui n'avaient pas été étudiés précédemment). Ceci a permis de détecter en 2023 seulement un cas de résistance primaire à la dapsonne chez un habitant de Nouvelle Calédonie, les autres cas ont eu des souches sensibles aux antilépreux.

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

3.3.1 Surveillance de la résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux (réseau Azay-Mycobactéries)

Les données recueillies en 2023 concernent les malades diagnostiqués pendant l'année 2022 par 34 laboratoires du réseau Azay-Mycobactéries, recevant les analyses de 45 CHU.

Les 45 CHU du réseau ont colligé pour 2022, les données concernant 1449 cas de tuberculose à culture positive, et parmi ces cas 12 n'avaient pas de résultat d'antibiogramme.

En 2022, le réseau représentait près de 36% des cas de tuberculose recensés par la déclaration obligatoire (Figure 5), en rappelant que le périmètre de surveillance varie entre ces 2 systèmes (tous les cas pour la DO et seulement les cas à culture + pour Azay-Mycobactéries). Cela signifie que la couverture du réseau Azay-Mycobactérie était entre 40% et 45% des cas à culture positive de la DO, si on estime que 10% à 20% des cas de la DO étaient à culture négative.

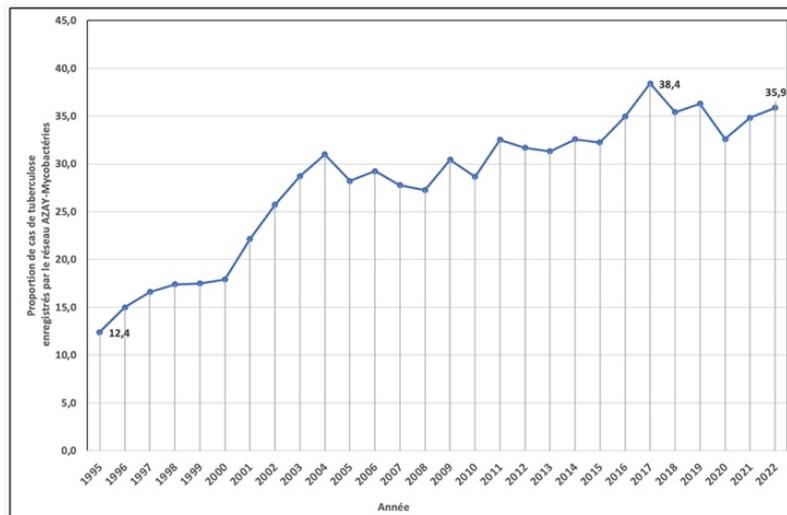


Figure 5. Proportion (%) de cas enregistrés par le réseau Azay-Mycobactéries par rapport aux cas enregistrés dans la déclaration obligatoire

La proportion de cas nés à l'étranger en 2022 était de 76% (71% en 2020 et 75% en 2021), 5,6% avaient déjà été traités (6,6% en 2021) et 5,3% étaient séropositifs pour le VIH (4,7% en 2021).

La proportion de souches résistantes primaires et secondaires à l'isoniazide (INH), la rifampicine (RMP) et l'éthambutol (EMB) en 2022 sont données dans le Tableau 6 selon les antécédents de traitement et le pays de naissance.

Tableau 6. Résistance aux antituberculeux de 1ère ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol) en 2022

(Réseau Azay-Mycobactéries)

Sensibilité	Nouveaux cas						Malades déjà traités					
	Total		France		Autres		Total		France		Autres	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Testées	1190	100	266	100	58	00	81	100	10	100	70	100
Sensible	1113	93,5	266	93,2	846	93,6	66	81,5	9	90,0	56	80,0
Résistant	77	6,5	18	6,8	58	6,4	15	18,5	1	10,0	14	20,0
Résistance à au moins												
INH	73	6,1	17	6,4	55	6,1	15	18,5	1	10,0	14	20,0
RMP	17	1,4	2	0,8	15	1,7	12	14,8	0	0	12	17,1
EMB	14	1,2	3	1,1	11	1,2	8	9,9	0	0	9	12,9
MDR	15	1,3	2	0,8	13	1,4	12	14,8	0	0	12	17,1

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

Pour 12 des 1449 souches, les antibiogrammes n'ont pas été réalisés. Les antécédents de traitement étaient douteux ou inconnus pour 166 cas et le pays de naissance était inconnu pour 49 cas. L'éthambutol n'a pas été éprouvée pour 6 cas.

Chez les cas jamais traités (« résistance primaire »), la fréquence de la résistance à au moins un des trois antituberculeux était de 6,5%. Les souches résistantes à l'INH représentent la quasi-totalité des souches résistantes (73/77 souches), et la résistance à RMP est observée chez 1,4% des souches dont 2 souches monorésistantes. Comme attendu, la résistance est plus fréquente chez les cas nés à l'étranger que chez les cas nés en France.

Chez les malades déjà traités (« résistance secondaire »), la fréquence de la résistance à au moins un des trois antituberculeux était de 18,5 %, plus élevée qu'en 2021 (11,6%) et la multirésistance se montait à 14,8% des cas. Il n'y avait pas de différence significative entre les personnes séropositives pour le VIH et les autres, quels que soient les antécédents (données non montrées).

L'impact des antécédents de traitement sur la prévalence de la résistance aux antituberculeux est clairement montré sur la Figure 6 pour les cas nés en France et sur la Figure 7 pour les cas nés à l'étranger.

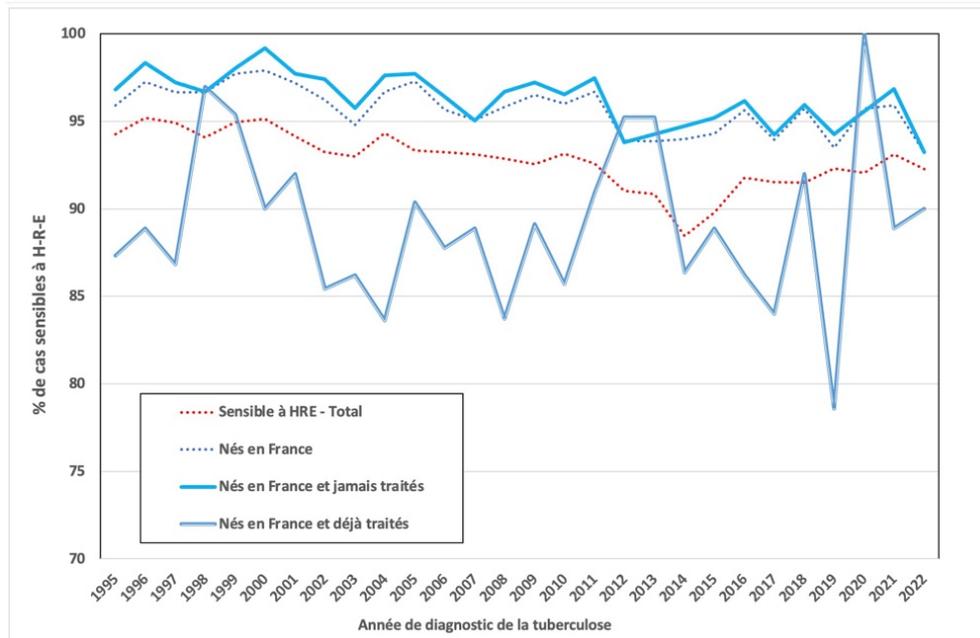


Figure 6. Fréquence de la résistance (%) à ≥ 1 antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2022 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés en France

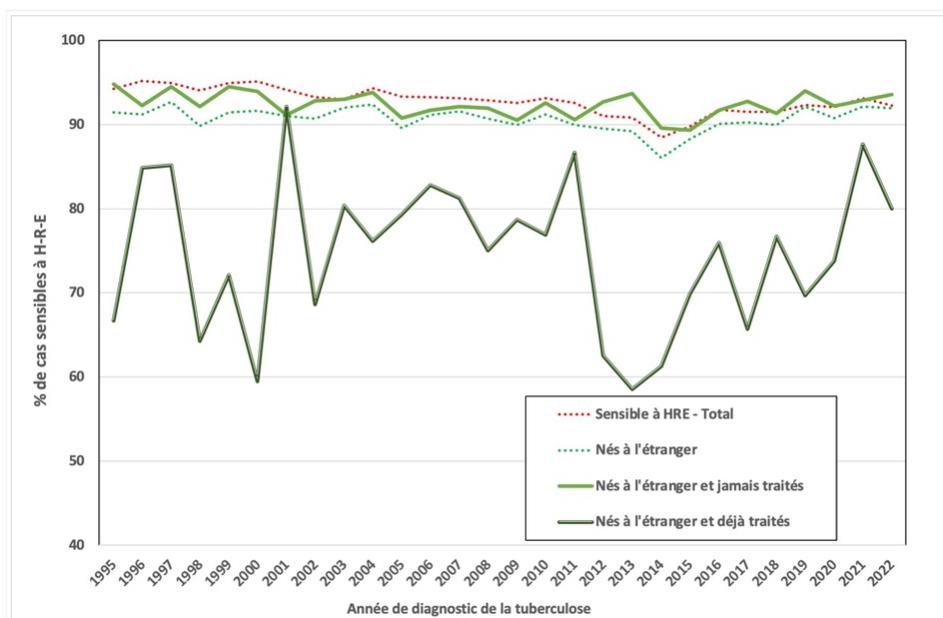


Figure 7. Fréquence de la résistance (%) à ≥ 1 antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2022 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés à l'étranger

3.3.2 Registre national des cas de tuberculose MDR en France

Le registre des cas de tuberculose MDR est un espace de travail anonymisé, déclaré à la CNIL (numéro 2168815) et inscrit au registre des traitements de l'APHP (20201218174223 ; première inscription en 2020, renouvelé pour 3 ans en 2023). Le logiciel de gestion informatisé partageable entre les acteurs (cliniciens en charge des patients, laboratoire, CNR-MyRMA, groupe thérapeutique du CNR-MyRMA) a été développé avec la société Epiconcept sur le logiciel Voozanoo®. L'accès au registre est sécurisé et se fait par mot de passe personnel après accord des administrateurs du CNR. La base de données du registre est hébergée chez Epiconcept qui est HDS.

La mise en œuvre du registre national des cas de tuberculose MDR a commencé en 2020 et a continué pendant toute l'année 2023. Pendant cette période, l'activité du registre a été limitée à l'inclusion des patients discutés pendant les RCP. Les données microbiologiques phénotypiques et génotypiques (saisies par le CNR), les données cliniques du patient et concernant la tuberculose (saisies en ligne par le clinicien en charge), ainsi que la question posée par le clinicien à la RCP et l'avis donné par les experts de la RCP ont été saisies prospectivement dans le registre. Globalement, 178 patients TB MDR ont été inclus dans le registre en 2020-2023 (environ 70% des patients TB MDR totaux en France). Au total, 92 utilisateurs (dans 44 centres différents) ont utilisé le registre, en plus des 7 administrateurs du CNR-MyRMA. Globalement, le remplissage de données pour chaque patient ne reste pas satisfaisant, notamment en ce qui concerne les issues de traitement, à cause de la réponse insuffisante des cliniciens.

En 2023, des fonctionnalités supplémentaires ont été développées par la société prestataire, notamment un tableau détaillé et dynamique de "résumé des cas individuels" pour faciliter les discussions en RCP. Le système a été testé et est prêt à être mis en production en routine à l'occasion des RCP.

En 2024, il est prévu de faire évoluer les conditions d'utilisation du registre : à partir du deuxième trimestre, les demandes de discussion en RCP des patients atteints par tuberculose MDR se feront exclusivement par le remplissage par le clinicien des données cliniques sur le registre. Cela sera facilité par les nouvelles fonctionnalités du registre et par la collaboration d'un ARC/TEC qui a été embauché au CNR. L'ARC sera également chargé de récupérer rétrospectivement les données manquantes essentielles (notamment les issues de traitement) pour les patients déjà inclus dans le registre. Ces nouvelles orientations seront confirmées par le Conseil Scientifique du registre qui se réunira dans le premier trimestre de 2024.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

3.4.1 Mycobacterium tuberculosis

En 2023, le CNR-MyRMA a participé à consolider les données concernant la tuberculose à bacilles multirésistants disponibles dans la base eDO en :

- recensant l'ensemble des cas connus du CNR (réseau AZAY et souches reçues)
- transférant l'ensemble des informations sur ces cas, y compris les données de résistance aux antituberculeux de seconde ligne dans la base eDO
- aidant à identifier les cas signalés MDR dans eDO mais dont les souches n'ont pas été reçues au laboratoire du CNR.

Une fois les données consolidées dans eDO, elles sont transférées par Santé publique France à l'ECDC via Tessy.

De plus, le CNR aide à compléter le questionnaire annuel de ECDC/WHO Europe sur la surveillance de la tuberculose en collaboration avec SpF et la DGS, grâce aux données collectées par le réseau laboratoires du CNR. Ce travail permet une meilleure complétude des données adressées à l'ECDC et WHO Europe et qui sont disponibles dans le rapport annuel de ces institutions,

<https://www.ecdc.europa.eu/en/tuberculosis/surveillance-and-disease-data/annual-tb-surveillance> .

En 2023, nous avons participé aux réunions organisées dans le cadre du réseau européen des laboratoires de référence (ERLN-TB). Cette réunion était à nouveau en présentiel (Madrid, novembre 2023). Nous avons aussi répondu aux questionnaires permettant de faire connaître à l'ECDC et aux autres CNR européens, notre activité et les techniques utilisées.

Par ailleurs, notre travail au sein de EUCAST-AMST nous permet d'avoir une activité de surveillance sur la détection de la résistance aux antituberculeux en standardisant la méthode de détermination des CMI et tests de sensibilité, en particulier pour les nouveaux antituberculeux (voir site https://www.eucast.org/ast_of_mycobacteria).

3.4.2 Mycobactéries non tuberculeuses

Les réunions du réseau ERLTB-net concernent aussi les MNT. En 2023, nous avons fait une publication commune en 2023 (Tagliani et al. sous presse) et un travail de consensus sur le diagnostic des infections à MNT est en cours avec ce groupe pour le référentiel de l'ECDC.

En 2023, nous avons aussi participé aux alertes sanitaires d'infections à MNT avec d'autres pays d'Europe : Allemagne, suisse pour les endocardites à *M. chelonae* et à *M. chimaera* (voir § alertes)

Par ailleurs, notre travail au sein de EUCAST-AMST nous permet de participer à l'une activité de standardisation de la méthode de détermination des CMI et tests de sensibilité aussi pour les MNT (voir site https://www.eucast.org/ast_of_mycobacteria).

3.4.3 Mycobacterium leprae

A la demande du Ministère de la Santé, nous remplissons la déclaration que la France fait à l'OMS des cas de lèpre diagnostiqués en France métropolitaine. En 2023, l'OMS nous a aussi demandé de déclarer les cas des DROM pour lesquels ils n'avaient pas de données.

En 2023, nous avons donc déclaré les cas que nous avons diagnostiqués pour l'année 2022. Ils se décomposent en 20 cas présents en métropole et 5 cas diagnostiqués pour les DROM (à l'exception de la Guyane, la Nouvelle Calédonie et la Polynésie qui font des déclarations spécifiques à l'OMS).

Les cas déclarés pour la France métropolitaine sont 20 cas dont 18 nouveaux cas et 2 rechutes avec 10 femmes et 10 hommes de 5 à 59 ans, dont 3 enfants de moins de 15 ans. Huit d'entre eux étaient originaires de pays étrangers, et 12 d'entre eux venaient des DROM (11 de Mayotte et 1 de Guyane).

Les cas que nous avons diagnostiqués et déclarés pour les DROM sont 5 cas (3 femmes et 2 hommes), dont 2 vivant en Guyane, 1 à la Martinique, 1 à la Réunion, et 1 à Mayotte.

Tous ces cas ont été étudiés pour la résistance aux antituberculeux selon les recommandations de l'OMS 2016. Une souche résistante à la rifampicine a été détectée chez le cas de la Martinique (voir rapport 2023 pour activité 2022)

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Surveillance de la résistance de *M. tuberculosis* au prêtomanide

Le CNR-MyRMA a été intégré au programme international de surveillance de la sensibilité des souches de TB-MDR au prêtomanide coordonné par la TB-Alliance (2020-2025). Cette surveillance comprend également la surveillance de la résistance aux autres antituberculeux les plus récents.

En 2023, 3 souches résistantes au prêtomanide ont été détectées sur la base d'une concentration critique de 1 mg/L.

4 Alertes

Le CNR-MyRMA est mis à contribution par les autorités sanitaires (ARS, InVS, DGS), ou émet spontanément des alertes concernant des cas inhabituels de tuberculose ou d'infection à mycobactérie non tuberculeuse ou de lèpre par leur circonstance de survenue, leur groupement, l'espèce ou la souche en cause.

4.1 Tuberculose

Les évènements marquants pour l'année 2023 ont été les suivants :

- un épisode de transmission présumée nosocomiale d'une TB MDR à un patient greffé pulmonaire
- une transmission intrafamiliale de tuberculose MDR (3 cas au total)
- la poursuite d'une épidémie communautaire de 21 cas de tuberculose MDR à Tahiti débutée en 2015 (3 nouveaux cas en 2022),

En 2022, le CNR-MyRMA a réalisé le génotypage de 52 souches non multirésistantes de *M. tuberculosis* par la méthode MIRU-VNTR de 24 loci pour suspicion de cas groupés. Cela a permis d'apporter les informations suivantes, en complément des enquêtes épidémiologiques menées sur le terrain par les autorités sanitaires (CLAT, etc.) :

- 9 épisodes de cas groupés (communautaire, entreprise, école, foyers de précarité), totalisant 38 cas (2 à 7 cas par épisode),
- 2 cas de vraies rechutes et non de réinfection,
- 3 épisodes de contamination inter-prélèvements au laboratoire (sur 5 suspicions) totalisant 6 cas (2 cas par épisode).

4.2 Mycobactéries non tuberculeuses

Les alertes pour lesquelles le CNR-MyRMA a été sollicité en 2023 sont résumées ci-dessous :

1- Alerte européenne puis mondiale d'infection post CEC (endocardites, spondylodiscites, ...) à *M. chimaera* liés aux générateurs thermiques utilisés dans les blocs opératoires pour la CEC. Pour rappel, ces dispositifs ne sont pas équipés en eau stérile ou bactériologiquement maîtrisée et ont pu relargué des mycobactéries pendant l'intervention chirurgicale. De plus, la démonstration que tous les cas étaient infectés par une souche de génome identique ou proche, a permis de montrer que l'épidémie était liée à une contamination massive à partir d'une souche de *M. chimaera* présente dans des générateurs thermiques lors de leur fabrication dans les usines situées en Allemagne. Cette épidémie a permis de pratiquer une enquête approfondie avec Santé publique France sur l'usage des générateurs thermiques au bloc opératoire dans les établissements pratiquant la chirurgie cardiothoracique.

En 2023, nous avons étudié 10 prélèvements d'eau isolées de générateurs thermiques, envoyées par un hôpital qui avait déclaré une suspicion d'endocardite post-opératoire à mycobactérie, mais pas à *M. chimaera* (voir ci-dessous à *M. fortuitum*) Pour les 10 prélèvements, la culture a été positive à *M. chimaera*, avec une quantité allant de 4600 à 80 000 UFC/L. Le séquençage WGS des souches et la comparaison avec la souche de l'épidémie Zuerich-1, souche de référence pour l'épidémie mondiale, est en cours mais au moins une souche déjà séquencée a montré seulement 4 SNPs de différence avec la souche Zuerich. Il faut noter que les générateurs thermiques sont des modèles achetés après 2017, et donc considérés comme non infecté de novo par *M. chimaera*.

En 2024, nous ferons une synthèse des souches de *M. chimaera* isolées depuis 2015 et dont nous avons les séquences WGS.

Il n'y a pas eu de nouveau cas humain d'infection post CEC mais nous restons vigilants sur les cas d'infection extra-respiratoire à *M. chimaera*

2- Alerte européenne de plusieurs cas d'endocardites à mycobactéries en Allemagne et en France sur bioprothèse survenus entre 2018 et 2022. Un premier fabricant industriel avait été mis en cause pour 5 cas en 2018 et il avait cessé son activité. En 2022, un autre fabricant de bioprothèses (valves et conduits aortiques) a été mis en cause à partir du

signalement eSin d'un cas d'endocardite à mycobactérie et un signalement en matériovigilance à l'ANSM en mars 2022.

En 2022, nous avons été alertés pour un cas d'endocardite à *M. chelonae* d'un CHU du réseau Azay. Nous avons été aussi informés de cas semblables en Allemagne et avons établi un protocole commun avec le CNR allemand. Nous avons participé à l'écriture et la diffusion de recommandations aux établissements de santé concernant les valves et les conduits valvés biologiques, ainsi qu'à l'écriture d'un article synthétisant tous les cas observés en Allemagne et en France (collaboration avec le CNR allemand : Pr Florian Maurer, Pr Stefan Niemann, Dr Inna Friesen, Pr Annette Moter). Un article a été soumis à publication en 2024. Nous avons aussi en 2022, à la demande de l'ANSM, examiné plusieurs valves et bioconduits non implantés venant de différents industriels. Seul un industriel a été mis en cause à ce jour et la source de l'infection n'a pas été encore trouvée.

En 2023, les échanges ont continué avec l'ANSM et Santé publique France (bureau des infections liées aux soins). Une alerte ayant été faite aux réseaux nationaux de mycobactériologistes (AZAY et CNR, MycoMED,) et d'infectiologues et cardiologues (Association de prévention de l'endocardite infectieuses, AEPEI), nous poursuivons l'étude des valves suspectes d'endocardite sur bioprothèses. Dans ce cadre-là, nous avons étudié 7 valves pour 5 patients en 2023. Les recherches de mycobactéries étaient négatives.

Ces recherches se poursuivront en 2024 car le fabricant mis en cause a toujours le droit de vendre des valves en dehors de la France et de l'Allemagne, et comme dit précédemment, la source de l'infection n'a pas été encore trouvée. Nous restons donc vigilants.

3- Cas groupés d'infections sous cutanées à *M abscessus subsp. massiliense*, faisant suite à l'injection de produits non répertoriés dans le commerce (vente en ligne) et administré en cabinet esthétique.

En 2022, nous avons été alertés par des cas d'infections à *M abscessus subsp. massiliense* de 4 patientes ayant eu des injections du même produit (Lipolab) dans le même cabinet esthétique. La culture avait été positive pour 3 patientes seulement, la dernière étant de culture négative mais avec une PCR positive. Les investigations microbiologiques menées au CNR avec le CHU, avaient montré que ces cas étaient liés avec une souche non différenciée en comparaison génomique (ci-dessous, cas 15-5626, 16-5658 et 17-5683).

En 2023, deux autres souches ont été reçues, l'une d'un autre CH (cas 75-5770) et l'autre d'un institut pasteur à l'étranger (cas 90-6209). Ces deux souches avaient été isolées aussi d'infection post injection d'un produit acheté en dématérialisé. Nous avons alors comparé les 5 souches, qui sont identiques (0 SNP de différence) alors qu'elles présentent plus que 200 SNPs de différences avec la souche de référence et la souche de témoin externe (cas 80-5907).

Il n'a pas été possible de connaître le fabricant ni les personnes responsables des injections, celles-ci ne se déroulant pas dans un cadre médical.

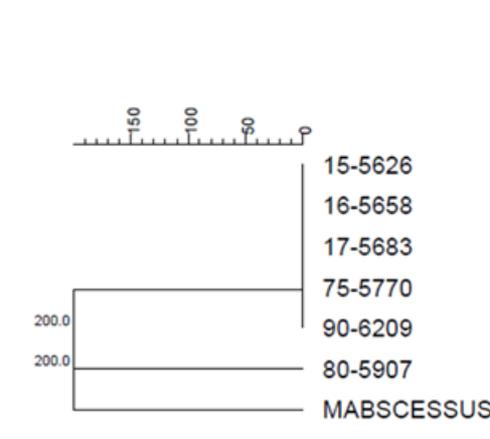


Figure 8 : comparaison des souches de *M abscessus subsp. massiliense*

4- Cas groupés d'infections à *Mycobacterium chelonae* dans les hôpitaux d'une même région

Depuis 2019, nous sommes sollicités pour des cas d'infections à *M. chelonae* liés aux soins ou survenant chez des patients ayant été hospitalisés dans deux hôpitaux d'une même région (centre anti-cancéreux et CHU). De 2019 à 2022, 21 cas ont été rapportés à SPF avec l'envoi de souches au CNR pour génotypage. Les souches ont été étudiées en WGS, et comparées aussi à celles isolées de prélèvements d'eau faits dans plusieurs lieux des 2 centres.

En 2023, nous avons reçu une 22ème souche isolée d'un cas survenu fin 2022.

A ce jour, les 22 souches se distribuent en plusieurs clusters mais nous n'avons pas encore pu trouver tous les liens unissant ces souches et expliquant ces cas groupés, sauf un cluster regroupant 5 cas de patients et aussi deux souches environnementales, et un cluster regroupant 7 cas de patients et les souches de la douche et lavabos de la chambre incriminée,

Des réunions ont eu lieu avec SPF (équipe infections liées aux soins), les équipes opérationnelles d'hygiène et l'ARS des établissements concernés. Des recommandations ont été faites pour les précautions d'hygiène, le suivi des cas, l'usage de l'eau, la cartographie des puisages d'eau froide etc... Le suivi épidémiologique n'est pas encore abouti et nous restons vigilants sur la survenue de nouveaux cas d'infections.

En 2024, nous espérons pouvoir faire le bilan et la synthèse de ces cas groupés, sous réserve qu'il n'y ait plus de nouveau cas en 2024.

5- Cas isolé d'endocardite à *Mycobacterium fortuitum* suspecte d'être liée aux soins

A la suite d'un signalement eSin, nous avons expertisé une souche de *M. fortuitum* subsp. *fortuitum* isolée d'une plaie post opératoire de chirurgie cardiaque. La souche nous a été envoyée par un CHU, ainsi que 10 prélèvements d'eau des générateurs thermiques utilisés en chirurgie cardiaque, car le GT utilisé n'avait pas été tracé. Tous les prélèvements d'eau ont été positifs en culture à *M. chimaera*, avec de 4600 à 80 000 UFC/L. Ces souches vont être étudiées pour leur lien avec l'épidémie mondiale d'infection à *M. chimaera* post CEC (voir ci-dessus).

Aucune des eaux n'a retrouvé la souche de *M. fortuitum* du patient. Cela ne signifie pas que l'infection n'ait pas pu avoir lieu par ce lien puisque comme souvent le prélèvement d'eau est fait à distance de l'intervention supposée infectante.

Il n'y a pas eu d'autre cas d'infection à *M. fortuitum* dans le CHU en 2022 ou 2023.

5 Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Le Groupe Thérapeutique des infections à mycobactéries de traitement difficile a été mis en place par le CNR-MyRMA en 2006. Une charte régit le fonctionnement de ce groupe, dénommé « TB-MNT-consilium France », qui organise des Réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP). La liste des participants présents est établie lors de chaque RCP et une bibliographie à jour est mise à la disposition des participants. Ces RCP sont accessibles en "présentiel" ou en vidéoconférence.

Initialement centré sur les cas de tuberculose (TB-MDR ou autres TB de traitement difficile), le CNR-MyRMA a mis en place en 2018 une RCP spécifiquement dédiée à la prise en charge des infections à mycobactéries non tuberculeuses, respiratoires et extra-respiratoires et une RCP dédiée à la lèpre. Une fiche de renseignements microbio-cliniques « MNT » et une pour la lèpre ont été élaborées pour réunir les informations données par le correspondant et nos échanges de réponses avec les résultats d'expertise.

Les activités du TB-NTM-consilium sont organisées par :

- le laboratoire coordinateur (Pitié-Salpêtrière) pour les RCP « tuberculoses complexes »,
- le laboratoire associé (Lariboisière) pour les RCP « infections à mycobactéries non tuberculeuses » et RCP « lèpre ».

5.1.1 Site internet du CNR-MyRMA

Le site internet du CNR-MyRMA, <https://cnrmyrma.fr>, refondu en 2022, est mis à jour régulièrement, en particulier en y ajoutant les rapports annuels du CNR-MyRMA, en mettant à jour les données de surveillance et les publications du CNR-MyRMA et des alertes ou informations clés à destination des professionnels.

5.1.2 RCP tuberculoses complexes

Au total 245 dossiers ont été discutés par le Groupe thérapeutique au cours des 23 sessions de 2023 pour 195 patients, certains patients ayant fait l'objet de plusieurs présentations pour modification de traitement. Selon leur complexité, les dossiers de ces cas ont été examinés lors de 1 à 6 réunions.

Distribution des 195 patients :

- 31 des 70 cas de tuberculose à (TB) bacilles multirésistants (MDR-XDR) identifiés en 2023
- 31 des 65 cas de tuberculose à (TB) bacilles multirésistants (MDR-XDR) identifiés en 2022
- 3 des 51 cas de tuberculose à (TB) bacilles multirésistants (MDR-XDR) identifiés en 2021
- 1 des 82 cas de tuberculose à (TB) bacilles multirésistants (MDR-XDR) identifiés en 2017
- 50 sujets contact de cas de TB résistantes pour discussion de prophylaxie ou gestion de tuberculose maladie non documentée bactériologiquement (cas pédiatriques)
- 79 cas de TB compliquée non MDR (aggravations paradoxales, monorésistance aux antituberculeux, toxicité, etc).

En 2023, les participants réguliers aux RCP tuberculose étaient :

- l'équipe du CNR-MyRMA,
- 3 praticiens du Centre Médical de Bligny (Mathilde Jachym, Damien Le Dû, Dhiba Marigot Outtandy),
- 2 pédiatres de l'hôpital Trousseau (Guillaume Thouvenin, Blandine Prevost)
- 1 spécialiste des réactions paradoxales (Anne Bourgarit)
- 1 infectiologue (Cécile Pouderoux).

Tendances évolutives 2006-2023 RCP tuberculose

L'activité de conseil via les RCP, a considérablement augmenté après la phase initiale de mise en place en 2006-07 (11 à 13 dossiers/an) : +50% de 2009 à 2011 (46 à 70 dossiers/an), x2 entre 2011 et 2012, +30% en 2013 et +53% (2018). Depuis 2020 cette activité s'est stabilisée autour d'environ 200 dossiers par an.

En 2023, cette activité a augmenté d'environ 25% principalement du fait d'une augmentation des avis tuberculose non MDR et des avis pour gestion d'ITL autour de cas résistants.

En dehors des RCPs, l'équipe du CNR répond à des demandes de conseils concernant le diagnostic ou le traitement des infections mycobactériennes.

En 2023, 631 conseils ont été donnés :

- 30% pour traitement de mycobactériose
- 40% pour traitement de tuberculose compliquée
- 16% pour traitement de tuberculose MDR
- 10% pour problème diagnostique
- 2% pour conseil technique

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 2023 ont fait l'objet de conseils thérapeutiques par le CNR-MyRMA.

5.1.3 RCP des infections à mycobactéries non tuberculeuses

En 2023, nous avons eu 11 réunions de RCP au cours desquelles nous avons examiné et discuté les cas de 144 patients atteints d'infections à mycobactéries non tuberculeuses.

Il s'agissait pour environ la moitié d'infections respiratoires (79/144, 54,9%) chez des personnes ayant une pathologie broncho-pulmonaire chronique (bronchectasie, BPCO, cancer, mucoviscidose ...) dont 8 cas de mucoviscidose avec des infections à *M. abscessus* et dont 52 infections respiratoires à *M. avium* complex (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chimaera*). Les autres infections sont à *M. abscessus* (7), *M. kansasii* (1), *M. xenopi* (4), *M. malmoense* (1). Certaines infections respiratoires étaient dues à plusieurs mycobactéries.

Pour l'autre moitié (65/144, 45,1%), il s'agissait d'infections extra-respiratoires observées chez des patients immunodéprimés (pathologies cancéreuses ou hémopathies, SIDA, immunosuppresseurs au long cours) dont 26 infections généralisées, 3 infections post-opératoires, 16 infections cutanées chez des patients ayant eu une inoculation directe liées aux soins et 4 adénopathies de l'enfant.

Nous mettons en place une analyse détaillée des cas discutés et ceci sera un des projets que nous développerons en 2024.

5.1.4 RCP lèpre

En 2023, nous avons eu 11 réunions au cours desquelles nous avons examiné et discuté les dossiers pour 55 cas de lèpre ou suspects de l'être.

Les questions posées au groupe de collègues de la RCP (cf description en annexe) étaient les suivantes : suspicion diagnostique de lèpre (n=8) ; prise en charge d'un nouveau cas (n=12) ; prise en charge de troubles neurologiques liés à la lèpre (n=3), discussion du traitement de la lèpre (n=3), suivi sous traitement le plus souvent à cause de manifestations d'intolérance ou de nouveaux signes suspects de réaction lépreuse, prise en charge de réactions de type 1 (n=3) ou d'érythème noueux lépreux (ENL, n=9), pour lesquelles un traitement immunomodulateur ou immunosuppresseur était requis.

La présence de collègues spécialisés en dermatologie, infectiologie et neurologie, nous permet de répondre au mieux aux besoins des collègues et des patients. Une fiche diagnostique a été réalisée par le CNR-MyRMA et est présente sur le site web. Des fiches thérapeutiques vont être réalisés par l'équipe de la RCP (voir projets).

5.1.5 Accueil de stagiaires ou visiteurs

En 2023, le CNR a accueilli :

- une stagiaire du Ministère de la Santé du Brésil, dans le cadre d'une coopération France-Brésil (SpF) : 1 jour
- un stagiaire du DU Tuberculose : 2 jours
- Dr Valérie Donkeng, responsable du laboratoire de référence pour la tuberculose du Cameroun : 2 jours pour observation et discussion de collaboration
- le Dr Marianne Antar, responsable du Laboratoire de référence de la tuberculose du Liban, pour formation NGS
- Drs Jim Werngren et Ramona Groenheit, Centre national de référence pour la tuberculose en Suède, et laboratoire supranational OMS : 2 jours pour observation et discussion de protocoles et de collaboration
- une interne en médecine italienne : 1 jour
- un stagiaire M2, M2 Microbiologie (MBVP) : microbiotes, agents pathogènes et thérapeutiques anti-infectieuses, Université Paris Saclay
- un stagiaire de M2 bio-informatique université Paris-Cité, pris en alternance.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

HAS

- Audition dans le cadre de la saisine HAS sur la « réévaluation de la stratégie de dépistage et de diagnostic de la tuberculose maladie chez les adultes et les enfants, en France » (N. Veziris)
- Participation à la réunion organisée par l'HAS : « Réévaluation de la stratégie de dépistage et de diagnostic de la tuberculose maladie chez les adultes et les enfants, en France » (N. Veziris)

ANSM

- Information de l'ANSM puis réunion avec l'équipe du pôle Maladies Infectieuses et Emergentes pour essayer de trouver une solution à l'absence de demande d'AMM pour la rifampentine et les formulations pédiatriques des antituberculeux en Europe (L. Guglielmetti, N. Veziris)
- Participation à une réunion avec l'ANSM à propos de l'arrêt annoncé de la commercialisation du TUBERTEST (N. Veziris)
- Poursuite des investigations sur les endocardites à mycobactéries sur bioprothèses (E. Cambau)

SPF

- Conseil et discussion sur les laboratoires européens de référence et les réseaux de laboratoire avec l'ECDC (intervention journées des CNR 19 octobre 2023, E. Cambau)

ARS

- Participation à une réunion organisée par l'ARS Ile-de-France sur lutte contre la tuberculose (N. Veziris).
- Participation à l'investigation liées aux alertes avec les ARS régionales (cf supra)

CASFM

- Participation aux révisions bi-annuelles des recommandations pour l'antibiogramme des mycobactéries non tuberculeuses publiées par le CA-SFM (première publication en 2019) (A. Aubry, E. Cambau, F. Mougari, N. Veziris)

ECDC / OMS

- Participation à la demande de l'OMS région Europe à des réunions sur la disponibilité des antituberculeux en Europe (Workshop on Access to TB medicines in the WHO European Region) (L. Guglielmetti, N. Veziris)
- Partage des données concernant les cas de tuberculose MDR en France (2006/2019) et leur devenir pour contribuer aux analyses pour les nouvelles recommandations de l'OMS sur la prise en charge de la tuberculose résistante aux médicaments (L. Guglielmetti, N. Veziris, J. Robert)
- Participation comme représentant de l'ESCMID au EU/EEA Tuberculosis Disease Network Meeting coordonné par l'ECDC (L. Guglielmetti)
- Participation au comité de pilotage de l'European Research Initiative, un groupe de travail promu et organisé par la région Europe de l'OMS (L. Guglielmetti)

- Participation en virtuel au conseil scientifique de l'OMS lèpre à Goa, Inde en novembre 2023, pour suivi et nouvelles propositions dans le cadre de la stratégie 2020-2030 (E. Cambau)
- Participation aux conférences organisées par l'ECDC sur les laboratoires de référence (J. Robert, E. Cambau)

ESCMID

- ESCMID comme membre du comité exécutif (E. Cambau) et comme président du « ESCMID study group for mycobacterial infections » (ESGMYC, L. Guglielmetti)
- EUCAST : comme responsable (E. Cambau) du groupe des antimycobactériens (AMST) et comme membre représentant la France (A. Aubry): 3 réunions du bureau et de l'ensemble du groupe AMST et 2 réunions avec le groupe général de EUCAST

ERS

- Participation au Long Range Planning Committee du groupe d'étude sur les infections respiratoires de l'ERS (L. Guglielmetti)

SPILF / SPLF

- Participation à la rédaction des nouvelles guidelines françaises pour la prise en charge de la tuberculose (L. Guglielmetti, N. Veziris)

SF2H

- Participation à la relecture du document de la SFHH sur les précautions complémentaires en cas de tuberculose pulmonaire

AUTRES

- Révision de la fiche tuberculose pour l'INRS (Institut national de recherche et de sécurité) dans le cadre de la réalisation d'un "Guide de conduites à tenir après exposition fortuite à un agent biologique"

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

- Interview au journal Le Monde sur les nouveaux traitements antituberculeux (https://www.lemonde.fr/planete/article/2023/11/18/de-nouvelles-pistes-de-traitements-contre-la-tuberculose_6200910_3244.html)
- Interview au journal Libération sur les nouveaux traitements antituberculeux (https://www.liberation.fr/societe/sante/tuberculose-multiresistante-un-nouveau-traitement-preventif-fait-esperer-les-malades-20231116_L2QBINWWANC2FHS2243D4JFLPY/)
- Interview pour les Terriennes - TV5 Monde sur la recherche sur la lèpre (<https://information.tv5monde.com/terriennes/geeske-zijp-infirmiere-engagee-aupres-des-malades-oublies-de-la-lepre-1765709>)
- Interview pour le journal science et avenir sur la lèpre (https://www.sciencesetavenir.fr/sante/la-lepre-une-maladie-loin-d-etre-eradiquee-mais-toujours-negligee_169151 y)
- Interventions à l'Académie Nationale de Médecine sur la lèpre (E. Cambau) et l'ulcère de Buruli (J. Robert)
- La lèpre aujourd'hui : de gros progrès mais des résistances par Emmanuelle CAMBAU (youtube.com);
Ulcère de Buruli : avancées thérapeutiques et encore bien des mystères par Jérôme ROBERT (youtube.com)

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

6.1 Activités de recherche lors de l'année 2023

Le résumé des travaux 2023 est donné ci-dessous.

La liste extensive des travaux publiés est disponible sur le site internet du CNR : <https://cnrmyrma.fr/publications/>.

6.1.1 Tuberculose

- Participation à deux études multicentriques sur les facteurs pronostics (extension de l'atteinte pulmonaire, tabagisme et intoxication alcoolique) associés aux issues de traitement de la TB-MDR, basées sur l'analyse d'une large base de données internationale de données individuelles (Campbell et al, *Thorax* et *IJTL*)
- Participation à un consensus d'experts de deux réseaux internationaux sur les implications et l'interprétation des résultats des tests moléculaires pour la détection de la résistance sur la prise en charge de la tuberculose (Dominguez et al)
- Participation à un consensus international d'experts en recherche clinique au sujet de la standardisation des procédures et des critères d'évaluation dans les essais cliniques sur la tuberculose (Du Cros et al)
- Evaluation par le biais d'un réseau européen de l'accès aux médicaments et aux tests de résistance pour la prise en charge de la TB-MDR dans la région Europe : analyse de l'accès, des couts totaux et relatifs par rapport à la TB susceptible aux médicaments (Günther et al, *Clinical Microbiology and Infection* et *IJTL*)
- Revue de la littérature sur la prophylaxie pour les contacts des patients TB-MDR et arguments en faveur du traitement préventif chez ces patients (Khan et al)
- Evaluation globale de la situation épidémiologique de la TB en Inde et des défis avec qui doit se confronter le programme national de lutte contre la TB de ce pays, un contributeur majeur des cas de TB et TB-MDR au niveau global (Masini et al)
- Revue avec un groupe international d'experts des bonnes pratiques dans la prise en charge actuelle de la TB-MDR et des perspectives les plus intéressantes d'amélioration dans ce domaine (Motta et al)
- Protocole d'étude d'un essai clinique multicentrique randomisé contrôlé de Phase III qui évalue un nouveau traitement court pour la prise en charge de la TB résistante à la rifampicine et aux fluoroquinolones (pré-XDR TB) (Patil et al)
- Etude de la phylogénie et caractères de résistance de *Mycobacterium africanum* (lignées 5 et 6 de *M. tuberculosis*) à partir d'une étude épidémiologique de souches isolées au Nigéria et dans les pays limitrophes (Sahal, Muhammed Rabiu et al. , thèse de sciences)
- Description d'un outil d'étude génomique in silico « TB annotator » permettant l'étude phylogénétique et évolutive des lignées de *M. tuberculosis* (Senelle et al.).
-

6.1.2 Mycobactéries non tuberculeuses

- Description de cas d'infection à MNT (Faury et al., Hamon et al.)
- Etude des distributions de CMI pour les principales MNT, *M. abscessus* et *M. avium* complex (Froberg et al.)
- Revue pédagogique sur les infections à MNT (Heid et al.) et la résistance de *M. abscessus* aux antibiotiques (Tunési et al.)

6.1.3 Lèpre

- Validation d'un nouveau test diagnostique pour la lèpre, Deeplex Myc Lep produit par Genoscreen (Lille, France). Ce test analyse en NGS les principales mutations conférant une résistance aux antilépreux et aussi indique avec une étude du profil VNTR les similitudes génomiques associées à la transmission. Nous avons comparé les résultats obtenus entre des ADN que nous avons étudiés en Whole genome sequencing et les résultats du Deeplex MycLep.(Jouet et al.)
- Description de cas de lèpre avec des réactions lépreuses pour lesquels le méthotrexate (Jaume et al.) et l'apremilast (Mengeot et al.).

- Etude de la résistance aux antilépreux au Tchad : participation aux travaux de thèse de sciences de Mr Kirga, Kabo Abakar (Abakar et al.)
- Détermination de la dose minimale efficace de bédaquiline et évaluation de l'activité d'une bédaquiline injectable à très longue demie-vie en comparaison à la bédaquiline orale dans un modèle murin de lèpre (Chauffour et al).

6.2 Liste des publications et communications de l'année 2023 concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

En 2023, le CNR-MyRMA a publié

- 23 publications internationales.
- 4 publications nationales
- 2 chapitres d'ouvrage.

EN 2023, le CNR-MyRMA a participé dans des congrès ou symposiums à

- 23 communications sur invitation
- 6 communications scientifiques.

Le CNR-MyRMA a aussi participé à l'organisation d'une journée scientifique internationale.

6.2.1 Publications internationales

1. Barbier, Elodie, Théo Fouchet, Alain Hartmann, Emmanuelle Cambau, Faiza Mougari, Clément Dubois, Maurice Lubetzki, and Murielle Rochelet. "Rapid Electrochemical Detection of Mycobacterium Tuberculosis in Sputum by Measuring Ag85 Activity with Disposable Carbon Sensors." *Talanta* 253 (February 1, 2023): 123927. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123927> .
2. Campbell, J. R., E. D. Chan, L. F. Anderson, M. Bonnet, S. K. Brode, J. P. Cegielski, L. Guglielmetti, et al. "Association of Smoking and Alcohol Use with Rifampin-Resistant TB Treatment Outcomes." *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 27, no. 4 (April 1, 2023): 338–40. <https://doi.org/10.5588/ijtld.22.0678> .
3. Campbell, Jonathon R, Sarah K Brode, Pennan Barry, Mayara Lisboa Bastos, Maryline Bonnet, Lorenzo Guglielmetti, Russell Kempker, et al. "Association of Indicators of Extensive Disease and Rifampin-Resistant Tuberculosis Treatment Outcomes: An Individual Participant Data Meta-Analysis." *Thorax*, December 22, 2023, thorax-2023-220249. <https://doi.org/10.1136/thorax-2023-220249> .
4. Chauffour, Aurélie, Nacer Lounis, Koen Andries, Vincent Jarlier, Nicolas Veziris, and Alexandra Aubry. "Minimal Effective Dose of Bedaquiline Administered Orally and Activity of a Long Acting Formulation of Bedaquiline in the Murine Model of Leprosy." Edited by Paul J. Converse. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 17, no. 11 (November 27, 2023): e0011379. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011379> .
5. Domínguez, José, Martin J Boeree, Emmanuelle Cambau, Dumitru Chesov, Francesca Conradie, Vivian Cox, Keertan Dheda, et al. "Clinical Implications of Molecular Drug Resistance Testing for Mycobacterium Tuberculosis: A 2023 TBnet/RESIST-TB Consensus Statement." *The Lancet Infectious Diseases*, February 28, 2023. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00875-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00875-1) .
6. Du Cros, P., J. Greig, J.-W. C. Alffenaar, G. B. Cross, C. Cousins, C. Berry, U. Khan, et al. "Standards for Clinical Trials for Treating TB." *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 27, no. 12 (December 1, 2023): 885–98. <https://doi.org/10.5588/ijtld.23.0341> .
7. Faury, Hélène B., Zeina Awad, Sarah Jolivet, Killian Le Neindre, Jeanne Couturier, Alexandre Godmer, Raphaël Colle, Laura I. Levi, Emmanuelle Cambau, and Frédéric Barbut. "Investigation of a Mycobacterium Fortuitum Catheter-Related Bloodstream Infection in an Oncology Unit." *Infection Control & Hospital Epidemiology*, February 20, 2023, 1–3. <https://doi.org/10.1017/ice.2022.263> .
8. Fröberg, Gabrielle, Florian P. Maurer, Erja Chryssanthou, Louise Fernström, Hanaa Benmansour, Samira Boarbi, Anne Torunn Mengshoel, et al. "Towards Clinical Breakpoints for Non-Tuberculous Mycobacteria – Determination of Epidemiological Cut off Values for the Mycobacterium Avium Complex and Mycobacterium Abscessus Using Broth Microdilution." *Clinical Microbiology and Infection*, February 20, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.02.007> .

9. Günther, G., L. Guglielmetti, C. Leu, F. van Leth, and C. Lange. "Relative Cost of Multidrug-Resistant TB Medicines in Europe." *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 27, no. 5 (May 1, 2023): 341–44. <https://doi.org/10.5588/ijtld.23.0026> .
10. Günther, Gunar, Lorenzo Guglielmetti, Claude Leu, Christoph Lange, Frank van Leth, Hasan Hafizi, Naira Khachatryan, et al. "Availability and Costs of Medicines for the Treatment of Tuberculosis in Europe." *Clinical Microbiology and Infection* 29, no. 1 (January 1, 2023): 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.07.026> .
11. Guthmann, Jean-Paul, Philippe Fraisse, Isabelle Bonnet, and Jérôme Robert. "Active Tuberculosis Screening among the Displaced Population Fleeing Ukraine, France, February to October 2022." *Eurosurveillance* 28, no. 12 (March 23, 2023). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.12.2300155> .
12. Hamon, Antoine, Geoffroy Liegeon, Kévin Louis, Emmanuelle Cambau, and Nathalie De Castro. "Atypical Presentation of Mycobacterium Xenopi Pulmonary Infection in a Kidney Transplant Recipient: A Case Report and Literature Review." *IDCases* 31 (January 1, 2023): e01675. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2022.e01675> .
13. Jaume, Léa, Estelle Hau, Gentiane Monsel, Antoine Mahé, Antoine Bertolotti, Antoine Petit, Britney Le, et al. "Methotrexate as a Corticosteroid-Sparing Agent in Leprosy Reactions: A French Multicenter Retrospective Study." Edited by Husain Poonawala. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 17, no. 4 (April 20, 2023): e0011238. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011238> .
14. Jouet, Agathe, Sofie Marijke Braet, Cyril Gaudin, Gaëlle Bisch, Sidra Vasconcellos, Rebecca Emmanuela Epaminondas Nicacio De Oliveira Do Livramento, Yrneh Yadamis Prado Palacios, et al. "Hi-Plex Deep Amplicon Sequencing for Identification, High-Resolution Genotyping and Multidrug Resistance Prediction of Mycobacterium Leprae Directly from Patient Biopsies by Using Deeplex Myc-Lep." *EBioMedicine* 93 (2023): 104649. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104649>.
15. Khan, U., and L. Guglielmetti. "Tailored TPT for Drug-Resistant TB - Promoting Equity and Access to Optimal Care." *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease* 27, no. 1 (January 1, 2023): 89b–890. <https://doi.org/10.5588/ijtld.22.0538> .
16. Kirga, Kabo Abakar, Bessimbaye Nadlaou, Abakar Mahamat, Emmanuelle Cambau, Véronique Penlap, and Sylvain Godreuil. "Genotypic Characterization of Mycobacterium Leprae Strains Resistant to Rifampicin and Ofloxacin in Three Health Districts in Chad." *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 13, no. 3 (March 15, 2023): 7–11. <https://doi.org/10.22270/jddt.v13i3.5748> .
17. Masini, Tiziana, Jennifer Furin, Zarir Udawadia, and Lorenzo Guglielmetti. "Optimal Management of Drug-Resistant Tuberculosis: Can India Lead the Way?" *Indian Journal of Medical Research* 157, no. 2 & 3 (March 2023): 220. https://doi.org/10.4103/ijmr.ijmr_300_23 .
18. Mengeot, Laura, Marie Jachiet, Emmanuelle Bourrat, Antoine Mahé, Emmanuelle Cambau, Elise Bernard, Cassandre Pasqualini, et al. "Effective Management of Severe Chronic Erythema Nodosum Leprosum in Adolescent Patient Using Ustekinumab and Apremilast: A Case Report." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, October 18, 2023, jdv.19552. <https://doi.org/10.1111/jdv.19552> .
19. Motta, Ilaria, Martin Boeree, Dumitru Chesov, Keertan Dheda, Gunar Günther, Charles Robert Horsburgh, Youstra Kherabi, et al. "Recent Advances in the Treatment of Tuberculosis." *Clinical Microbiology and Infection*, 2023, S1198743X23003397. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.07.013>.
20. Patil, S. B., M. Tamirat, K. Khazhidinov, E. Ardizzoni, M. Atger, A. Austin, E. Baudin, et al. "Evaluating Newly Approved Drugs in Combination Regimens for Multidrug-Resistant Tuberculosis with Fluoroquinolone Resistance (EndTB-Q): Study Protocol for a Multi-Country Randomized Controlled Trial." *Trials* 24, no. 1 (November 30, 2023): 773. <https://doi.org/10.1186/s13063-023-07701-6> .
21. Sahal, Muhammed Rabiou, Gaetan Senelle, Kevin La, Tukur Wada Panda, Dalha Wada Taura, Christophe Guyeux, Emmanuelle Cambau, and Christophe Sola. "Mycobacterium Tuberculosis Complex Drug-Resistance, Phylogenetics, and Evolution in Nigeria: Comparison with Ghana and Cameroon." Edited by Simon Rayner. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 17, no. 10 (October 12, 2023): e0011619. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011619> .
22. Senelle, Gaetan, Muhammed Rabiou Sahal, Kevin La, Typhaine Billard-Pomares, Julie Marin, Faiza Mougari, Antoine Bridier-Nahmias, et al. "Towards the Reconstruction of a Global TB History Using a New Pipeline "TB-Annotator"." *Tuberculosis* 143 (2023): 102376. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2023.102376> .
23. Tunesi, Simone, Adrian Zelazny, Zeina Awad, Faiza Mougari, Julien M. Buyck, and Emmanuelle Cambau. "Antimicrobial Susceptibility of Mycobacterium Abscessus and Treatment of Pulmonary and Extra-Pulmonary Infections." *Clinical Microbiology and Infection*, 2023, S1198743X23004822. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.09.019>.

6.2.2 Publications nationales

1. Aubry, Alexandra, and Nicolas Veziris. "La tuberculose, l'une des plus anciennes maladies infectieuses : quelles avancées récentes majeures ?" *médecine/sciences* 39, no. 3 (March 1, 2023): 203–4. <https://doi.org/10.1051/medsci/2023054> .
2. Cambau, Emmanuelle. "La lèpre aujourd'hui : de gros progrès mais des résistances." *Bull Acad Nat Med* 207, no. 8 (2023): 1053–63. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2023.04.017> .
3. Kassegne, L., N. Veziris, and P. Fraisse. "Analyse pharmacologique du traitement des pneumopathies à *Mycobacterium abscessus*." *Revue des Maladies Respiratoires*, 2023, S0761842523002711. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2023.10.010> .
4. Robert, Jérôme. L'ulcère de Buruli ou infection à *Mycobacterium ulcerans*. *Bull Acad Nat Med* 2023;207:1064-1074. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2023.07.013>

6.2.3 Communications orales invitées

NATIONALES

1. E. CAMBAU. Conférence à l'université de Nouméa (février 2023) : « *Mycobacterium leprae*, la bactérie responsable de la lèpre » <https://unc.nc/conference-la-lepre-dici-et-dailleurs/>
2. E. CAMBAU. Académie nationale de Médecine, avril 2023. « La lèpre aujourd'hui : de gros progrès mais des résistances » <https://www.youtube.com/watch?v=hGDdWHIXGZI>
3. E. CAMBAU. Présentation d'outils des CNR pour communiquer avec les homologues européens ; 10ème Séminaire des CNR, SPF Paris 19 octobre 2023
4. L. GUGLIELMETTI. Actualités dans le traitement de la TB et l'ITL. Global TB Clinical and Educational Summit, Paris.
5. J. ROBERT. Académie nationale de Médecine, avril 2023. "Ulcère de Buruli : avancées thérapeutiques et encore bien des mystères" <https://www.youtube.com/watch?v=HTYVK2erwJk>
6. N. VEZIRIS. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, 2023. Actualités de l'antibiothérapie antituberculeuse et traitement des tuberculoses multirésistantes
7. N. VEZIRIS. Drug resistant tuberculosis: a scientific update. the Swiss Academic Foundation for Education in Infectious Diseases (SAFE-ID) in collaboration with the Swiss Society for Infectious Diseases (SSI). Virtual meeting 2023
8. N. VEZIRIS. Actualités de l'antibiothérapie antituberculeuse et traitement des tuberculoses multirésistantes. Club des infectiologues de l'Arc Alpin 2023
9. N. VEZIRIS. Académie nationale de Médecine, 2023. Actualités de la chimiothérapie antituberculeuse des tuberculoses multirésistantes.

INTERNATIONALES

1. E. CAMBAU. Update on antimycobacterial susceptibility testing (EUCAST-AMST), European Conference on Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Avril 2023
2. E. CAMBAU. EUCAST subcommittee on Antimycobacterial susceptibility testing (AMST) general committee meeting, Avril 2023
3. E. CAMBAU. Tuberculosis in Central and Eastern Europe – implications for diagnostic and susceptibility tests, ESCMID post graduate course, Pecs Hungary, Mai 2023
4. E. CAMBAU. Mycobacterial infections: diagnostic and antibiotic susceptibility test, ESCMID post graduate course, Lausanne, juin 2023
5. E. CAMBAU. Molecular diagnostics in tuberculosis, ESCMID Summer school, Seville, Juillet 2023
6. E. CAMBAU. Appeal from the ERLTB-Net for improving the diagnosis of infections due to nontuberculous mycobacteria (NTM) and update on EUCAST protocol on NTM, ERLTB-net meeting, Madrid, octobre 2023
7. E. CAMBAU. Microbial resistance in Leprosy, 12th south asian regional conference of dermatology, venereology & leprology (SARCD), octobre 2023
8. E. CAMBAU. Point of care tests and tests for assessing anti-microbial resistance, WHO-Global Leprosy programme, Technical Advisory Group, octobre 2023
9. E. CAMBAU. Diagnosis and tests for assessing anti-microbial resistance in leprosy, WHO EUROPE meeting, a two-day Regional Consultation on 'New Paradigms in Leprosy: Towards Interruption of Transmission and Elimination of Leprosy Disease in Europe' in Yerevan, Armenia on 28-29 November 2023
10. E. CAMBAU. Mycobacteria and Antimicrobials: how do they fit?, University of Zurich, décembre 2023

11. L. GUGLIELMETTI. MDR-TB treatment: what is new? European Advanced Course on Clinical Tuberculosis 2023, Athens, Greece
12. L. GUGLIELMETTI. Management of DR-TB: overview of recent evidence and new WHO recommendations. ESCMID Postgraduate Education Course: genomic data for management of mycobacterial infections, Milan, Italy
13. L. GUGLIELMETTI. TB treatment: where we are and where we are going. Swedish National TB meeting, Umea, Sweden
14. L. GUGLIELMETTI. What's new in the treatment of tuberculosis? ESCMID Summer School 2023, Sevilla, Spain

6.2.4 Communications orales sans invitation

INTERNATIONALES

1. GUGLIELMETTI L. endTB clinical trial: safety results. World Conference of the Union against TB and Lung Diseases, Paris

6.2.5 Communications affichées

INTERNATIONALES

1. ECCMID 2023, Copenhagen, April 2023: An updated evolutionary history and taxonomy of Mycobacterium tuberculosis lineage 5, also called M. africanum West-African I. M.R Sahal*, G. Senelle, K. La, B. Molina Moya, J. Dominguez, T.W. Panda, E. Cambau, G. Refregier, C. Guyeux, C. Sola
2. ECCMID 2023, Copenhagen, April 2023: First values of delamanid and pretomanid MICs measured using the new EUCAST reference method. J. Werngren, F. Alcaide, K. Klaos, E. Svensso, E. Borroni, D.M. Cirillo, T.Schön, V.Gabro, E.Cambau
3. ECCMID 2023, Copenhagen, April 2023: Revisiting ethionamide in vivo activity through its metabolite exposure. Thomas Maitre, Glenn E. Dale Zainab Edo, Mohammad H. Al-Shaer, Anne-Grete Mårtson, Caryn Upton, Céline Mory, Najoua El-Helali, Aurélie Chauffour, Laure Fournier-Le Ray, Alexandre Godmer, Alexandra Aubry, Aurore Dreneau, Nicolas Willand, Alain Baulard, Marc Gitzinger, Sergio Lociuero, Michel Pieren, and Nicolas Veziris
4. ECCMID 2023, Copenhagen, April 2023: MICs distributions and variability over time for bedaquiline, clofazimine, delamanid, linezolid and pretomanid in multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. Noémie Lequerré, Isabelle Bonnet, Florence Morel, Jérôme Robert, Nicolas Veziris, Alexandra Aubry on behalf of the NRC-MyRMA
5. Annual international conference on Intelligent Systems for Molecular Biology (ISMB)/ European Conference on Computational Biology (ECCB), Lyon, 2023: an R package for supervised classification of mass spectra with machine learning methods. A. Godmer, Y. Benzerara, K. Druart, N. Veziris, M. Matondo, A. Aubry, Q. Giai Gianetto. MSClassifR
6. ERS International Congress Milan 2023. Understanding patients at risk of NTM-PD using a modified Delphi process. Loebinger, MR, Aliberti S, Haworth CS, Jankovic Makek M, Lange C Lorent N, Papavasileiou A, Polverino E, Rohde G, Veziris N, Wagner D, van Ingen J

6.2.6 Organisation : congrès international

1. GUGLIELMETTI L. 2023, co-organisateur de l'ESCMID Postgraduate Education Course: genomic data for management of mycobacterial infections, Milan, Italy

6.2.7 Chapitre d'ouvrage

1. Lange C, Brehm TT, Chesov D, Kherabi Y, Guglielmetti L. Treatment of drug-susceptible tuberculosis and drug-resistant tuberculosis. European Respiratory Society Monograph on Tuberculosis, Springer, 2023.
2. Heid-Picard, B, Z Awad, F Mougari, and E Cambau. "Mycobactérioses non tuberculeuses hors mycobactérioses cutanées." *EM-Consulte*, 2023. [https://doi.org/10.1016/S1166-8598\(23\)44823-5](https://doi.org/10.1016/S1166-8598(23)44823-5).

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

Nous avons une coopération avec EAU de Paris et l'AFNOR pour la préparation d'une norme de détection des mycobactéries non tuberculeuses dans l'eau. Du fait de l'épidémie COVID-19 les travaux avaient été arrêtés. Ils ont repris en 2022 pour une finalisation de la norme en 2024.

En 2023, nous avons reçu pour expertise deux souches du LNR (Dr Maria Laura Boschioli) pour des animaux infectés par des MNT (*M. abscessus*, et *M. fortuitum*).

8 Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Etudes épidémiologiques et cliniques sur la tuberculose

Le programme 2024 est similaire et dans la suite de celui de 2023 :

- Multi-résistance et ultra-résistance

Nous continuerons à identifier les caractéristiques cliniques ou bactériologiques associées (facteurs de risque) pour pouvoir les repérer au plus vite, décrire leur devenir et évaluer l'impact des nouveaux antituberculeux. En particulier, nous nous concentrerons sur l'évaluation de l'importance du niveau de résistance à l'isoniazide chez les souches MDR, pour estimer l'intérêt de l'utilisation de l'isoniazide à haute dose dans le traitement de la TB MDR (traitement long individualisé ou traitement standardisé de 9 mois).

Pour le registre des cas résistants à la rifampicine, l'objectif est de compléter les données pour les patients inclus, en optimisant la collaboration avec les cliniciens lors des RCP et en collaborant étroitement avec quelques centres importants qui acceptent d'inclure rétrospectivement des données, et en particulier les issues de traitement, des cas déjà inclus dans le registre. Pour améliorer le flux des informations entre le CNR et les équipes prenant en charge les cas MDR, nous nous appuierons sur un technicien d'études cliniques (10% ETP) financé par notre DMU.

- Tuberculose chez les immunodéprimés

L'objectif est de mener un travail systématique pour (a) évaluer l'importance du phénomène et (b) de dégager des facteurs de risque associés afin d'en dégager des axes de prévention.

- Évaluation des nouveaux tuberculeux

Le PHRC TEDITUB vise à évaluer l'activité bactéricide précoce d'un nouvel antituberculeux, le tédizolide qui pourrait constituer une alternative moins toxique au linézolide qui est devenu un élément indispensable du traitement moderne de la tuberculose MDR.

Le PHRC FAST-MDR (financement obtenu en 2023) vise à évaluer prospectivement l'implémentation en routine du nouveau traitement de 6 mois (BPaLM) pour la tuberculose MDR dans 13 sites en France. Cet essai clinique monobras évaluera l'efficacité et la tolérance de ce nouveau traitement en le comparant au traitement long (données rétrospectives 2006-2022). L'inclusion des patients dans cette étude commencera dans la deuxième moitié de 2024.

L'essai clinique de Phase III PORT (financement ANRS MIE obtenu pour les sites français en 2023) vise à évaluer la tolérance de la rifampicine à forte posologie dans le traitement standard de la tuberculose. L'étude, promu par Radboud University (Pays-Bas), commencera dans les 6 sites français dans la deuxième moitié de 2024.

Nous participons comme laboratoire de référence et serons responsable de la coordination (co-Investigateur Principal des sites français) d'un essai clinique randomisé contrôlé international de Phase IIb/c (UNITE4TB ; <https://www.unite4tb.org/>), financé dans le cadre d'un projet européen de recherche IMI.

8.2 Mécanismes de résistance acquise aux antibiotiques antimycobactériens

La résistance acquise aux antibiotiques antimycobactériens chez *M. tuberculosis* (principalement isoniazide, éthionamide, pyrazinamide, éthambutol, aminosides, quinolones, bédaciline) ainsi que chez les mycobactéries non tuberculeuses (macrolides, aminosides, rifampicine) et chez *M. leprae* (rifampicine, quinolones, dapsonne) font l'objet de nombreux travaux fondamentaux (génomique, protéomique, biochimie, cristallographie) et appliqués (mise au point de tests phénotypiques et génotypiques de détection de la résistance, détermination du niveau de résistance associée aux mutations, conception et évaluation de trousses commercialisées). Une attention particulière sera portée sur les nouveaux antituberculeux (bédaciline, clofazimine, delamanide, prêtomanide et linézolide).

L'utilisation en routine du WGS apporte une masse considérable d'informations qui sont particulièrement précieuses pour améliorer le diagnostic de la résistance aux antituberculeux et la prise en charge des patients. En effet, cela permet l'identification : (a) de nouvelles mutations associées au développement de la résistance, (b) du niveau de résistance lié aux mutations afin d'affiner de proposer rapidement des traitements personnalisés des patients, et (c) des facteurs génétiques bactériens impliqués dans la diffusion des souches résistantes (mutations compensatoires, mutations modifiant des fonctions liées à la virulence ...).

Afin de gérer au mieux cette masse d'informations ainsi que l'évolution des outils commerciaux à disposition pour l'analyse des génomes (ex. Bionumerics), nous augmentons notre expertise en bio-informatique en grâce à la participation aux travaux du CNR d'ingénieurs bio-informatiques formés ou en formation (étudiants en master et en thèse). Ceci va nous permettre de construire et utiliser des pipelines pour l'analyse des génomes et de développer une interface permettant de répondre à l'ensemble des questions (épidémiologiques, prédiction de la résistance, recherche).

Nous participons à une étude visant à déterminer s'il existe des mutations prédisposant à l'acquisition de résistance aux antituberculeux dans le cadre d'un projet ANR dont nous sommes partenaires (ResToITB).

Un CRC (Geno-MDR) visant à évaluer l'impact de nouvelles techniques génomiques sur la rationalisation des actes de biologie et la prise en charge des patients atteints de tuberculose à bacilles multirésistants (TB-MDR) a débuté en 2020 ; il se poursuivra jusqu'en 2023, l'analyse et la publication des résultats se fera en 2024.

Enfin, nous coordonnons un PHRC sur l'étude de la viabilité des bacilles tuberculeux lors du traitement de tuberculose pulmonaire ("PHRC TB VISA). Ce PHRC validé en 2020 a enfin pu commencer en 2023 et est en cours pour 2024.

8.3 Recherche et étude de nouveaux antibiotiques antimycobactériens

Nous menons, sur plusieurs années, des travaux visant à développer de nouveaux anti-mycobactériens, à la fois efficaces vis-à-vis de *M. tuberculosis* complex et vis-à-vis des mycobactéries non tuberculeuses dans le cadre de projets européens de recherche IMI (Respiri-TB et Respiri-NTM) et nationaux (projets DETONATOR et MUSTART financés par l'ANR). Dans l'équipe, nous avons notamment synthétisé des dérivés des fluoroquinolones actifs vis-à-vis de *M. tuberculosis* complex en collaboration avec l'équipe de G. Anquetin (Université Paris 5) et menons des travaux visant à déterminer leur mode d'action, puisque celui-ci n'implique plus la cible des fluoroquinolones (ADN gyrase) (ANR DETONATOR, 2021-2025).

Nous participons également à la surveillance de la sensibilité aux nouveaux antituberculeux, y compris le prétéomanide dans le cadre d'une surveillance internationale coordonné par la TB-Alliance.

8.4 Chimiothérapie expérimentale des infections à mycobactéries

La recherche thérapeutique sur les infections à mycobactéries constitue depuis plus de 25 ans un thème majeur de nos activités de recherche. Peu d'équipes maîtrisent les modèles de chimiothérapie expérimentale des infections à *M. tuberculosis* complex, et notre laboratoire est un des rares au monde à maîtriser aussi les modèles d'infections à mycobactéries non tuberculeuses, y compris de *M. leprae*.

Nos objectifs sont les suivants :

pour la tuberculose :

- étudier l'impact des bas niveaux de résistance identifiés in vitro sur l'efficacité du traitement in vivo
- étudier l'activité antituberculeuse in vivo de nouveaux inhibiteurs de la chaîne respiratoire (collaboration avec Janssen)
- étudier l'activité antituberculeuse des molécules développées dans le cadre du projet européen IMI RespiriTB.

pour les mycobactéries non tuberculeuses,

nous nous intéresserons plus particulièrement aux deux principales espèces responsables de mycobactérioses (*M. abscessus*, et *M. avium* complex) selon deux axes :

- développement de nouveaux modèles murins plus proches de la physiopathologie de la maladie pulmonaire humaine, y compris en utilisant des souches cliniques
- évaluation des nouveaux antimycobactériens développés dans le cadre du projet européen IMI respiriNTM.

Pour *M. leprae*,

nous poursuivrons l'évaluation de nouveaux régimes thérapeutiques simplifiés à partir de nouvelles molécules (bédaquiline, telacebec (Q203), etc).

8.5 Etude des mycobactéries non tuberculeuses (MNT) responsables de mycobactérioses

Pour les MNT, nous développons des méthodes de diagnostic et d'identification, étudions les caractéristiques génomiques et phénotypiques des sous-espèces et variants, recherchons les mécanismes de résistance naturelle et acquise, et observons la variabilité de leur génome. Nous explorons aussi leur réservoir et leur mode de transmission de l'environnement à l'homme par l'étude des interactions entre MNT et réservoirs hydriques, en particulier les amibes des eaux naturelles, en collaboration avec d'autres structures de recherche françaises (Eau de Paris, Université de Poitiers, Leesu Paris 12).

Nous continuons notre travail sur les améliorations des performances de la spectrométrie de masse dans l'identification, mais aussi la détection de la résistance aux antibiotiques des MNT, en utilisant des approches d'Intelligence Artificielle pour l'analyse des spectres.

Nous initions l'étude du résistome de *M. abscessus* en comparant les séquences génomiques et les CMI obtenues in vitro sur les souches de la collection du CNR. La création de pipeline et d'outils faciles à utiliser est un des objectifs de 2023 et 2024. Les travaux en cours seront publiés en 2024.

8.6 Lèpre

Nous étudions les caractéristiques génotypiques de la résistance acquise aux antilépreux et la phylogénie des souches isolées des cas de lèpre dans les DOM-TOM ou en France métropolitaine chez des sujets ayant vécu dans les pays d'endémie. Nous développons une stratégie de diagnostic biologique afin d'améliorer le dépistage des cas et leur suivi thérapeutique. Nous participons à plusieurs études internationales de dépistage actif associé à une chimioprophylaxie (Madagascar, Comores, Tanzanie et Indonésie) afin de surveiller la résistance en cas de distribution massive de rifampicine et/ou de clarithromycine. En 2023, nous avons participé à une mission sur la transmission de la lèpre en Nouvelle Calédonie, dont les résultats seront analysés en 2024.

Nous participons à un projet européen EDCTP PEOPLE qui a étudié la transmission de la lèpre à Madagascar et aux Comores. Cette étude a été finie en 2023 et sera publiée en 2024.

Nous sommes aussi en collaboration avec l'université de Leiden pour le diagnostic de l'infection lépreuse avec des tests in vitro détectant la production d'anticorps antiPGL-1. Ce test sera disponible au CNR-MyMRA en 2024 pour aider au suivi des réactions lépreuses et dans le cadre d'investigation autour des cas.

ANNEXE 1 : MISSIONS & ORGANISATION DU CNR

- 1A - MISSIONS DU CNR ET DE SES EVENTUELS LABORATOIRES ASSOCIES

Ses **missions spécifiques** sont définies par Santé publique France (voir [site de Santé publique France](#)) lors de l'appel d'offre 2023-2027 et sont groupées en 4 thématiques.

1. Expertise :

- en développant et en évaluant les nouvelles techniques de diagnostic de la maladie et de l'infection tuberculeuse ainsi que le diagnostic des infections à mycobactéries atypiques et à mycobactéries dites rares ;
- en développant l'analyse génomique des souches ;
- en développant une collection de souches ;
- en identifiant les souches de mycobactéries du complexe *tuberculosis* et les autres espèces de mycobactéries adressées par les laboratoires ;
- en étudiant 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 ;
- en contribuant à l'étude des mécanismes de résistance aux antituberculeux ;
- en participant au contrôle de qualité des tests de sensibilité aux antituberculeux pratiqués par les laboratoires de biologie médicale
- en assurant un appui méthodologique au diagnostic aux biologistes confrontés à des souches résistantes et un appui thérapeutique aux cliniciens/centre de lutte antituberculeuse pour l'établissement de protocoles de traitement/prophylaxie intégrant les infections tuberculeuses et adaptés aux souches en cause dans la maladie.

2. Conseil :

- en contribuant à l'expertise pluridisciplinaire pour la prise en charge des infections à mycobactéries non tuberculeuses le nécessitant

3. Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique :

- en contribuant à la surveillance de la méningite tuberculeuse, des mycobactérioses et de la lèpre ;
- en contribuant 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;
- en contribuant 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 ;
- en contribuant à la surveillance des issues de traitement des cas de tuberculose à bacille multi-résistant et à l'amélioration sur la description du suivi des patients ;
- en contribuant à l'évolution des outils et dispositifs de surveillance de la tuberculose (infection et maladie);
- en participant avec l'agence nationale de santé publique aux systèmes de surveillance européens et internationaux.

4. Contribution à l'alerte :

- en signalant à l'agence nationale de santé publique 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.

- 1B - ORGANISATION DU CNR ET DE SES EVENTUELS LABORATOIRES ASSOCIES



a - Equipe de APHP.Sorbonne Université – Laboratoire coordonnateur

Directeur du CNR – Jérôme ROBERT (APHP et Sorbonne Université)

Biologistes

- Alexandra AUBRY, PUPH (APHP et Sorbonne Université)
- Nicolas VEZIRIS, PUPH (APHP et Sorbonne Université)
- Isabelle BONNET, PHC (Santé publique France et APHP)
- Esther GYDE (APHP)
- Laurence DRIEUX, PH (APHP)
- Tania PETERSEN, AHU (APHP et Sorbonne Université)
- Corentin POIGNON, AHU (APHP et Sorbonne Université)
- Lorenzo GUGLIELMETTI, Praticien attaché (Santé publique France)

Cadre de Laboratoire

- Nathalie BACON (APHP)

Ingénieure de recherche

- Aurélie CHAUFFOUR (fond associatif)

Ingénieure Bio-informaticienne

- Azadeh SAFFARIAN (Santé publique France)

Techniciens de Laboratoire

- Jade CAO VAN TUAT (APHP)
- Fadia CHERGUI (APHP)
- Clément DENYS (APHP)
- Emanuel MAURER (APHP)
- Gérald MILLOT (APHP)
- Sophie ROUSSEL (APHP)
- Sabrina GOUMGHAR (Santé publique France)

Secrétaire de Laboratoire

- Sophia HENANE (APHP)

Equipe de Recherche : Inserm, Sorbonne Université – EDIRA, émergence et propagation des multirésistances aux antibiotiques

Directrice : Alexandra AUBRY, PUPH

Site internet : <https://cimiparis.fr/equipes/aubry-alexandra/>

b - Equipe de Bichat – Laboratoire associé

Directeur du laboratoire associé – Emmanuelle CAMBAU (APHP et Université Paris Cité)

Biologistes

- Faiza MOUGARI, PH (APHP)
- Zeina AWAD, Praticien attachée (APHP)
- Christophe SOLA, PU Université de Paris Saclay

Techniciens de Laboratoire

- Odile VISSOUARN (APHP)
- Célia SICARD (APHP)

Ingénieurs de recherche contractuels

- Kevin LA (1,0 ETP, Santé publique France)
- Salim AGSOUS (0,17, Santé publique France, alternance master 2)
- Théo FOUCHET (0,02, Santé publique France)
- Raphaëlle PAOUNOV (0,08, Santé publique France)
- Edwige BEUGRE (0,21, Santé publique France)

Secrétariat : Isabelle DUPRIEZ

- 1C - LOCAUX ET EQUIPEMENTS

a- Locaux

Laboratoire coordonnateur (APHP. Sorbonne Université)

La partie technique du CNR-MyRMA est sur le site de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière, dans le Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, qui a une superficie totale de 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 infectieuses majeures.
- dans les pièces adjacentes (100 m²) consacrées aux manipulations des bactéries inactivées (coloration, microscopie fluorescente) et aux techniques de biologie moléculaire (amplification génique, sondes moléculaires, ...)
- dans le secteur tertiaire pour la gestion informatique des réseaux partenaires

Les animaleries utilisées pour les expériences de chimiothérapie expérimentale, ainsi que les activités de recherche, sont situées dans les locaux universitaires de l'équipe de recherche EDIRA participant aux activités de recherche du CNR-MyRMA, aux 5^e et 7^{ème} étage de la Faculté de Médecine Sorbonne Université, site Pitié, située sur le même campus.

Laboratoire associé (Site Bichat)

Le service de mycobactériologie spécialisée et de référence, est situé à l'Hôpital Bichat, situé dans la tour principale, et a une superficie totale de 380 m².

Les activités du CNR se déroulent :

- dans le laboratoire de sécurité biologique de niveau L3, (superficie de 51m² ,78 m² avec locaux annexes)
- dans des pièces NSB2 (surface totale 79,4m²) consacrées aux manipulations sur mycobactéries tuberculeuses et lépreuses inactivés dont la microscopie, les techniques de biologie moléculaire (amplification génique, sondes moléculaires, électrophorèse, séquençage) et les tests IGRA.
- 2 bureaux médicaux (30 m²)
- des pièces partagées avec le CNR du paludisme : chambre froide, réserve, balances, pre- et post-PCR, toilettes, bureau du cadre

b- Principaux équipements

Laboratoire coordonnateur (Site Pitié-Salpêtrière)

Laboratoire de sécurité L3 et ses annexes :

- Equipements pour le traitement des prélèvements médicaux, cultures en milieux solides et liquides,
- Equipements pour antibiogrammes en milieu solide et liquide,
- Equipements pour l'identification phénotypique classique,

- Equipement pour l'extraction d'acides nucléiques (cf. ci-dessous),
- 5 postes de sécurité microbiologique (PSM de type 1),
- 12 incubateurs,
- 3 congélateurs (-20°C / -40°C / -80°C),
- 5 réfrigérateurs
- 1 chambre froide
- 1 combiné (+5/-20°C)
- 3 automates de culture en milieu liquide (Automates BD BACTEC™ MGIT™960),
- 3 modules de suivi et d'analyse de la sensibilité des isolats aux antituberculeux de 1^{ère} et 2^{nde} ligne (TB eXiST BD),
- 1 autoclave double entrée Matachana,
- 1 autoclave vertical Lequeux,
- 2 microscopes à fluorescence, lampe LED, 1 microscope classique,
- 1 spectrophotomètre (Ultrospec10, Dutscher),
- 1 hotte chimique pour la coloration,
- 1 colorateur de lames RAL Stainer,
- 1 coagulateur pour la préparation des milieux de Loewenstein-Jensen,
- 2 centrifugeuses,
- 3 bains à sec chauffants.

Biologie moléculaire :

- 3 thermocycleurs (Veriti, GeneAmp PCR system 9700 ; GeneAmp PCR system 2700, Primus 25),
- 2 thermocycleurs « temps réel » (ABI PRISM 7000),
- 1 centrifugeuse,
- 2 blocs d'hybridation TwinCubator pour les bandelettes Hain,
- 1 imageur Biorad Chemidoc-XRS pour l'analyse des gels d'électrophorèse sous UV,
- 1 système de filtration sur plaques pour la purification des PCR,
- 1 bain-marie sec,,
- 1 automate ELITe InGenius
- 1 automate d'extraction Genelead, Diagenode - 1 automate genXpert, Cepheid
- 1 logiciel d'analyse des données de séquençage WGS (BioNumerics-7).
- 1 logiciel d'analyse d'électrophorégrammes Sanger (SeqScape 2004).

Autres équipements :

- 2 Spectromètres de masse de type MALDI-TOF (Microflex et Sirius, Bruker),

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,
- Plateforme de génotypage de SNP à haut débit « ILLUMINA » (puces BeadChips),
- Scanner pour lecture des lames microarrays hybridées avec sondes Cy3/Cy5,
- Spectromètres microplaques 384,
- Spectromètre de masse NanoLC-ESI-MS/MS,
- Robot de fractionnement Freedom EVO150 (Tecan).
- Séquenceur haut débit pour le séquençage de lectures longues, PromethION-24

Animalerie A2 (capacité totale : 1000 souris) :

- Isolateurs rigides et souples,
- Armoires ventilées, - 2 postes de sécurité microbiologique pour les dissections et cultures, - Étuves,
- 1 broyeur d'organe GentleMacs (Miltenyi)
- Autoclave pour destruction des déchets.

- **Accès à l'animalerie A3** (capacité totale d'environ 2000 souris) de la faculté de santé Sorbonne Université.

Laboratoire associé (Site Bichat)

Laboratoire de sécurité L3

- Equipement pour le traitement des échantillons médicaux,
- 4 postes de sécurité microbiologique,
- 4 incubateurs (30 et 37°C) pour milieux solides et liquides
- 3 automates de culture en milieu liquide (MGIT960TB®, Becton-Dickinson) - Equipement complet de mycobactériologie médicale classique (réactifs de décontamination, centrifugeuses,),

- Matériel et équipement pour identification rapide phénotypique,
- Equipement et automate pour antibiogramme en milieu liquide MGIT,
- 1 module de suivi et d'analyse de la sensibilité des isolats aux antituberculeux de 1^{ère} et 2^{nde} ligne (TB eXiST BD),
- 1 inoculateur de plaques de CMI Sensititre et un système de lecture
- 1 autoclave double entrée,
- 3 colorateurs pour auramine et Ziehl, 3 microscopes à fluorescence, 2 microscopes optique classiques (situés dans une pièce attenante au P3), et 1 microscope mixte (Fluorescence et lumière classique) dans le P3.
- 1 lecteur de densité microscopique par marquage total et de viabilité (QUANTOM).

Biologie Moléculaire

- 1 extracteur automatique d'acide nucléique (Arrow NORDIAG),
- 1 spectrophotomètre pour la quantification des acides nucléiques (Heliosy Thermos),
- 1 spectrophotomètre UV-Visible NanoDrop 1000,
- 3 amplificateurs d'ADN classiques pour PCR,
- 1 amplificateur automatisé pour PCR « en temps réel » (Cepheid 4 modules),
- 1 amplificateurs pour PCR « en temps réel » (QS3, ThermoFisher),
- 1 système d'hybridation manuelle TwinCubator,
- Matériel d'électrophorèse en gel d'agarose
- 1 imageur (GelDoc XR Biorad) pour l'analyse des gels d'électrophorèse sous UV,
- 1 automate pour électrophorèse capillaire d'ADN (Agilent),
- **Accès à un séquenceur** MiniSeq (Illumina) en partage avec l'équipe de recherche IAME (bâtiment de la faculté de médecine sur le même campus), et à deux séquenceurs MiSeq et NextSeq (Illumina) sur la plateforme de génétique de l'hôpital Bichat,
- Accès à un séquenceur capillaire Applied Biosystem pour le séquençage Sanger sur la plateforme de génétique de l'hôpital Bichat, même bâtiment).

Autres équipements

- 1 Spectromètre de masse de type MALDI-TOF (Microflex Sirius, Bruker, 2021), en partage avec le service de myco-parasitologie de l'hôpital Bichat,
- 2 Automates d'immuno-analyse pour les tests IGRA (Quantiféron® Gold in Tube, Qiagen) : Dynex DS2 (Qiagen), et Liason XL (Diasorin). Un automate VIDAS 3 mis à disposition, en attente du nouveau test IGRA-TB VIDAS.

- 1D - COLLECTIONS DE MATERIEL BIOLOGIQUE

a- Description des souches

Nous mettons à disposition des laboratoires, des souches de *M. tuberculosis* sensibles et résistantes aux antituberculeux de première ligne, ainsi que des souches de mycobactéries non tuberculeuses et de *M. leprae*.

Pour *M. tuberculosis*, et pour répondre aux besoins dans ce domaine et dans l'objectif d'aider à rationaliser les tests de sensibilité aux antibiotiques, mais aussi avec le souci d'éviter les échanges de souches de TB-MDR qui sont hautement dangereuses, nous avons préparé des souches monorésistantes par sélection de mutants *in vitro* (à l'isoniazide, haut et bas niveau de résistance, à la rifampicine, à la streptomycine et à l'éthambutol).

De manière identique, des souches de mycobactéries non tuberculeuses sont disponibles.

Nous avons choisi de mettre d'abord des souches de *M. abscessus* et ses sous-espèces ainsi que des mutants *in vitro* bien caractérisés, car c'est l'espèce la plus difficile à identifier et de plus en plus fréquente dans les infections à MNT.

Chaque souche de cette collection a été caractérisée phénotypiquement et génotypiquement - lignée, profil de sensibilité génotypique et phénotypique (méthode des proportions, PCR-séquences, WGS) (Tableau 7).

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

Tableau 7. Description des souches 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	inhA -15c->t	100% résistance isoniazide 0,2 mg/l, sensible 1mg/l
Isoniazide haut niveau	KatG S315T	100% résistance isoniazide 1 mg/l, sensible 10 mg/l
Rifampicine	RpoB S531L	100% résistance rifampicine 40 mg/l
Streptomycine	Rpsl L43A	100% résistance streptomycine 4 mg/l
Souche de mycobactéries non tuberculeuses	Génotype	Phénotype de résistance en microdillution
Mutant in vitro de <i>M. abscessus</i> Mb28.2	erm41 bolletii_rrl a2058c	CMI de la clarithromycine (mg/L) J14 >512 mg/L
Mm51	erm41massiliense_rrl a2058t	CMI de la clarithromycine (mg/L) J14 >256 mg/L
T41.6	Eem41abscesus T28_rrl a2059g	CMI de la clarithromycine (mg/mL) J14 >512 mg/L

b- Conditions de stockage

Chacun des deux laboratoires du CNR assure le stockage des souches reçues dans le cadre de ses activités de CNR, dans le cadre des activités des Centre de Ressources Biologiques auquel chaque site est affilié. Le stockage de l'ensemble des souches reçues est organisé sous forme de souchier dont le fichier de traçabilité est stocké sur un dossier partagé NAS situé sur le réseau de chacun des sites et bénéficiant de ce fait d'une sauvegarde et de mesures de confidentialité. Les souches sont conservées dans un milieu liquide 7H9 glycérolé dans un congélateur à -80°C.

Les lépromes reçus pour recherche de *M. leprae* sont conservés à -80°C après préparation dans du tampon de Hanks.

Les sérums pour test IGRA-TB sont conservés à -20°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 a été réalisée.

c- Conditions de mise à disposition des collections

Les souches stockées sont à la disposition de tous les laboratoires et envoyées sur demande argumentée dans le cadre des bonnes pratiques des Centre de Ressources Biologiques auquel chaque site est affilié.

L'accès aux souches de *M. tuberculosis* résistantes aux antituberculeux sera réservé aux laboratoires de mycobactériologie du territoire français possédant un local de sécurité biologique de niveau 3 (P3) et réalisant des tests de sensibilité. L'accès aux souches résistantes aux antituberculeux de 2ème ligne sera réservé aux laboratoires réalisant des tests de sensibilité de 2ème ligne.

L'accès aux souches de MNT est fait sur demande selon un projet et sous réserve de l'autorisation du laboratoire expéditeur. Des souches de *M. tuberculosis* ont déjà été mises à la disposition des laboratoires de microbiologie du groupe Azay-mycobactéries pour ceux qui voulaient organiser des contrôles de qualité internes.

Chacun des deux laboratoires du CNR assure le stockage des souches reçues dans le cadre de ses activités de CNR.

Le laboratoire associé a intégré le CRB de Lariboisière en 2019 (Directeur Pr Philippe Manivet, Biobank Lariboisière/Saint Louis - Centre de Ressources Biologiques ; biobank-lariboisiere.fr) et le laboratoire coordonnateur a intégré le CRB de la Pitié-Salpêtrière en 2023 (<https://pitie-salpetriere.aphp.fr/centre-de-ressources-biologiques/>).

- 1E - DEMARCHE QUALITE DU LABORATOIRE

Le CNR-MyRMA participe chaque année 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 pour *M. tuberculosis* complex et pour les mycobactéries non tuberculeuses (MNT). Ce CQE est organisé par la société Instand (Düsseldorf, Allemagne) dans le cadre du réseau européen des CNR de tuberculose et mycobactéries ERLN-TB (ECDC). Il a été suivi par les 2 laboratoires du CNR comme depuis plus de 10 ans ;
- (b) suspension d'ADN de *M. tuberculosis* et fichier fastq (à la fois séquençage génomique de souches cliniques depuis 2017 et fichiers fastq synthétiques depuis 2020) pour le séquençage complet du génome, analyse des lignées, du clustering et du resistotype. CQE organisé par le RIVM (Bilthoven, Pays- Bas) dans le cadre du « Global Network for the Molecular Surveillance of Tuberculosis ».
- (c) prélèvements de sérums pour le diagnostic d'infection tuberculeuse par tests IGRA (6*/an) : UK NEQAS Interferon Gamma Release Assays (IGRA).

Les deux laboratoires du CNR-MyRMA sont également accrédités COFRAC (cf.chapitre 1)

ANNEXE 2 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR

Rappelez ici les informations suivantes (pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature) en les mettant si nécessaire à jour :

- 2A - LISTE DES TECHNIQUES DE REFERENCE

a- TECHNIQUES PHENOTYPIQUES

Diagnostic

- Microscopie (Auramine, Ziehl),
- Cultures en milieux solides et liquides,
- Test IGRA par Quantiféron Gold Plus 4 tubes (Qiagen) fait sur Liaison XL (Diasorin) et sur Dynex DS2 (qiagen), test VIDATB IGRA testé en 2022 et actuellement en attente de réactifs (arrêt de commercialisation par biomérieux en 2023).

Identification

- Techniques phénotypiques classiques (caractères culturels, morphologiques et biochimiques),
- Immunochromatographie (AgMPT64®, Eurobio),
- Spectrométrie de masse MALDI-TOF (Bruker MBT biotyper Sirius), comprenant les modules MBT Explorer (acquisition de nouveaux spectres), MBT Mycobacteria Suite IVD base de 178 espèces de mycobactéries et 952 spectres), MBT Subtyping Module (distinction des espèces principales au sein du complexe *M. avium*).

Evaluation de la sensibilité aux anti-infectieux

Techniques pour les activités d'expertise

- Antibiogrammes par la méthode des proportions pour *M. tuberculosis* complex, utilisant des milieux LJ commercialisés pour les antibiotiques de 1ère ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol et streptomycine) et des milieux LJ, 7H11 et MGIT préparés et contrôlés par le CNR-MyRMA pour tester la sensibilité aux antibiotiques de 2nde ligne (kanamycine, amikacine, capréomycine, fluoroquinolones, thioamides, cyclosérine, PAS, linézolide, bédaciline, clofazimine, délamanide, et prêtomanide).
- Antibiogrammes en milieu liquide (MGIT) pour *M. tuberculosis* complex pour les antibiotiques de 1ère ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol, streptomycine et pyrazinamide) et de seconde ligne (ofloxacine, moxifloxacine, éthionamide, linézolide, amikacine, capréomycine, bédaciline, délamanide)
- Détermination des CMI en milieu liquide MGIT avec utilisation du logiciel TB eXiST des antituberculeux de 1ère et 2nde ligne vis-à-vis de *M. tuberculosis*
- Détermination en milieu solide des CMI des antituberculeux de 1ère et 2nde ligne vis-à-vis de *M. tuberculosis*, et des antibiotiques vis-à-vis des mycobactéries non tuberculeuses
- Détermination des CMI en milieu liquide sur microplaque pour les mycobactéries non tuberculeuses à croissance lente et rapide (amikacine, céfoxitine, ciprofloxacine, clarithromycine, doxycycline, éthambutol, éthionamide, imipénème, isoniazide, linézolide, minocycline, moxifloxacine, rifabutine, rifampicine, streptomycine, tigécycline, tobramycine, triméthoprime-sulfaméthoxazole)
- Détermination des CMI des antituberculeux par la méthode de référence EUCAST-AMST
- Pour *M. leprae* : détermination in vivo de la sensibilité aux antibiotiques par 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 selon la méthode de référence EUCAST en milieu liquide en microdilution et la méthode de référence CLSI en milieu solide, étude de la bactériostase, bactéricidie, inhibition des fonctions enzymatiques de l'ADN gyrase (IC₅₀) pour les fluoroquinolones, étude des combinaisons d'antibiotiques (synergie, addition, antagonisme ...),
- Méthodes *in vivo* : modèles de chimiothérapie expérimentale chez la souris pour *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. ulcerans*, *M. avium*, *M. abscessus*.

b- TECHNIQUES GENOTYPIQUES

Les techniques génotypiques utilisées sont listées dans les tableaux ci-dessous pour l'identification, les tests de sensibilité aux antimycobactériens (mutations impliquées dans la résistance acquise) et le génotypage (phylogénie, empreintes digitales génomiques et whole genome sequencing).

Tableau 8. Techniques génotypiques utilisées pour l'identification des mycobactéries

Mycobactéries	Techniques commercialisées	PCR et Séquençage
<i>M. tuberculosis</i> complex	Cepheid Xpert MTB/RIF MDR/MTB ELITE MGB kit (sur ELITE InGenius) Génotype MTB-DRplus Génotype MTB-DRsl	
Espèces au sein du complexe <i>tuberculosis</i>	Génotype MTBC MIRU-VNTR 24 loci	
Mycobactéries non tuberculeuses "courantes"	Génotype C Genotype NTM-DR	
Mycobactéries non tuberculeuses "rares"	Génotype AS	
Toutes	Deeplex Myc-TB (identifie une centaine d'espèces, par hsp65)	<i>rpoB</i> , <i>hsp65</i> ARNr 16S <i>atpE</i>
		ITS
<i>M. abscessus</i> complex		<i>erm(41)</i>
<i>M. ulcerans</i>		IS2404
<i>M. leprae</i>	Genotype <i>Leprae</i> -DR	RLEP

Tableau 9. Détection de mutations déterminant la résistance acquise aux antimycobactériens

Mycobactéries	Techniques commercialisées	Séquençage (génom complet et/ou Sanger)	Antibiotiques
<i>M. tuberculosis</i> complex	Xpert MTB/RIF MTB-DRplus* MTB-DRsl*		rifampicine rifampicine, isoniazide, éthionamide amikacine, kanamycine, capréomycine, éthambutol, fluoroquinolones
			Rifampicine, isoniazide, éthambutol, pyrazinamide, streptomycine, fluoroquinolones, linézolide, bédaquiline, clofazimine, éthionamide, kanamycine, capréomycine, amikacine
	Deeplex Myc-TB®	<i>rpoB katG</i> <i>inhA fabG</i> <i>pncA, panD, clpC1</i> <i>ethA, ethR et intergen.</i> <i>ethR-ethA, mshA</i>	rifampicine isoniazide isoniazide, éthionamide pyrazinamide éthionamide
		<i>rrs, eis, tlyA</i> <i>rpsL, gid</i> <i>embA, embB, embC-A</i> <i>rrl, rplC</i> <i>atpE</i> <i>Rv0678, pepQ, Rv1979c</i> <i>alr, ddlA, cycA fgd1, fbiA,</i> <i>fbiB, fbiC, fbiD, ddn</i>	amikacine, kanamycine, capréomycine, streptomycine streptomycine éthambutol linezolid bédaquiline bédaquiline, clofazimine cyclosérine délamanide, prétomanide
<i>M. abscessus</i>		<i>erm(41), rrl, rrs</i>	
<i>Myc. non tuberculeuses</i>	NTM-DR*	<i>rrl, rrs</i>	macrolides, aminosides macrolides
<i>M. leprae</i>	Leprae-DR* Deeplex Myc LEP	<i>rpoB, folP1, gyrA, gyrB</i>	rifampicine, fluoroquinolones, dapsone

* Gamme Genotype, Hain Lifescience

Liste des techniques disponibles pour le typage, y compris séquençage génomique Génotypage (phylogénie et empreintes digitales génomiques)

Tableau 10. Techniques disponibles pour le génotypage des mycobactéries

Mycobactéries	Techniques	Techniques
<i>M. tuberculosis</i> complex	MIRU-VNTR 24 loci MIRU 4 loci hypervariables si souche Beijing Spoligotypage Deeplex Myc-TB® WGS	
Mycobactéries non tuberculeuses	WGS	
<i>M. leprae</i>	Deeplex Myc-LEP	SNP 14676, 1642875, 2935685 et 17 VNTR

Séquençage génome entier (WGS)

Pour le séquençage génome entier, la technique ILLUMINA paired-end, distance en nombre de SNPs, est utilisée pour toutes les espèces de mycobactéries.

- 2B - LISTE DES TECHNIQUES RECOMMANDEES PAR LE CNR

Le CNR-MyRMA a mis à disposition des collègues sur son site internet des logigrammes qui résument la démarche diagnostique microbiologique pour la prise en charge des prélèvements pour suspicion d'infection à mycobactéries. Ces logigrammes seront mis à jour régulièrement.

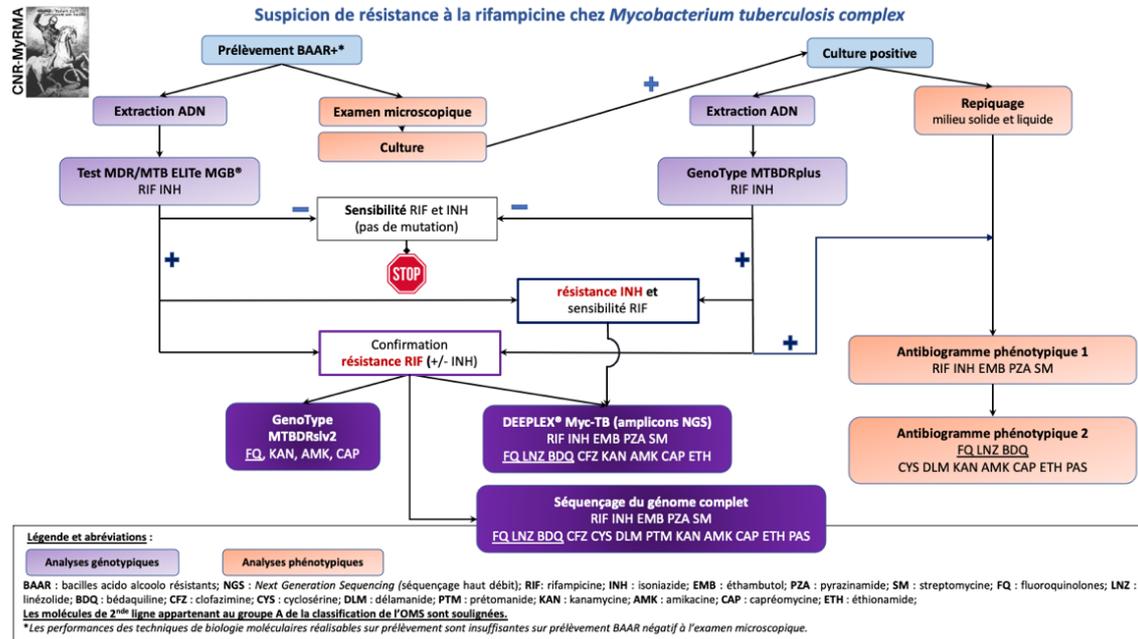


Figure 9. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance à la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis*

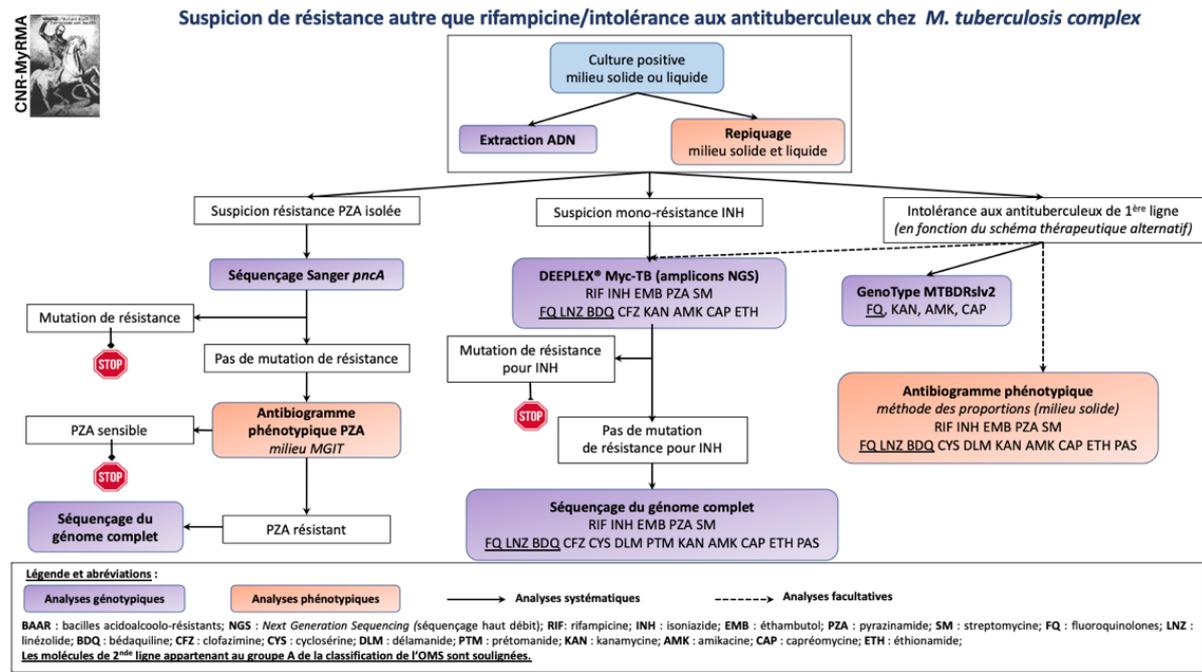


Figure 10. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance autre que la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis*

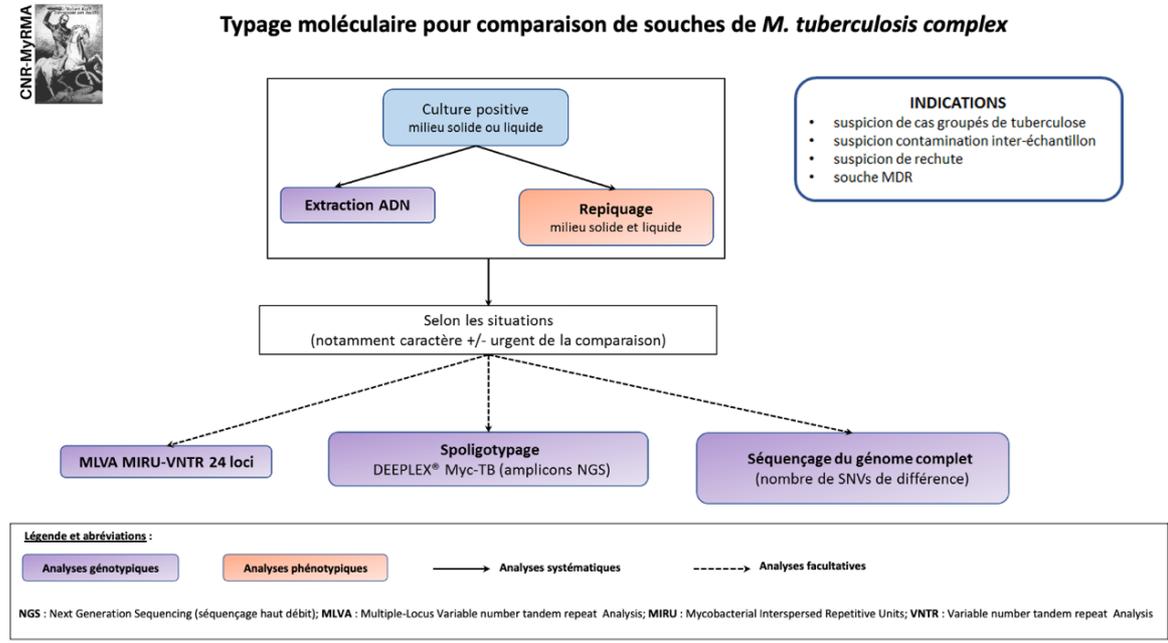


Figure 11. Logigramme pour le typage moléculaire pour comparaison de souches de *M. tuberculosis*

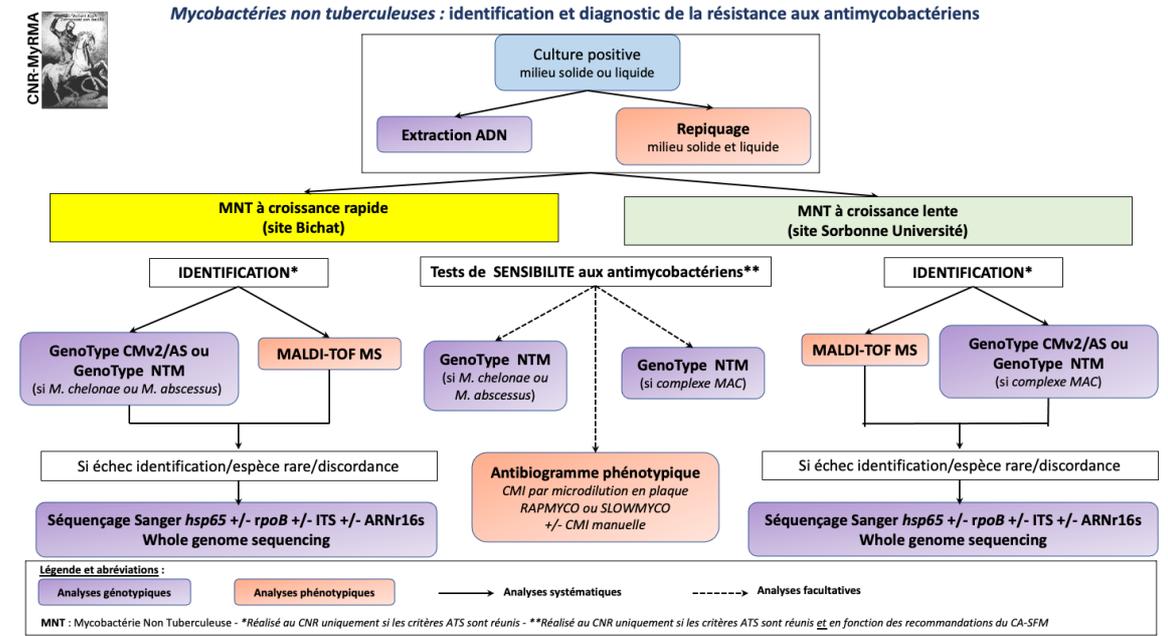


Figure 12. Logigramme pour identification et diagnostic de la résistance aux antimycobactériens chez les mycobactéries non tuberculeuses

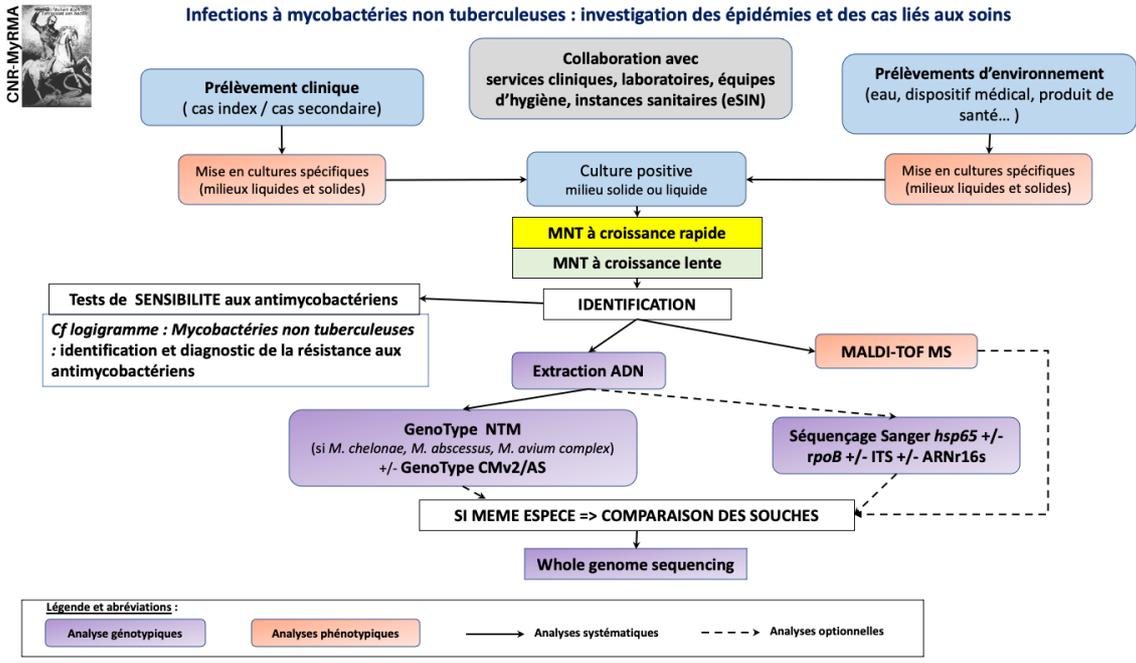


Figure 13. Logigramme pour l'investigation des épidémies et des cas liés aux soins lors d'infections à mycobactéries non tuberculeuses

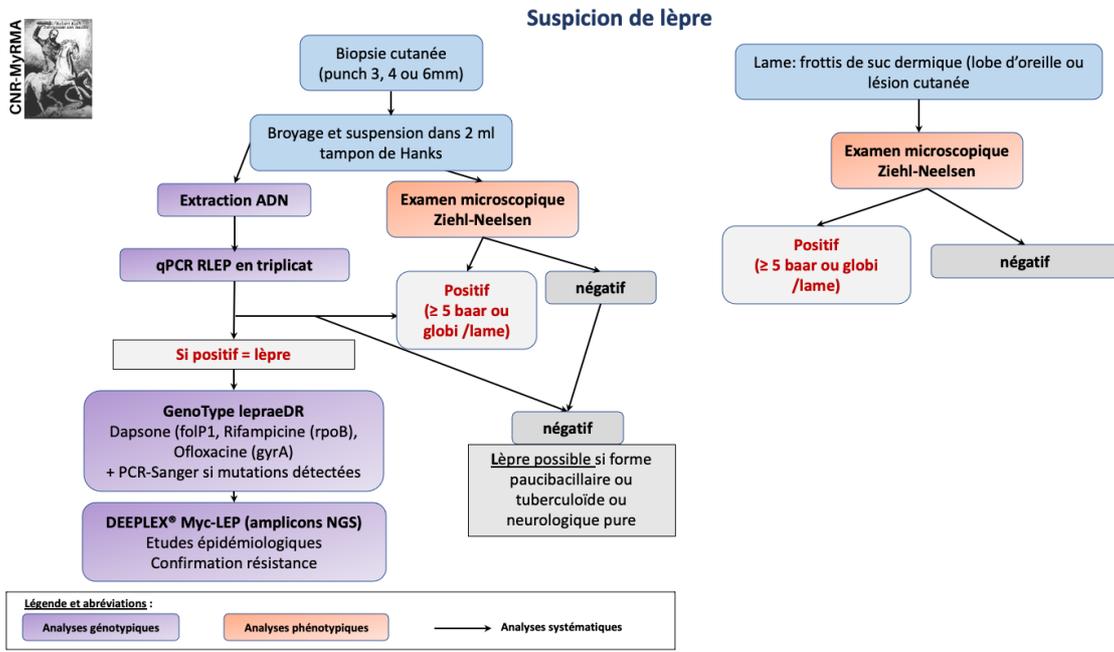


Figure 14. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de lèpre

- 2C – DETAILS DU FONCTIONNEMENT DES RCP

<u>RCP</u>	<u>Fréquence réunions</u>	<u>N dossiers / réunion</u>	<u>Raison de la demande d'avis</u>	<u>Experts réguliers hors CNR</u>	<u>Spécificités 2022-23</u>
<u>Tuberculose</u>	<u>2/mois</u>	<u>5 à 10</u>	<ul style="list-style-type: none"> • TB MDR (cas ou contacts) • Autres résistances • Toxicité antituberculeux • Aggravations paradoxales 	<ul style="list-style-type: none"> •Sanatorium (M. Jachym) •Pédiatres (G. Thouvenin) •Immunologiste (A. Bourgarit) •Infectiologue (C. Pouderoux) 	<ul style="list-style-type: none"> •Stratégie anti-MDR basée sur les nouveaux antituberculeux •Ajustement posologique clofazimine
<u>Mycobactéries Non Tuberculeuses</u>	<u>1/mois</u>	<u>10 à 15</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Infections respiratoires et extra-respiratoires à MNT 	<ul style="list-style-type: none"> •Pneumologues (C. Andrejak, FX. Blanc) •Infectiologues (L. Bernard) •Dermatologue (M. Jachiet) 	<ul style="list-style-type: none"> •Augmentation des demandes d'infection extra-pulmonaire type IAS •Diminution mucoviscidose
<u>Lèpre</u>	<u>1/mois</u>	<u>4 à 5</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnostic, réactions lépreuses, suspicion de rechute 	<ul style="list-style-type: none"> •Dermatologues (M. Jachiet, A. Mahé) •Chirurgien léprologue (MY Grawvin) + neurologue (T Maisonobe) •Infectiologues (G. Monsel) 	<ul style="list-style-type: none"> •Augmentation des demandes •Ouvert aussi aux DROM (Guyane, Martinique, Nlle Calédonie, Réunion)