



RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2024

CNR Mycobactéries et résistance aux antituberculeux

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	Fédération de Bactériologie-Hygiène – DMU BioGem – AP-HP.Sorbonne Université	Pr Jérôme ROBERT
Laboratoire Associé	Service de Mycobactériologie spécialisée et de référence – Hôpital Bichat - AP-HP. 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 Sérologie de la lèpre par immunoflow assay PGL-1	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	13
2.6 Activités de séquençage	14
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	16
3 Activités de surveillance	17
3.1 Description du réseau de partenaires	17
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	18
3.2.1 Surveillance des infections à Mycobacterium bovis	18
3.2.2 Surveillance de la méningite tuberculeuse à culture positive	18
3.2.3 Infections à mycobactéries non tuberculeuses	19
3.2.4 Surveillance de la lèpre en France et dans les départements et territoires ultra-marins (DROM)	19
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	20
3.3.1 Surveillance des cas de tuberculose à bacilles multirésistants (TB-MDR)	20
3.3.2 Surveillance de la résistance de M. tuberculosis aux antituberculeux (réseau Azay-Mycobactéries)	22
3.3.3 Registre national des cas de tuberculose MDR en France	24
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	25
3.4.1 Mycobacterium tuberculosis	25
3.4.2 Mycobactéries non tuberculeuses	25
3.4.3 Mycobacterium leprae	25
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	26
4 Alertes	27
4.1 Tuberculose	27
4.2 Mycobactéries non tuberculeuses	27
5 Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	30
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	30
5.1.1 Site internet du CNR-MyRMA	30
5.1.2 RCP tuberculoses complexes	30
5.1.3 RCP des infections à mycobactéries non tuberculeuses	31
5.1.4 RCP lèpre	32
5.1.5 Accueil de stagiaires ou visiteurs	32

5.2	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	32
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	33
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	34
6.1	Activités de recherche lors de l'année 2024	34
6.1.1	Tuberculose	34
6.1.2	Mycobactéries non tuberculeuses	34
6.1.3	Lèpre	35
6.2	Liste des publications et communications de l'année 2024 concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	35
6.2.1	Publications internationales	35
6.2.2	Publications nationales	37
6.2.3	Communications orales invitées	37
6.2.4	Communications orales sans invitation	38
6.2.5	Communications affichées	39
6.2.6	Organisation : congrès national	39
6.2.7	Chapitre d'ouvrage	39
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	40
8	Programme d'activité pour les années suivantes	41
8.1	Etudes épidémiologiques et cliniques sur la tuberculose	41
8.2	Mécanismes de résistance acquise aux antibiotiques antimycobactériens	41
8.3	Recherche et étude de nouveaux antibiotiques antimycobactériens	42
8.4	Chimiothérapie expérimentale des infections à mycobactéries	42
8.5	Etude des mycobactéries non tuberculeuses (MNT) responsables de mycobactérioses	42
8.6	Lèpre	43
	Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	44
	- 1A - Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	44
	- 1B - Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	45
	- 1C - Locaux et équipements	46
	- 1D - Collections de matériel biologique	48
	CF annexe 4	48
	- 1E - Démarche qualité du laboratoire	48
	Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	49
	- 2A - Liste des techniques de référence	49
	- 2B - Liste des techniques recommandées par le CNR	52
	- 2C – Détails du fonctionnement des RCP	55
	Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques (non destinées à être rendues publiques)	56
	a- Description des souches	56
	b- Conditions de stockage	56
	c- Conditions de mise à disposition des collections	57

Tableau 1. Evolution des activités d'expertise du CNR- MyRMA de 2017 à 2023	11
Tableau 2. Résistance phénotypique (%) aux antibiotiques des souches de <i>M. tuberculosis</i> complex reçues pour multirésistance (MDR) au CNR-MyRMA de 2015 à 2024	12
Tableau 3. Répartition, par région de naissance, des patients pour lesquels des souches ultrarésistantes (XDR) ou pré-XDR (définition de 2021) ont été reçues au CNR-MyRMA de 2021 à 2024	13
Tableau 4. Nombre et proportion de cas de tuberculose à <i>Mycobacterium bovis</i> (réseau Azay-Mycobactéries)	18
Tableau 5. Résistance aux antituberculeux de 1ère ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol) en 2023	23
Tableau 6. Techniques génotypiques utilisées pour l'identification des mycobactéries	50
Tableau 7. Détection de mutations déterminant la résistance acquise aux antimycobactériens	51
Tableau 8. Techniques disponibles pour le génotypage des mycobactéries	51
Tableau 9. Description des souches disponibles au CNR pour contrôle de qualité avec leurs noms et caractéristiques génétiques et phénotypiques	56
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 2024	13
Figure 4. Nombre annuel de cas de méningite tuberculeuse à culture positive chez les enfants de 5 ans et moins.	18
Figure 5. Nombre de cas de tuberculose à bacilles multirésistants (MDR) enregistrés au CNR de 1992 à 2024	20
Figure 6. Pourcentage annuel de cas de tuberculose à bacilles multirésistants (MDR) de 1992 à 2023	21
Figure 7. Distribution géographique des cas de tuberculose à bacilles multirésistants sur les 5 dernières années	21
Figure 8. Evolution des caractéristiques des cas de tuberculose à bacilles multirésistants (MDR)	22
Figure 9. Proportion (%) de cas enregistrés par le réseau Azay-Mycobactéries par rapport aux cas enregistrés dans la déclaration obligatoire	22
Figure 10. Fréquence de la sensibilité (%) aux trois antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2023 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés en France	23
Figure 11. Fréquence de la sensibilité (%) aux trois antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2023 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés à l'étranger	24
Figure 12. Comparaison génomique des souches de <i>Mycobacterium chelonae</i> responsables d'infections dans les hôpitaux d'une même région	29
Figure 13. Nombre de cas d'infections discutés lors de la CRP "mycobactéries non tuberculeuses"	31
Figure 14. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance à la rifampicine chez <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	52
Figure 15. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance autre que la rifampicine chez <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	52
Figure 16. Logigramme pour le typage moléculaire pour comparaison de souches de <i>M. tuberculosis</i>	53
Figure 17. Logigramme pour identification et diagnostic de la résistance aux antimycobactériens chez les mycobactéries non tuberculeuses	53
Figure 18. Logigramme pour l'investigation des épidémies et des cas liés aux soins lors d'infections à mycobactéries non tuberculeuses	54
Figure 19. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de lèpre	54

RESUME ANALYTIQUE / FAITS MARQUANTS

L'activité d'expertise microbiologique du CNR-MyRMA a été encore plus importante dans tous les domaines (tuberculose, mycobactérioses, lèpre) en 2024 qu'en 2023. La surveillance des infections à mycobactéries perdure grâce à des réseaux de laboratoires partenaires bien qu'il soit plus complexe d'obtenir des informations. Le nombre de cas de méningite tuberculeuse chez les enfants ≤ 5 ans recensés en 2024 (n=6) est supérieur à 2023 (n=2), avec 5/6 cas nés en France. Pour *M. tuberculosis*, la résistance globale aux antituberculeux est quasi stable. Le nombre de cas de tuberculose à bacilles multirésistants continue de légèrement augmenter. Parmi les 64 souches de *M. tuberculosis* à bacilles MDR (dont les cas de Tahiti) reçues en 2024 (qui ne reflètent pas tous les cas diagnostiqués en 2024) et dont la sensibilité était disponible, 17% étaient également résistantes aux fluoroquinolones (pré-XDR) et 5% à la bédaquiline. Le nombre de cas de lèpre enregistré au CNR en 2024 est en forte hausse (70 cas vs 32) du fait en partie de l'inclusion de Mayotte dans nos correspondants à partir de novembre 2024 (15 cas en 2024). Le CNR a poursuivi ses activités microbiologiques dans les suites de 3 alertes d'infections à mycobactéries non tuberculeuses (MNT) dont une alerte européenne sans recenser de nouveau cas. Le CNR a également participé à l'enquête autour de cas de bactériémies à *Mycobacterium fortuitum* liés à des dispositifs intra-veineux dans un DOM. Finalement, l'activité de conseil de prise en charge dans le cadre de réunions pluridisciplinaires est soutenue avec notamment 132 dossiers pour 106 patients discutés au cours des « RCP tuberculose », 132 dossiers au cours de la RCP pour les infections MNT et 38 lors des RCP mensuelles pour la lèpre. A ces RCP, s'ajoutent plus 1000 entretiens téléphoniques avec les correspondants pour des conseils microbiologiques ou de prise en charge.

EXECUTIVE SUMMARY / HIGHLIGHTS

The CNR-MyRMA's microbiological expertise activity was more important in 2024 as compared to 2023 in all expertise topics (tuberculosis, NTM infections, leprosy). The surveillance of mycobacterial infections is still ongoing thanks to two networks of partner laboratories although it becomes more difficult to collect comprehensive information. The number of tuberculous meningitis in children aged ≤ 5 years registered in 2024 (n=6) is higher than in 2023 (n=2) with 5/6 cases born in France. For *M. tuberculosis*, overall resistance to anti-tuberculosis drugs remains roughly stable. The number of cases of multi-drug-resistant tuberculosis is slightly above the 2023 cases. Among the 64 isolates of *M. tuberculosis* with an MDR pattern (including the cases of Tahiti) with available DST, 17% were also resistant to fluoroquinolones (pre-XDR) and 5% to bedaquiline. The number of leprosy cases recorded by the CNR in 2024 was by far higher than in 2023 (70 vs 32 cases), partly due to the inclusion of the department of Mayotte in the corresponding centers (15 cases in 2024). The CNR continued its microbiological activities following three alerts of non-tuberculous mycobacteria (NTM) infections, including an European alert, without identifying any new cases. The CNR also participated in the investigation into cases of *Mycobacterium fortuitum* bacteremia linked to intravenous devices in an overseas department. Finally, our advisory works within the framework of the three consilia (RCPs, multidisciplinary meetings) coordinated by the NRC remained busy, with the cases of 106 patients discussed at the tuberculosis RCPs, 132 at the RCPs for NTM infections and 38 during 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, AP-HP. Sorbonne Université – jerome.robert@cnrmyrma.fr

Cadre : Nathalie BACON, Fédération de Bactériologie-Hygiène, Site Pitié-Salpêtrière, AP-HP. 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>

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 2024 par rapport aux années précédentes.

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).

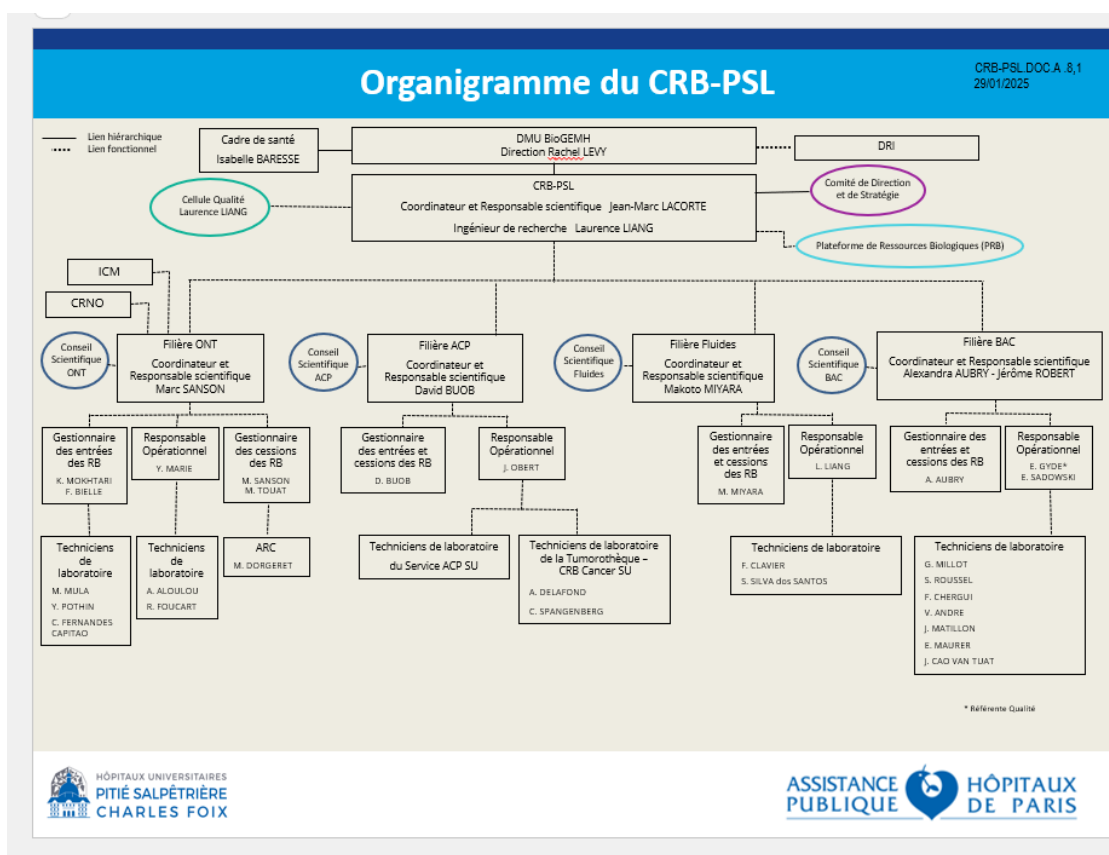


Figure 2 : organigramme du Centre de Ressources Biologiques de la Pitié-Salpêtrière

Le laboratoire associé est intégré au Centre de ressources Biologiques de l'hôpital Lariboisière (Directeur Pr Philippe MANIVET).

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 et faciliter la mise sur le marché des nouveaux antituberculeux en accord avec l'Agence Européenne du médicament.

En 2024, le travail de EUCAST-AMST a porté sur la finalisation du protocole de détermination des CMI des nouveaux antituberculeux (bédaquiline, du delamanide, de la clofazimine et du pretomanide). La difficulté de tester ces nouveaux antituberculeux est liée à leur insolubilité dans l'eau : ils nécessitent d'être dilués en DMSO mais testés avec une proportion de DMSO < 1%. Il a donc fallu une nouvelle version du protocole initial, publié en 2019, avec un protocole permettant de donner des valeurs fiables et reproductibles des CMI de ces antituberculeux. La version finale du protocole a été soumise à consultation publique en novembre 2024 et finalisée fin 2024. La version définitive est publiée sur le site web de EUCAST (<https://www.eucast.org>). Elle est présentée avec un document principal sur les principes de la méthode de la référence EUCAST, et une annexe avec des exemples de protocoles pour les ATTB solubles dans l'eau et pour les ATTB nécessitant un autre solvant (ex DMSO).

L'étude de calibration entre la méthode de référence et deux techniques utilisées en routine (MGIT TBExist, et plaques ThermoFisher) a été finalisée en 2024 pour la bédaquiline. Pour la clofazimine, le linézolide et la lévofloxacine, la calibration a été faite avec seulement les plaques ThermoFisher. Les résultats sont en train d'être analysés par les industriels Janssen, Becton-Dickinson et ThermoFisher, et seront présentés pour validation auprès du comité EUCAST en 2025. Les résultats ne seront rendus publics qu'à l'issue de cette présentation.

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 visait 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 est achevée en 2023 et la rédaction du rapport est en cours. Les résultats sont globalement satisfaisants et le CNR réfléchit à la place de cette technique au sein des méthodes utilisées par le CNR. La faiblesse principale de ce test est la nécessité de tester 2 cartouches pour avoir la sensibilité à l'isoniazide et à la rifampicine.

2.2.2 Sérologie de la lèpre par immunoflow assay PGL-1

Nous avons testé la sérologie de la lèpre en collaboration avec l'Université de Leiden (Pr Annemieke Geluk), qui a développé un test mesurant la présence des anticorps IgM anti-PGL-1, spécifiques de l'infection par *Mycobacterium leprae* et la maladie lépreuse.

Le test est fait sur du sérum (tube de sang sec), ou du plasma (tube EDTA).

D'après les études publiées, la sérologie ne permet pas de faire le diagnostic de maladie lépreuse, car elle peut être positive dès le moment de l'infection par *M. leprae* avant que ne s'installe la maladie. Il a été aussi décrit que la production des anticorps anti-PGL-1 peut augmenter en cas de réactions lépreuses, en particulier l'érythème noueux lépreux (réaction de type 2 caractérisée par la production de complexe immuns circulants). En 2024, nous avons effectué 50 tests pour 34 patients. Au total nous avons eu 38% de résultats positifs soit 19 tests positifs pour 10 patients. Ces patients ont tous eu, par le passé ou lors du test, un prélèvement positif en microscopie ou en PCR pour *M. leprae*. Il s'agit donc d'un test positif dans le cadre d'une lèpre diagnostiquée microbiologiquement.

Nous avons observé une négativation du test IgM anti-PGL-1 chez un patient avec ENL traité avec succès et suivi pendant 2 ans (2022-2024).

Ce test est réalisé en RUO puisqu'aucune trousse commerciale n'existe à ce jour. Le résultat est discuté lors

des RCP Lèpre.

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 2024, le CNR a enrichi ses collections avec :

- les souches de *M. tuberculosis* multirésistantes isolées en 2024,
- les souches *M. tuberculosis* reçues pour identification et/ou test de sensibilité aux antibiotiques,
- les souches de *M. tuberculosis* reçues pour comparaison de souches,
- les souches de MNT reçues pour identification et/ou test de sensibilité aux antibiotiques,
- les souches de MNT reçues pour comparaison de souches,
- 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 2025 (passage en version Glms V10 pour la Pitié-Salpêtrière et amélioration du paramétrage en Glms 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 1.

Tableau 1. Evolution des activités d'expertise du CNR- MyRMA de 2017 à 2023

Souches soumises à	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
Identification	858	889	813	717	671	715	553	793
<i>M. tuberculosis</i> complex	460	443	336	292	234	226	116	319
Mycobactéries atypiques	398	446	477	425	437	489	437	474
Tests phénotypiques de sensibilité	556	560	514	480	475	531	559	553
<i>M. tuberculosis</i> complex ^b	277	270	261	221	168	174	182	190
Mycobactéries atypiques	279	290	253	259	307	357	377	363
Tests génotypiques de sensibilité	529	501	532	474	476	536	542	565
<i>M. tuberculosis</i>	280	230	220	236	236	232	246	279
Mycobactéries atypiques	249	271	312	238	240	304	296	286
Génotypage épidémiologique ^c	227	445	248	155	nd	140	175	180
<i>M. tuberculosis</i>	197	344	228	140	nd	108	171	156*
Mycobactéries atypiques	30	101	20	15	34	32	4	24
Séquençage génome (WGS)	68	217	224	169	nd	223	348	465
<i>M. tuberculosis</i> ^d	38	119	141	125	nd	163	337	434
Mycobactéries non tuberculeuses	30	98	83	44	50	60	11	31
Recherche « lèpre ^e »	111 (27)	111 (33)	106 (33)	63 (12)	129 (32)	139 (48)	165 (30)	217 (70)

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 prélèvements positifs à *M. leprae*

* : 156 dont 64 pour des cas MDR et 92 analyses MIRU + WGS

° : 434 dont 193 WGS et 241 deeplex (dont 49 pour comparaison de souches)

nd : non disponible

Origine des prélèvements :

Les données des deux laboratoires du CNR-MyRMA (sans les prélèvements pour recherche de lèpre) montrent que près de 140 établissements différents ont adressé un prélèvement au CNR-MyRMA dont :

- 44% des prélèvements proviennent d'un CHU de métropole
- 34% d'un CH de métropole
- 8% d'un LABM
- 2% d'un Institut Pasteur
- 11% d'un établissement d'outre-mer et le reste des cliniques de métropole.

Au total, 31% des prélèvements provenaient d'Ile-de-France, contre 26% en 2023.

Pour ce qui concerne les prélèvements pour recherche de lèpre (n=268), la répartition d'origine des prélèvements était la suivante pour 2024: CHU (dont hôpitaux des armées) n=123, 45,9% ; DROM n=108, 40,3% ; CH n=32, 12% ; LABM n=5, 1,9% ; étranger 3% .

A noter, l'année 2024 a été marquée par une alerte de réactovigilance de la société Becton-Dickinson (le 18 juillet 2024) concernant la qualité des lots permettant la détermination de la sensibilité phénotypique au pyrazinamide. Le CNR a dû revoir ses pratiques concernant la détermination de la sensibilité au PZA et a eu une surcharge d'activité liée à :

- La rédaction de notes d'informations mises en ligne sur le site du CNR et diffusée au réseau des mycobactériologistes français,

- Information des collègues cliniciens de ne pas tenir compte des résultats de sensibilité au pyrazinamide pour les analyses réalisées avec les lots défectueux, repiquage des souches concernés et réalisation du séquençage complet de ces souches
 - Réception des souches pour lesquelles résistantes au PZA avec des lots défectueux dans les autres laboratoires. Un nombre important de souches nous ont été envoyées pour contrôle de la sensibilité au PZA par analyse du séquençage du génome complet
- Au total, cela a nécessité la réalisation de 44 WGS.

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. Le nombre total de souches testées peut donc varier selon l'antibiotique.

Tableau 2. Résistance phénotypique (%) aux antibiotiques des souches de *M. tuberculosis* complex reçues pour multirésistance (MDR) au CNR-MyRMA de 2015 à 2024

Années (n souches testées)	2015 (98)	2016 (71)	2017 (79)	2018 (80)	2019 (69°)	2020 (66°)	2021 (53)	2022 (63°)	2023 (69)	2024 (64)
A Fluoroquinolones	20	17	18	25	17 ^s	18	21	15	12	17
A Bédaquiline	2	0	3	6	0	1	2	6	5	5
Linézolide	1	1	4	4	1	0	0	2	0	0
Clofazimine									1.5 [€]	5
B Cyclosérine	10	13	13	21	48	44	34	52	61	8
Ethambutol	65	55	53	66	58	55	53	69	45	62
Délamanide				5 [£]	0 [£]	0 [£]		2	6	0
Prétomanide									5	0
C Pyrazinamide	43	48	48	60	66 ^μ	63 ^μ	45	66	71	56
Amikacine	14	12	4	9	6	3	2	5	6	8
Streptomycine	69	72	67	79	78	70	85	60	82	89
Ethionamide	71	52	23	36	87	95 [#]	91 [#]	72	58	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

^s 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 2006-2024 de la distribution par pays de naissance des patients porteurs des souches MDR reçues au CNR-MyRMA

Figure 3 montre l'évolution de la distribution du nombre de cas MDR selon la zone géographique de naissance des patients sur les 19 dernières années (année de réception de la souche) pour les cas dont le pays de naissance est connu. 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 ≤ 4), ont augmenté significativement en 2022 (n=11) mais sont revenus en 2023 et 2024 à un nombre proche de celui des 10 dernières années 2012-2021 (n≤5). Par ailleurs, le nombre de cas nés en Géorgie qui avait augmenté de manière sensible en 2022 (n=12), est revenu à un niveau similaire aux années pré-2022.

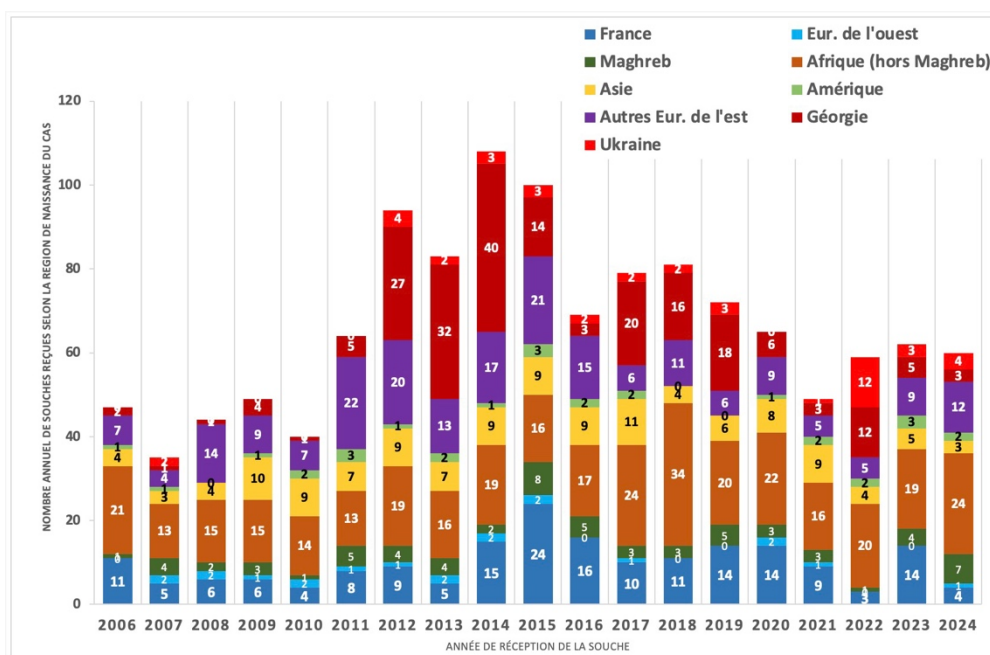


Figure 3. Evolution de la distribution des cas MDR selon le pays de naissance de 2006 à 2024

Le Tableau 3 ci-dessous montre du nombre de souches XDR et pour la première fois le nombre de souches pré-XDR selon les définitions de 2021. Les informations sur les cas MDR selon l'ancienne définition sont données dans le rapport 2023.

Tableau 3. Répartition, par région de naissance, des patients pour lesquels des souches ultrarésistantes (XDR) ou pré-XDR (définition de 2021) ont été reçues au CNR-MyRMA de 2021 à 2024

AN	EUROPE OCCIDENTALE	AFRIQUE DUNORD	AFRIQUE SUBSAHARIENNE	AMERIQUE	ASIE	EUROPE DE L'EST ET EX-URSS	TOTAL (% PARMIS LES MDR)	
							Pré-XDR ^a	XDR ^b
2021*		1 (Maroc)			4 (3 Inde, 1 Thaïlande)	4 (1 Azéri, 1 Géorgie, 1 Moldave, 1 Ukraine)	10	1 (1,9) (Géorgie)
2022			1 (Somalie)	1 (Pérou)	1 (Tibet)	5 (2 Géorgie, 3 Ukraine)	7	2 (3,1) (Géorgie)
2023	3 (France)		1 (Congo)			4 (1 Géorgie, 1 Moldave, 2 Ukraine)	6	2 (3,0) (Géorgie, Congo)
2024	1 (Portugal)	1 (Algérie)	3 (Congo, Niger, RDC)	1 (Pérou)		5 (3 Géorgie, 1 Ukraine, 1 Moldavie)	9	2 (3,0) (Portugal, Congo)

a : une souche pré-XDR est un bacille MDR ayant une résistance additionnelle à une des fluoroquinolones

b : une souche XDR est un bacille MDR ayant une résistance additionnelle à une des fluoroquinolones et à la bédacilline ou au linézolide.

* : Pour 2 cas pré-XDR de 2021, et un de 2022, le pays de naissance est inconnu.

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 2024:

- 9% des souches testées de *M. avium* complex étaient non sensibles à la clarithromycine
- 1 souche de *Mycobacterium abscessus* (subsp. *massiliense*) avait une mutation du gène *rrl* en rapport avec une résistance acquise de haut niveau aux macrolides.
- 1 souche de *Mycobacterium abscessus* (subsp. *abscessus* erm41 T28) avaient une mutation du gène *rrs* en rapport avec une résistance acquise à l'amikacine.

2.6 Activités de séquençage

En 2024, 193 WGS ont été réalisés (dont 49 pour comparaison de souches), ainsi que 241 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 31 les MNT.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Le CNR coordonnateur a changé de de plateforme de séquençage en 2024 : - jusqu'en juillet 2024, nous utilisons la plateforme P2M de l'Institut Pasteur (Vincent Enouf); (NextSeq500) depuis juillet 2024, nous utilisons la plateforme de caractérisation des génomes microbiens par séquençage à haut débit (GenoBioMICS) du CHU Henri Mondor (https://www.vhc-henrimondor.com/plateformes/plateforme-de-caracterisation-des-genomes-microbiens-par-sequenceage-a-haut-debit/); (NextSeq500) Le CNR associé conserve deux plateformes accessibles: celle de l'équipe IAME UMR1137 Inserm faculté de médecine Bichat (Etienne Ruppé, accès interne Mini Seq) et celle de l'Hôpital Bichat service de génétique (accès interne MiSeq et NextSeq)

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Développement d'un <i>pipeline</i> et mise à jour régulière d'analyse bio-informatique local, basé sur des logiciels open source, permettant la détection de mutations et leur interprétation grâce à des bases de données publiques (2023 WHO catalogue of mutations, PhyResSE, http://phyresse.org ; TB-profiler, https://tldr.ishtm.ac.uk, MTBseq https://github.com/ngs-fzb/MTBseq_source). Pour les étapes d'analyse WGS les logiciels standalone open source sont priorités. Pour les MNT, le logiciel Bionumerics est utilisé avec en complément une analyse bio-informatique locale utilisant certains programmes sur Galaxy.

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, étude du résistome 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 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-dessus.	
Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
☐ NON	
☒ OUI	Analyse systématique des souches de <i>M.tuberculosis</i> MDR Analyse pour recherche de cas groupés de tuberculose Analyse de cas groupés pour les infections à mycobactéries non tuberculeuses Etude de cas d'infection liée aux soins en rapport avec une source possible environnementale Le séquençage des MNT est utilisé pour comparaison de souches par la technique des SNPs. En effet, l'objectif est de savoir si les souches peuvent être liées à une même source, avec en général moins de 12 SNPs de différences.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémie

Séquençage utilisé à des fins de surveillance

64 souches de TB-MDR

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

31 souches de NTM pour suspicion de cas groupés (n=8), de rechutes (n=7) ou de diagnostic (n=16)

Tuberculose, n=64 : 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 2 souches MDR du fait de l'absence de subculture).

Pour les MNT, 11 souches ont été analysées : 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)

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génomes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?
Dans les bases de données fermées : Base de donnée de NAS/Archive_Genome de CNR de Mycobactéries
Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : Précisez

Les séquences brutes sont déposées dans un NAS, et sauvegardées sur un disque dur externe de façon anonyme. 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 projet RespiriTB BioProject: PRJNA112254 (NCBI), 18 séquences WGS TB en format fastq.gz ont été déposées au SRA Sequence Read Archive en juin 2024. Toutes les séquences sont publiquement disponibles depuis 11 juin 2024 sur SRA (NIH NCBI).

3 Activités de surveillance

La surveillance des infections à mycobactéries est effectuée grâce à des réseaux de laboratoires partenaires. Pour la tuberculose, en 2024, nous avons recueilli leurs données concernant les cas de 2023. Les données montrent une augmentation du nombre de cas d'infections humaines à *M. bovis*, avec toutefois une proportion quasi stable par rapport au nombre total de tuberculose recensé ; une augmentation significative des cas de méningite tuberculeuse (6 cas en 2023), et une résistance aux antituberculeux globalement stable. Le CNR a recensé 70 cas de tuberculose à bacilles multirésistants diagnostiqués en 2024 (contre 65 en 2023), le nombre de cas MDR provenant d'Ukraine étant stable. Le nombre de cas de lèpre enregistré au CNR en 2024 est en forte hausse par rapport à 2023 (70 vs. 32), du fait en partie de l'inclusion de Mayotte dans nos correspondants à partir de novembre 2024 (15 cas en 2024).

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 2024, le réseau a donc collecté les données de 2023.

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 2024, le réseau a donc collecté les données de 2023.

Le réseau comporte 119 correspondants en 2023 (123 en 2022) – le taux de réponse à l'enquête 2023 a été de 89%. Celui de 2022 était de 77%. Le taux de réponse reste bas depuis la pandémie de Covid-19. Le nombre total de cas de tuberculose enregistrés au CNR-MyRMA est bien inférieur à celui rapporté dans le cadre de la DO. 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. Il permet également de recueillir des informations sur les techniques utilisées en France par les laboratoires qui font de la mycobactériologie, ce qui permet de répondre aux demandes de l'ECDC ou de OMS Europe.

- 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 4).

Tableau 4. Nombre et proportion de cas de tuberculose à Mycobacterium bovis (réseau Azay-Mycobactéries)

Année	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Nombre total de cas <i>M. bovis</i>		31	37	32	45	44	29	27	29	39
Nombre de cas <i>M. bovis</i> *	16	19	26	23	33	34	24	23	25	31
Nombre de tuberculose à culture+*	1179	1131	1241	1487	1354	1408	1101	1261	1163	1440
Pourcentage de <i>M. bovis</i> *	1,4	1,7	2,1	1,6	2,4	2,4	2,2	1,8	2,1	2,2

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

En 2023, le nombre de cas de *M. bovis* est supérieur aux deux années précédentes. Toutefois, le nombre total de cas de tuberculose recensé par Azay en 2023 est bien supérieur à 2022 et 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 pour les laboratoires identifiant tous les cas jusqu'à l'espèce.

Parmi les 39 cas de 2023, l'âge médian était de 45 ans (37 ans en 2022). Huit cas étaient nés en France dont 2 âgés de 15 ans et moins, deux entre 50 et 60 ans et quatre de plus de 70 ans.

3.2.2 Surveillance de la méningite tuberculeuse à culture positive

En 2023, les correspondants du réseau du CNR ont diagnostiqué 6 méningites tuberculeuses chez les enfants de 5 ans et moins. Ce chiffre est similaire à l'année 2021 et plus élevé qu'en 2022 (Figure 4). Dans un seul des 6 cas de 2023, la culture du LCR était positive ; dans les autres cas de 2023, c'est un autre site que le système nerveux qui a été positif en culture dans le cadre d'une atteinte généralisée comprenant une méningite. Au total, 5 les 6 cas étaient nés en France.

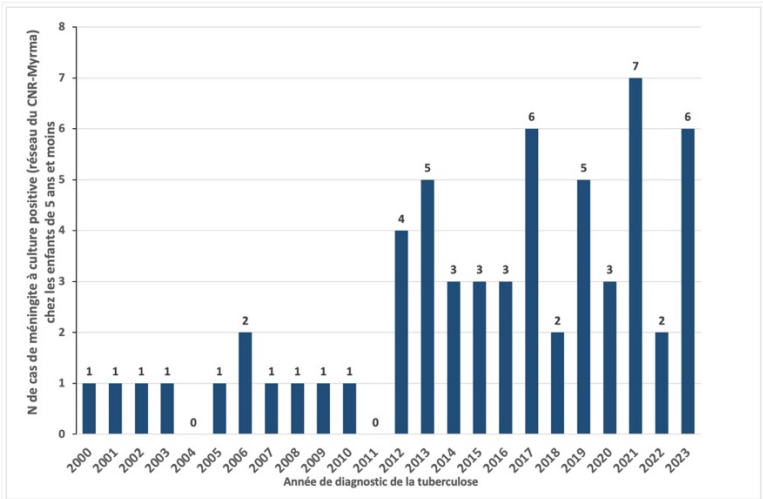


Figure 4. Nombre annuel de cas de méningite tuberculeuse à culture positive chez les enfants de 5 ans et moins.

3.2.3 Infections à mycobactéries non tuberculeuses

La répartition des principales espèces de mycobactéries non tuberculeuses reçues pour identification en 2024 était la suivante :

- 217 souches du **complexe *M. avium* (MAC)** dont 105 *M. avium*, 35 *M. intracellulare* et 58 *M. chimaera*. Parmi ces souches, 70% ont été considérées comme responsables d'infections, essentiellement respiratoires.
- 57 souches de ***M. abscessus*** dont 41 *M. abscessus subsp. abscessus*, 9 *M. abscessus subsp. Massiliense*, 7 *M. abscessus subsp. bolletii*. Au total 72 % des souches reçues étaient responsables d'infections.
 - 42 souches étaient issues de prélèvements respiratoires et 19 étaient considérées comme responsables d'infections, les autres responsables de colonisation parfois persistante.
 - 15 souches étaient issues de prélèvements extra-pulmonaires dont 7 cutanéomuqueux, 2 ostéo-articulaires, 1 ORL, 1 d'un ganglion, 1 abcès biliaire, 1 orchépididymite et 2 d'un prélèvement sanguin. Ces souches sont liées à une infection liée aux soins ou d'inoculation en milieu communautaire.
- 44 souches de ***M. xenopi***, toutes considérées comme responsables d'infections.
- 39 souches de **complexe *M. fortuitum*** et apparentés dont 27 *M. fortuitum subsp. fortuitum*, 4 *M. wolinskyi*, 3 *M. smegmatis*, 2 *M. porcinum*, 1 *M. peregrinum*, 1 *M. septicum*, 1 *M. setense*. Au total, 64%, étaient considérées comme responsables d'infections. Parmi les 19 extra-respiratoires ont été répertoriées 6 infections cutanéomuqueuses, 4 bactériémies, 5 infections ostéo-articulaires ou post-opératoires, 2 infections du sein, 2 infections ganglionnaires. Parmi les 13 souches isolées de prélèvements respiratoires, 3 étaient considérées comme associées à une infection potentielle. 7 souches ont été isolées de l'environnement (eau) dans le cadre d'une recherche de source de contamination.
- 32 souches de ***M. chelonae*** et apparentées (*M. salmoniphilum*), dont 28 (88%) sont considérées comme responsables d'infections, essentiellement des infections extra-respiratoires, dont :
 - 16 cutanéomuqueuses, 5 hémocultures, 4 ostéo-articulaires, 1 digestif, 1 oculaire.
- 17 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 recevions plus systématiquement les demandes en provenance de Mayotte, mais nous avons repris un contact fin 2024 (voir infra) et depuis novembre, nous avons reçu régulièrement les prélèvements des patients consultants au dispensaire de Mamoudzou (Dr Anne Marie de Montera, Dr Charles Huvet, pôle santé publique). Le transport est fait par le laboratoire de l'hôpital de Mamoudzou (Dr Benoit Cattin).

Nous répondons aussi aux demandes d'aide à la prise en charge pour des patients diagnostiqués les années précédentes, mais présentant des complications à type de réactions lépreuses de type 1 ou 2 (ENL). Ceci est fait en partie au cours de la réunion de concertation professionnelle (RCP) mensuelle (voir infra).

En 2024, nous avons reçu 217 prélèvements pour 134 patients avec suspicion de lèpre ou suivi sous traitement. Parmi eux, 99 (45,6%) prélèvements ont été positifs en PCR ou en microscopie, ce qui correspond à 70 (52,2) patients avec un diagnostic de lèpre. Ces patients étaient 49 nouveaux cas et 21 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 (n=12), ou étaient suspects de rechutes (n=9) devant de nouveaux signes cliniques apparus après l'arrêt du traitement.

Les 70 patients diagnostiqués vivaient pour 42 (60%) d'entre eux dans les DROM (15 à Mayotte, 8 en Guyane, 9 à la Réunion, 4 en nouvelle Calédonie et 3 de Polynésie) et pour les 28 restants dans 16 CHU ou CH différents en France métropolitaine. Les 49 nouveaux cas ont été pris en charge pour 29 cas dans les DROM (10 à Mayotte, 3 nouvelle Calédonie, 8 à la Réunion, 6 en Guyane et 1 en Martinique). Pour les 20 cas restants dans 13 hôpitaux et 8 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 70 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 27 cas (19 des nouveaux cas et 6 des cas suivis qui n'avaient pas été étudiés précédemment). Ceci a permis de détecter en 2024 seulement un cas de résistance primaire à la dapsone chez un habitant de Guyane, les autres cas ont eu des souches sensibles aux antiléproux.

Si l'on regarde spécifiquement les cas diagnostiqués pour le département de Mayotte, nous avons reçu en 2024 un total de 25 prélèvements pour 18 patients dont 15 étaient positifs à *M. leprae* en microscopie ou en PCR. Il s'agissait de 10 nouveaux cas et 5 patients suivis ou en rechutes. Pour 11 des cas, les souches avaient suffisamment de bacilles pour l'étude de la sensibilité aux antiléproux et étaient sensibles.

Devant l'augmentation des cas de lèpre pour lesquels il est demandé au CNR-MyRMA une aide au diagnostic microbiologique, ou une aide à la prise en charge (choix du traitement, conseil auprès de la RCP), Il paraît important et opportun de pouvoir écrire des recommandations pour la prise en charge des cas de lèpre en France métropolitaine et dans les DROM, en plus des recommandations de l'OMS qui s'appliquent surtout pour les pays prioritaires endémiques. Il nous paraît aussi opportun de rediscuter d'une déclaration obligatoire ou de l'inscription des cas sur un registre spécifique, dans chaque DROM et en France métropolitaine.).

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

3.3.1 Surveillance des cas de tuberculose à bacilles multirésistants (TB-MDR)

Les cas de tuberculose à bacilles multirésistants sont surveillés par différentes sources du CNR : les souches adressées au CNR pour expertise microbiologiques (bilan plus haut), la RCP des tuberculoses complexes, le réseau AZAY-Mycobactéries des CHU et l'enquête annuelle auprès du réseau national du CNR des laboratoires réalisant les analyses de mycobactériologie (CHU, CH hors CHU et privés).

Le croisement de ces données permet d'obtenir un nombre quasi exhaustif des cas de TB-MDR ainsi que les informations nécessaires à une bonne interprétation microbiologique et épidémiologique. Chaque cas de TB-MDR est enregistré dans l'année du premier prélèvement ayant mené au diagnostic à la différence du recensement des souches qui sont enregistrées l'année de réception de celles-ci au laboratoire du CNR (cf 2.5.2). Les données sont donc légèrement différentes, mais cette surveillance épidémiologique des cas annuels permet un recensement indépendant des difficultés de transmission des souches.

Le CNR a enregistré 70 cas de TB-MDR diagnostiqués en 2024 en métropole et dans les départements d'outre-mer (Figure 5). Ce nombre est le plus élevé enregistré depuis 2020 (n=63 cas). Celui de 2023 était de 65 cas.

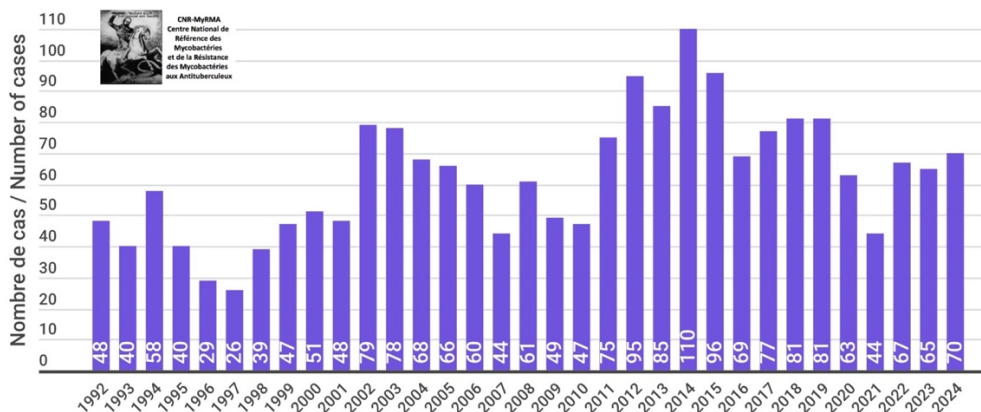


Figure 5. Nombre de cas de tuberculose à bacilles multirésistants (MDR) enregistrés au CNR de 1992 à 2024

Le nombre de cas de TB-MDR 2023 correspond à 1,4% du total des cas de tuberculose enregistrés dans le cadre de la déclaration obligatoire (DO) en 2023 (Figure 6). Cette proportion n'est pas encore calculable pour 2024, en raison de l'absence de dénominateur.

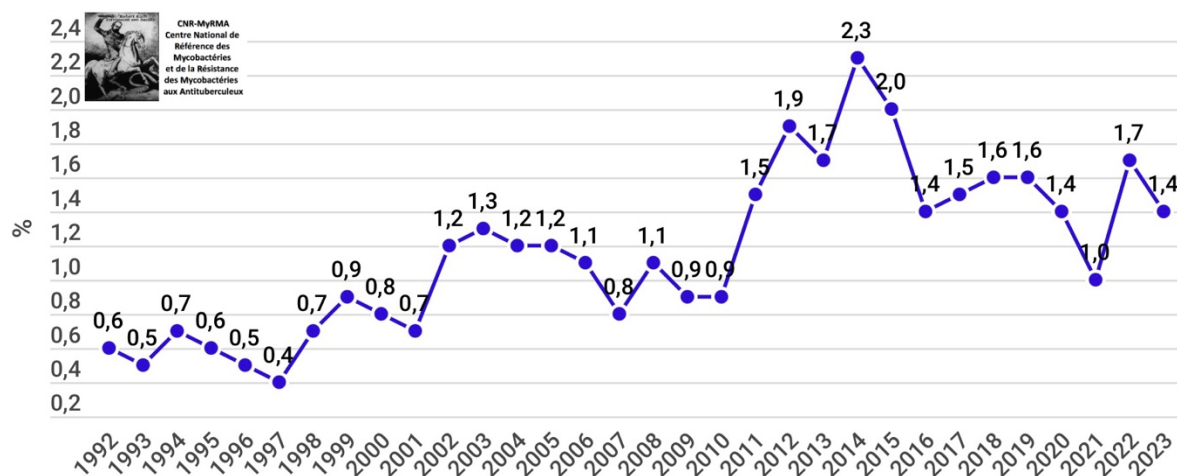


Figure 6. Pourcentage annuel de cas de tuberculose à bacilles multirésistants (MDR) de 1992 à 2023

Au total, 30 (43%) des 70 cas enregistrés en 2024 provenaient d'Ile-de-France. La répartition sur les 5 dernières années est quasi identique, 40% des cas provenant d'Ile-de-France, 13% d'Auvergne-Rhône-Alpes et 8% de PACA ().

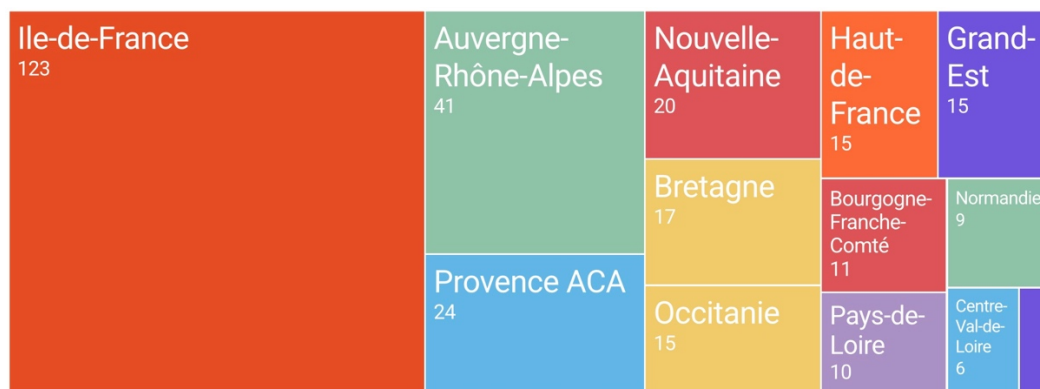


Figure 7. Distribution géographique des cas de tuberculose à bacilles multirésistants sur les 5 dernières années

L'analyse par période de 5 années des caractéristiques des cas enregistré depuis le début de la surveillance en 1992 montre que (Figure 8) :

- l'âge médian et le genre sont relativement stables depuis 1992,
- la co-infection par le VIH diminue légèrement
- la résistance primaire est devenue majoritaire
- la proportion de malades nés en France a fortement diminué
- les formes extra-pulmonaires pures sont en augmentation et ceci s'accompagne d'une moins forte proportion d'examen microscopique positif.

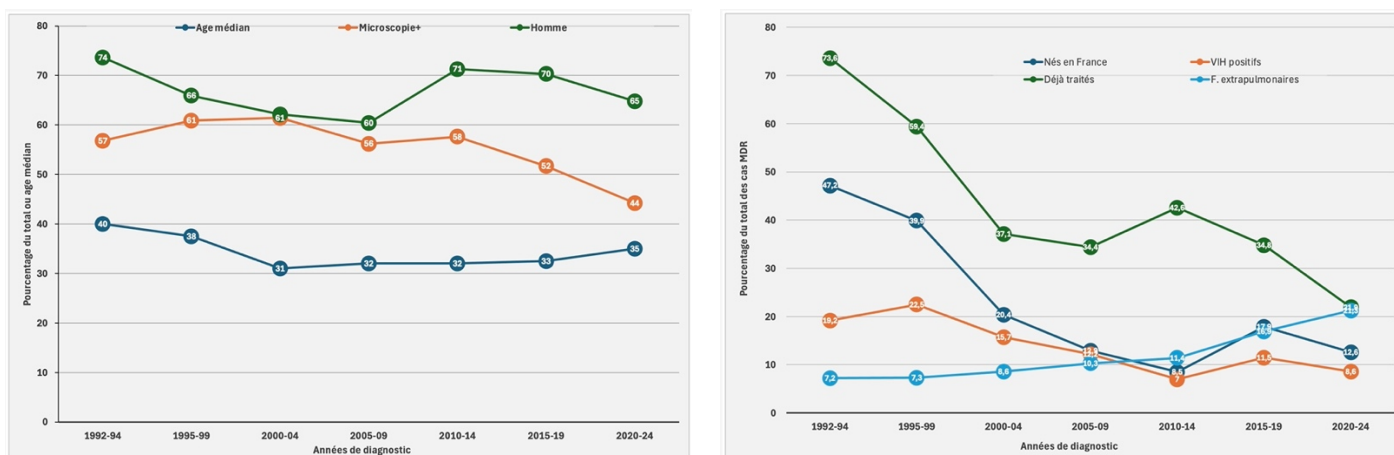


Figure 8. Evolution des caractéristiques des cas de tuberculose à bacilles multirésistants (MDR)

3.3.2 Surveillance de la résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux (réseau Azay-Myco-bactéries)

Les données recueillies en 2024 concernent les malades diagnostiqués pendant l'année 2023 par 34 laboratoires du réseau Azay-Myco-bactéries, recevant les analyses de 46 CHU, dont la Guyane qui a rejoint le réseau en 2023.

Les 46 CHU du réseau ont colligé pour 2023, les données concernant 1853 cas de tuberculose à culture positive, et parmi ces cas 31 n'avaient pas de résultat d'antibiogramme.

En 2023, le réseau représentait près de 38% des cas de tuberculose recensés par la déclaration obligatoire (Figure 9), 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-Myco-bactéries). Cela signifie que la couverture du réseau Azay-Myco-bactérie était probablement 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.

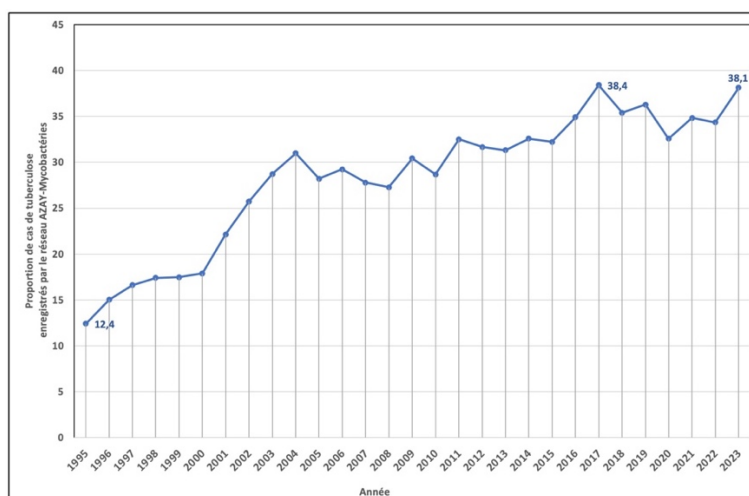


Figure 9. Proportion (%) de cas enregistrés par le réseau Azay-Myco-bactéries par rapport aux cas enregistrés dans la déclaration obligatoire

La proportion de cas nés à l'étranger en 2023 était de 75,2% (76% en 2022), 7,0% avaient déjà été traités (5,6% en 2022) et 4,8% étaient séropositifs pour le VIH (5,3% en 2022).

La proportion de souches résistantes primaires et secondaires à l'isoniazide (INH), la rifampicine (RMP) et l'éthambutol (EMB) en 2023 sont données dans le Tableau 5 selon les antécédents de traitement et le pays de naissance.

Tableau 5. Résistance aux antituberculeux de 1ère ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol) en 2023

(Réseau Azay-Mykobactéries)

Phénotype	Nouveaux cas						Malades déjà traités					
	Total		France		Autres		Total		France		Autres	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
N testées	1507	(100)	338	(100)	1154	(100)	123	(100)	24	(100)	98	(100)
-Sensible	1420	(94,2)	317	(93,8)	1088	(94,3)	105	(85,4)	22	(91,7)	82	(83,7)
-Résistante	87	(5,8)	21	(6,2)	66	(5,7)	18	(14,6)	2	(8,3)	16	(16,3)
R à au moins												
- INH	84	(5,6)	21	(6,2)	63	(5,5)	15	(12,2)	2	(8,3)	13	(13,3)
- RMP	27	(1,8)	5	(1,5)	22	(1,9)	12	(9,8)	1	(4,2)	11	(11,2)
- EMB	16	(1,1)	4	(1,2)	12	(1,0)	6	(4,9)	1	(4,2)	5	(5,1)
- MDR	25	(1,7)	5	(1,5)	20	(1,7)	9	(7,3)	1	(4,2)	8	(8,2)

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

Pour 28 des 1831 souches, les antibiogrammes n'ont pas été réalisés. Les antécédents de traitement étaient douteux ou inconnus pour 175 cas et le pays de naissance était inconnu pour 48 cas. L'éthambutol n'a pas été éprouvée pour 5 cas.

Chez les cas jamais traités (« résistance primaire »), la fréquence de la résistance à au moins un des trois antituberculeux était de 5,8%. Comme les autres années, les souches résistantes à l'INH représentent la quasi-totalité des souches résistantes (84/87 souches), et la résistance à RMP est observée chez 1,8% des souches (1,4% en 2022) dont 2 souches monorésistantes. En 2023, contrairement à la majorité des années passées, la résistance n'est pas significativement 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 14,6%, moins élevée qu'en 2021 (18,5%) et la multirésistance se montait à 7,3% des cas (14,8% en 2022). La résistance à l'INH et RMP sont moins fréquentes chez les malades déjà traités et nés en France que chez ceux nés à l'étranger.

L'impact des antécédents de traitement sur la prévalence de la résistance aux antituberculeux est clairement montré sur la Figure 10 pour les cas nés en France et sur la Figure 11 pour les cas nés à l'étranger.

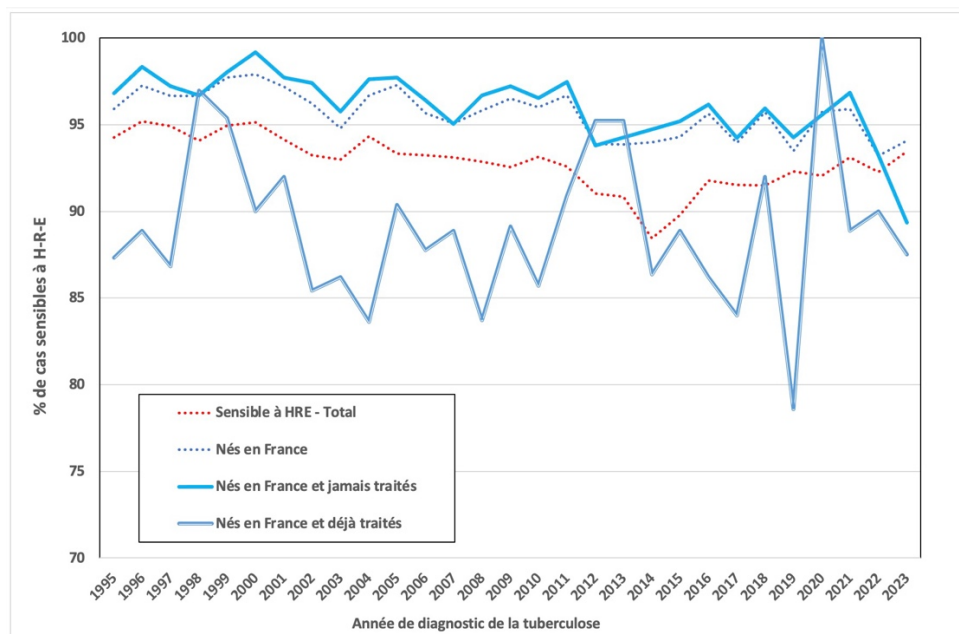


Figure 10. Fréquence de la sensibilité (%) aux trois antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2023 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés en France

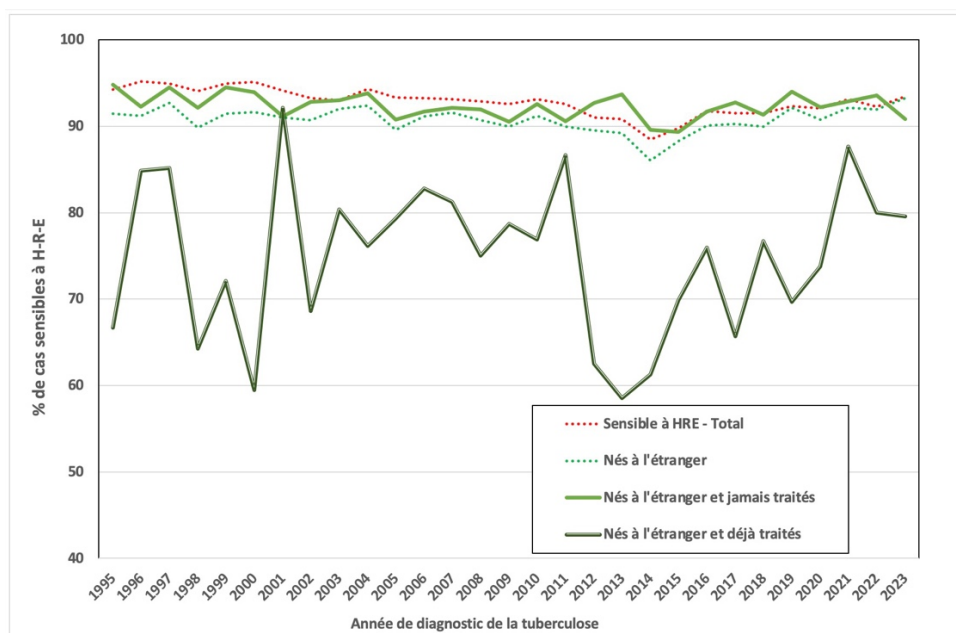


Figure 11. Fréquence de la sensibilité (%) aux trois antituberculeux (isoniazide, H; rifampicine, R; éthambutol, E) de 1995 à 2023 selon les antécédents de traitement pour les cas de tuberculose nés à l'étranger

3.3.3 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.

En 2024, l'équipe du CNR-MyRMA a développé l'étude COhorte Nationale française des patients atteints par Tuberculose résistante à la Rifampicine (CONTRol-TB, APHP240748), une étude de cohorte nationale longitudinale qui rassemble une partie rétrospective historique (2006-2019) et une partie prospective, qui inclut les données du registre (à partir de 2020, jusqu'à 2029). L'étude CONTRol-TB a été approuvée par le Comité Éthique et Scientifique pour les Recherches, les Études et les Évaluations dans le domaine de la Santé (CESREES, avis 18626375) ; l'évaluation de la CNIL est en cours.

La mise en œuvre du registre national des cas de tuberculose MDR a commencé en 2020 et a continué pendant toute l'année 2024. 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, 191 patients TB MDR ont été inclus dans le registre en 2020-2024 (62% des patients TB MDR totaux en France). Au total, 104 utilisateurs (dans 48 centres différents) ont utilisé le registre, en plus des 8 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, par manque de retour 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 mis en production en 2024 : maintenant, les demandes de discussion en RCP des patients atteints par tuberculose MDR se font exclusivement par le remplissage par le clinicien des données cliniques sur le registre. Cela est facilité par les nouvelles fonctionnalités du registre et par la collaboration d'un ARC/TEC qui a été embauché au CNR en partie pour soutenir cette activité. En 2024, une réunion du Conseil Scientifique a confirmé ces nouvelles directions.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

3.4.1 Mycobacterium tuberculosis

En 2024, 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 2024, nous avons participé aux réunions organisées dans le cadre du réseau européen des laboratoires de référence (ERLN-TB). Une réunion s'est tenue en présentiel à Bratislava, septembre 2024). Nous avons aussi assisté à la réunion des points de contact de ECDC/OMS Europe à la Haye.

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 2024, la publication commune, écrite en 2023 (Tagliani et al. 2024) a été publiée et un travail de consensus sur le diagnostic des infections à MNT est en cours avec ce groupe pour le référentiel de l'ECDC. Cela consistera en l'écriture d'un chapitre de recommandations dans le Handbook de l'ECDC.

En 2024, nous avons poursuivi notre participation 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 2024, l'OMS nous a aussi demandé de déclarer les cas des DROM pour lesquels ils n'avaient pas de données.

En 2024, nous avons donc déclaré les cas que nous avons diagnostiqués pour l'année 2023. 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 antiléprieux selon les recommandations de l'OMS 2016. Une souche résistante à la rifampicine avait 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 2024, aucune souche résistante au prêtomanide n'a été détectée 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 événements marquants pour l'année 2024 ont été les suivants :

- Un épisode de transmission à un personnel soignant immunodéprimé sous anti-TNFalpha d'une souche TB-XDR
- Une épidémie communautaire de tuberculose MDR au sein d'un foyer pour Mineur non accompagné (MNA) avec 8 TM et 20 ITL
- Une épidémie communautaire au sein d'un collège avec dépistage autour d'un cas de 105 ITL sur 493 collégiens dépistés
- La poursuite d'une épidémie communautaire de tuberculose MDR à Tahiti débutée en 2015 (2 nouveaux cas en 2024),

En 2024, le CNR-MyRMA a réalisé le génotypage de 92 souches non multirésistantes de *M. tuberculosis complex* par la méthode MIRU-VNTR de 24 loci (43 souches) ainsi que par comparaison du génome complet (49 souches) pour suspicions de cas groupés ou de contamination inter-prélèvements au laboratoire. Cela a permis d'apporter les informations suivantes, en complément des enquêtes épidémiologiques menées sur le terrain par les autorités sanitaires (CLAT, etc.) :

- 16 épisodes de cas groupés (communautaire, entreprise, école, foyers de précarité, centre pénitentiaire), totalisant 35 cas sur les 64 explorés (2 à 5 cas par épisodes),
- 2 cas de vraies rechutes et non de réinfection,
- 7 épisodes de contamination inter-prélèvements au laboratoire totalisant 14 cas sur les 24 explorés.

4.2 Mycobactéries non tuberculeuses

Les alertes pour lesquelles le CNR-MyRMA a été sollicité en 2024 sont soit le suivi des alertes de 2023, soit des déclarations d'infections liées aux soins (esin) avec diverses mycobactéries non tuberculeuses présentes dans l'eau courante servant aux soins. Elles sont résumées ci-dessous :

1- Alerte européenne puis mondiale d'infection post CEC (endocardites, spondylodiscites, ...) à *M. chimaera* liée aux générateurs thermiques utilisés dans les blocs opératoires pour la circulation extra-corporelle (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 2024, nous n'avons pas reçu de prélèvements d'eau isolées de générateurs thermiques, ni de souches de *M. chimaera* envoyées par les autres hôpitaux. Néanmoins, nous avons reçu des appels et des demandes pour reprendre une enquête de surveillance des eaux des générateurs, 10 ans après les changements de procédures et de matériels (nouveaux générateurs produits par la société). Nous recevrons en 2025 des souches pour évaluer combien de générateurs sont encore positifs et si les souches sont toujours clonales avec la souche initiale de l'épidémie (souche Zuerich 1). En effet, les générateurs actuellement utilisés sont soit des modèles achetés après 2015, soit des modèles d'avant 2015 pour lesquels la société avait proposé de les reprendre et de les désinfecter. Donc en théorie, aucun d'entre eux ne devrait être infecté par la souche de *M. chimaera* responsable de l'épidémie de 2015.

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 (collaboration avec le CNR allemand : Pr Florian Maurer, Pr Stefan Niemann, Dr Inna Friesen, Pr Annette Moter) 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. L'industriel a été mis en cause et interdit de commercialiser les bioconduits en France en accord avec l'ANSM. Les données de l'alerte ont été publiées dans Lancet Microbe 2024 (.Kikhney et al.)

En 2024, nous n'avons pas été alertés par de nouveau cas ou de suspicion. Néanmoins, nous continuons une surveillance des endocardites (étude de 14 valves suspectes d'endocardite sur bioprothèses depuis 2023) car la source de l'infection n'a pas été encore trouvée. Nous restons donc vigilants.

3- Suivi des cas groupés d'infections à *Mycobacterium chelonae* dans les hôpitaux d'une même région (esin 46516)

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 2023, 22 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 2024, il n'y a pas eu de nouveau cas.

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 (Figure 12). La pose de filtres a été faite pour les points à risque depuis mai 2022.

Compte tenu du coût pour l'établissement, il a été décidé de refaire l'examen des points d'eau pour voir si les filtres pouvaient être retirés. Les points d'eau surveillés étaient toujours positifs à *M. chelonae* en quantité semblables et avec les mêmes souches.

Deux réunions ont eu lieu avec SPF, en septembre 2024 et janvier 2025 (équipe infections liées aux soins), les équipes opérationnelles d'hygiène et l'ARS des établissements concernés. Des discussions ont concerné la maintenance du circuit d'eau de l'établissement puisque la contamination est restée la même dans les points d'eau étudiés. Le point d'eau d'arrivée dans l'établissement était négatif pour la recherche de mycobactéries.

Le suivi épidémiologique n'est pas encore abouti et nous restons vigilants sur la survenue de nouveaux cas d'infections, en particulier si l'établissement retire les filtres à certains points d'eau.

Figure des comparaisons génomiques des souches de *M. chelonae* isolées des patients (écriture noire) ou de l'eau (écriture verte) pour les établissements 1 et 2 avec des souches autres en témoins.

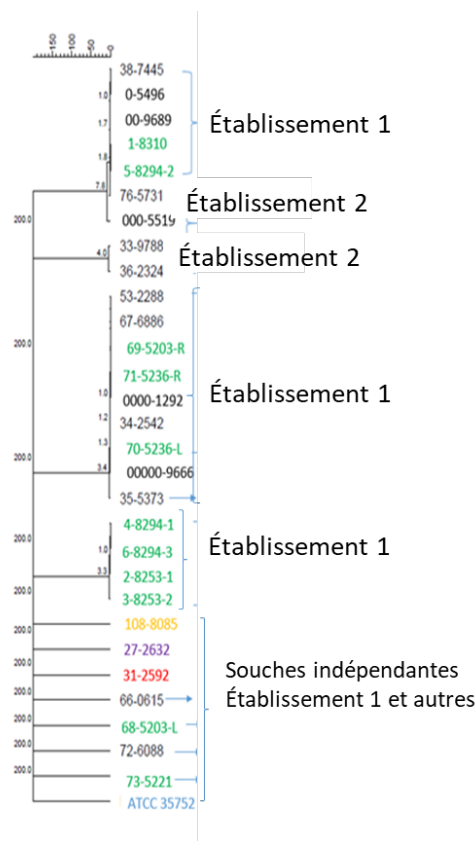


Figure 12. Comparaison génomique des souches de *Mycobacterium chelonae* responsables d'infections dans les hôpitaux d'une même région

4- Cas de bactériémies à *Mycobacterium fortuitum* à liés à des dispositifs intra-veineux (alerte eSIN 60382)

A la suite d'un signalement eSin, nous avons expertisé 5 souches de *M. fortuitum subsp. fortuitum* isolées de bactériémies ainsi que 7 prélèvements d'eau des douches des chambres des patients. Les patients étaient hospitalisés dans deux établissements différents d'un même département outre-mer. Pour deux patients d'un même établissement, la même souche a été trouvée dans l'eau de la douche. Pour les patients de l'établissement 2, les prélèvements d'eaux ont aussi été positifs avec des mycobactéries du complexe fortuitum mais d'espèce différente. Ceci montre l'importance de faire une identification précise de l'espèce, que nous faisons par séquençage génique (gènes *hsp65* et *rpoB* si besoin), et par spectrométrie maldi-tof, éventuellement du WGS si les résultats sont discordants.

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-MNT-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> 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.

Le site a également permis de relayer l'alerte de reactovigilance concernant les tests de sensibilité au pyrazinamide et les conseils afférents donnés par le CNR-MyRMA.

5.1.2 RCP tuberculoses complexes

Au total 132 dossiers ont été discutés par le Groupe thérapeutique au cours des 21 sessions de 2024 pour 106 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 4 réunions.

Distribution des 132 dossiers :

- 39 cas de TB MDR,
- 6 ITL MDR,
- 57 TB compliquées non MDR (monorésistance aux antituberculeux, toxicité, etc),
- 18 aggravations paradoxales,
- 12 problèmes diagnostiques.

En 2024, 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).

Tendances évolutives 2006-2024 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 2024, cette activité a diminué d'environ 50% du fait d'un transfert vers des avis directs du CNR sans passer par la RCP (cf. infra).

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

En 2024, 1013 conseils ont été donnés :

- 24% pour traitement de mycobactériose,
- 40% pour traitement de tuberculose compliquée,
- 14% pour traitement de tuberculose MDR,
- 13% pour problème diagnostique ,
- 8% pour conseil technique.

5.1.3 RCP des infections à mycobactéries non tuberculeuses

En 2024, nous avons eu 12 réunions de la RCP MNT au cours desquelles nous avons examiné et discuté les cas de 132 patients atteints d'infections à mycobactéries non tuberculeuses.

Il s'agissait pour environ la moitié d'infections respiratoires (71/132, 53,8%) chez des personnes ayant une pathologie broncho-pulmonaire chronique (bronchiectasie, BPCO, cancer, mucoviscidose ...) dont 10 cas de mucoviscidose avec des infections à *M. abscessus* et dont 34 infections respiratoires à *M. avium* complex (14 *M. avium*, 10 *M. intracellulare*, 10 *M. chimaera*). Les autres infections sont à *M. abscessus* (13), *M. szulgai* (3), *M. kansasii* (1), *M. xenopi* (5), *M. malmoense* (1), *M. lentiflavum* (1).

Pour l'autre moitié (61/132, 46,2%), il s'agissait d'infections extra-respiratoires observées chez des patients immunodéprimés (pathologies cancéreuses ou hémopathies, SIDA, immunosuppresseurs au long cours) dont 27 infections généralisées, 1 méningite post-opératoire, 14 infections cutanées chez des patients ayant eu une inoculation directe liée aux soins ou à un geste esthétique, 17 infections ostéo-articulaires après chirurgie ou inoculation faisant suite à un traumatisme et 2 adénopathies de l'enfant.

Depuis 2019, 636 dossiers ont été discutés lors de la RCP MNT du CNR-MyRMA dont 342 infections pulmonaires (53,7%) et 294 infections extra-pulmonaires (46,3%). Ces dossiers concernaient 476 patients, car le dossier d'un même patient peut être rediscuté, de 1 à 4 fois, pour 25% des dossiers. Les infections sont dues majoritairement à *M. avium* complex (30% des cas) ou à *M. abscessus* (27%).

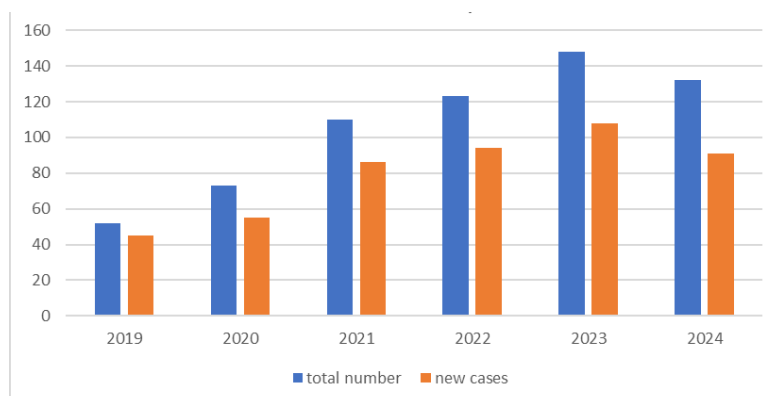


Figure 13. Nombre de cas d'infections discutés lors de la CRP "mycobactéries non tuberculeuses"

Nous ferons une étude rétrospective plus complète en 2025.

5.1.4 RCP lèpre

En 2024, nous avons eu 11 réunions au cours desquelles nous avons examiné et discuté les dossiers pour 38 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 ou prise en charge d'un nouveau cas (n=19); prise en charge de troubles neurologiques liés à la lèpre (n=2), suivi sous traitement le plus souvent à cause de manifestations d'intolérance ou de nouveaux signes suspects de réaction lépreuse (n=6), prise en charge de réactions de type 1 (n=2) 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 et nous ferons une étude rétrospective en 2025.

5.1.5 Accueil de stagiaires ou visiteurs

En 2024, le CNR a accueilli :

- une stagiaire post-doctorante de l'école polytechnique de Palaiseau (bourse ANRS-MIE),
- quatre stagiaires du DU Tuberculose : 6 jours,
- un stagiaire du centre Pasteur du Cameroun pour renforcement des capacités et partage d'expérience,
- un stagiaire Master-1,
- un étudiant en médecine (externe),
- un stagiaire Master-2,
- un biologiste du CHU de Papeete (Polynésie Française) : 1 jour.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

HAS

- Réponse à la demande de l'HAS pour l'actualisation des recommandations des tests IGRA pour l'infection tuberculeuse (septembre 2024 et février 2025, E. Cambau)

ANSM

- Poursuite des investigations sur les endocardites à mycobactéries sur bioprothèses (E. Cambau)

ARS

- Participation à l'investigation liées aux alertes avec les ARS régionales (cf supra)

CASFM

- Organisation et animation du groupe de travail de révisions des recommandations pour l'antibiogramme des mycobactéries non tuberculeuses publiées par le CA-SFM (première publication en 2019) (A. Aubry, F. Mougari, N. Veziris)

ECDC / OMS

- Réunion d'étude organisée par Global Programme for Zero Leprosy, mai 2024, Bergen
- Participation aux conférences organisées par l'ECDC sur les laboratoires de référence (J. Robert, E. Cambau)
- Participation comme représentant de l'ESCMID au EU/EEA Tuberculosis Disease Network Meeting coordonné par l'ECDC ; participation au TB Monitoring Advisory Group de 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)
- Révision des recommandations de l'OMS sur le traitement de la tuberculose résistante aux médicaments (L. Guglielmetti)
- Réunion du réseau des laboratoires de référence de la tuberculose (Bratislava septembre 2024, J. Robert)
- Réunion des technical advisory group pour l'OMS lèpre en juin 2024 (visio) et octobre 2024 (Delhi) (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)
- Organisation d'un cours international de 3 jours avec l'ESCMID et ILEP à Bergen (Norvège) : « Leprosy, back to the future », Mai 2024, E. Cambau

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 SF2H sur les précautions complémentaires en cas de tuberculose pulmonaire

AUTRES

- Participation aux activités d'animation scientifique du Groupe de Travail sur les nouvelles stratégies thérapeutiques et vaccinales (GT3) de l'ANRS
- 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 ...)

- Conférence pour l'association de patients, Mon Poumon Mon Air : 2024. La recherche de nouveaux traitements pour les mycobactéries non tuberculeuses. N. VEZIRIS
- Interview pour le journal de la Fondation Raoul Follereau, Aider les autres à vivre, A. AUBRY.

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

6.1 Activités de recherche lors de l'année 2024

Le résumé des travaux 2024 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 un consensus d'experts d'un réseau international sur les standards à respecter et la prise en charge la plus adaptée pour la tuberculose chez les patients migrants en Europe (Kunst et al, ERJ)
- Evaluation par le biais d'un réseau européen de l'accès aux tests de résistance pour les médicaments inclus dans le nouveau traitement de choix pour la tuberculose MDR (BPALM) en Europe (Günther et al, Clinical Microbiology)
- Participation à un travail visant à analyser l'activité et le mode d'action de nouveaux inhibiteurs d'ADN gyrase (Gedeon A, Yab E, Dinut A, Sadowski E, Capton E, Dreneau A, Petit J, Gioia B, Piveteau C, Djaout K, Lecat E, Wehenkel AM, Gubellini F, Mechaly A, Alzari PM, Deprez B, Baulard A, Aubry A, Willand N, Petrella S. Molecular mechanism of a triazole-containing inhibitor of Mycobacterium tuberculosis DNA gyrase. iScience. 2024 Sep 16;27(10):110967. doi: 10.1016/j.isci.2024.110967. PMID: 39429773; PMCID: PMC11489056.
- Evaluation de l'efficacité de différentes posologies pour le traitement de la tuberculose dans des modèles pré-cliniques de tuberculose (Maitre T, Godmer A, Mory C, Chauffour A, Mai TC, El Helali N, Aubry A, Veziris N. Levofloxacin activity at increasing doses in a murine model of fluoroquinolone-susceptible and -resistant tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. 2024 Nov 6;68(11):e0058324. doi: 10.1128/aac.00583-24. Epub 2024 Oct 16. PMID: 39412267; PMCID: PMC11539234).
- Nous avons fait une analyse des données de séquençage parmi plus de 100,000 génomes au sein du complexe Mycobacterium tuberculosis à l'aide du logiciel TB-Annotator, une plateforme et base de données publiées ou propriétaires et nous avons mis en évidence l'existence d'une nouvelle lignée de bacilles de la tuberculose, inconnue jusqu'à présent, à laquelle nous avons donné le nom de L10, et qui n'a été retrouvée qu'en Afrique centrale (Congo et RDC) pour l'instant. La reconstruction phylogénétique suggère que L10 pourrait représenter un chaînon manquant dans l'histoire de l'évolution et de la migration géographique de M. africanum, une ancienne sous-espèce du complexe Mycobacterium tuberculosis, et pour lesquels on ne connaissait que 3 lignées jusqu'à alors : L5 (West-African 1), L6 (West-African 2) et L9 (East-Africa). Guyeux C, Senelle G, Le Meur A, Supply P, Gaudin C, Phelan JE, Clark TG, Rigouts L, de Jong B, Sola C, Refrégier G. Newly Identified Mycobacterium africanum Lineage 10, Central Africa. Emerg Infect Dis. 2024 Oct;30(3):560-563. doi: 10.3201/eid3003.231466.

6.1.2 Mycobactéries non tuberculeuses

- Participation à une étude décrivant les cas d'infections ostéo-articulaires à MNT survenues en France pendant 9 ans (Bémer P, Aubry A, Schramm F, Koebel C, Revillet H, Baltes V, Le Brun C, Chazerain P, Zeller V, Hamdad F, Morand PC, Guillouzouic A, Piau C, Roux AL, Soueges S, Martin C, Gaudart A, Hüssler S, Fihman V, Carricajo A, Caruba CG, Bador J, Dauchy FA, Dutronc H, Vignals C, Peuchant O; French NTM BJIs study group. Clinical features and treatment outcomes of bone and joint nontuberculous mycobacterial infections according to immune status: a 9-year retrospective observational cohort. Int J Infect Dis. 2024 Sep;146:107122. doi: 10.1016/j.ijid.2024.107122. Epub 2024 May 31. PMID: 38823623).
- Mise au point d'un modèle basé sur l'apprentissage automatique (Machine Learning) pour améliorer l'identification des mycobactéries du complexe *abscessus* à partir des spectres obtenus par spectrométrie de masse à temps de vol assistée par désorption/ionisation laser matricielle (MALDI-TOF) pour (Godmer A, Bigey L, Giai-Gianetto Q, Pierrat G, Mohammad N, Mougari F, Piarroux R, Veziris N, Aubry A. Contribution of machine learning for subspecies identification from Mycobacterium abscessus with MALDI-TOF MS in solid and liquid media. Microb Biotechnol. 2024 Sep;17(9):e14545. doi: 10.1111/1751-7915.14545. PMID: 39257027; PMCID: PMC11387462).

- Revue des infections extra-pulmonaires à *M. abscessus* afin d'en savoir plus sur l'origine des infections, les issues de traitement et le pronostic. Quasiment toutes les infections sont liées à une inoculation liée aux soins ou à un traumatisme, sans qu'on trouve facilement *M. abscessus* dans l'environnement. A part les personnes très immunodéprimées, le pronostic est favorable après 6 mois de traitement contenant au moins 3 antibiotiques parmi ceux recommandés actuellement (imipénème, tigécycline, amikacine, macrolides pour les souches sensibles). Heid-Picard, B., Mougari, F., Pouvaret, A., Lanternier, F., Awad, Z., Bille, E., Lortholary, O., Cambau, E., & the Mabsc Study Group. (2024). Extrapulmonary Mycobacterium abscessus Infections, France, 2012–2020. *Emerging Infectious Diseases*, 30(11). <https://doi.org/10.3201/eid3011.240459>

6.1.3 Lèpre

- Description de cas de lèpre avec des réactions lépreuses pour lesquels l'apremilast et l'ustekinumab ont été efficaces (Mengeot, L., Jachiet, M., Bourrat, E., Mahé, A., Cambau, E., Bernard, E., Pasqualini, C., Chamouine, A., Truong, J., Dumaine, C., Bertolotti, A., & Franco, J. (2024). 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*, 38(3). <https://doi.org/10.1111/jdv.19552>
- (Mengeot et al.).
- Fin de l'étude multicentrique EDCTP PEOPLE qui visait à évaluer l'efficacité de la chimioprophylaxie par rifampicine des personnes en contact avec un cas de lèpre. Cette étude s'est déroulée pendant 4 ans à Madagascar et aux Comores en incluant 64 villages avec environ 265 cas de lèpre et 100 000 cas contacts. Une dose de 20 mg/Kg de rifampicine était donnée soit aux personnes habitant la maisonnée, soit celles vivant dans les 100 m autour du cas dans le village, soit celles qui ont eu une sérologie IgM antiPGL-1 positive. Globalement la SDR-PEP a eu un effet protecteur, avec un IRR de 0,55 (intervalle de confiance à 95 % de 0,36 à 0,83), ce qui est comparable aux études précédentes. Le risque de lèpre était deux à quatre fois plus élevé pour les personnes vivant à moins de 75 mètres d'un cas index (Hasker, E., Assoumani, Y., Randrianantoandro, A., Ramboarina, S., Braet, S. M., Cauchoix, B., Baco, A., Mzembaba, A., Salim, Z., Amidy, M., Grillone, S., Attoumani, N., Grillone, S. H., Ronse, M., Peeters Grietens, K., Rakoto-Andrianarivelo, M., Harinjatovo, H., Supply, P., Snijders, R., ... Cambau E., De Jong, B. C. (2024). Post-exposure prophylaxis in leprosy (PEOPLE): a cluster randomised trial. *The Lancet Global Health*, 12(6), e1017–e1026. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(24\)00062-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(24)00062-7).

6.2 Liste des publications et communications de l'année 2024 concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

En 2024, le CNR-MyRMA a publié

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

EN 2024, le CNR-MyRMA a participé dans des congrès ou symposiums à

- 30 communications sur invitation
- 4 communications scientifiques.

6.2.1 Publications internationales

1. Aliberti, S., Blasi, F., Burgel, P.-R., Calcagno, A., Fløe, A., Grogono, D., Papavasileiou, A., Polverino, E., Prados, C., Rohde, G., Salzer, H. J. F., Sánchez-Montalvá, A., Shteinberg, M., Van Braeckel, E., Van Ingen, J., Veziris, N., Wagner, D., & Loebinger, M. R. (2024). *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease patients with limited treatment options. *ERJ Open Research*, 10(1). <https://doi.org/10.1183/23120541.00610-2023>
2. Bémer, P., Aubry, A., Schramm, F., Koebel, C., Revillet, H., Baltes, V., Brun, C. L., Chazerain, P., Zeller, V., Hamdad, F., Morand, P. C., Guillouzouic, A., Piau, C., Roux, A.-L., Soueges, S., Martin, C., Gaudart, A., Hüssler, S., Fihman, V., ... Peuchant, O. (2024). Clinical features and treatment outcomes of bone and joint nontuberculous mycobacterial

- infections according to immune status: a 9-year retrospective observational cohort. *International Journal of Infectious Diseases*, 146. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2024.107122>
3. Bes-Berlandier, H., Garzaro, M., Rouzaud, C., Bodard, S., Bille, E., Ficheux, M., Cazals-Hatem, D., Veziris, N., Lanternier, F., & Lortholary, O. (2024). Successful rescue TNF- α blocking for *Mycobacterium genavense* – Related immune reconstitution inflammatory syndrome: A case report. *Heliyon*, 10(7), e29341. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29341>
 4. Cambau, E., Delogu, G., Van Ingen, J., Herrmann, J.-L., & Winthrop, K. (2024). All you want to know about *Mycobacterium abscessus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 30(6), 709–711. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.02.019>
 5. Friesen, I., Saluzzo, F., Groenheit, R., Aubry, A., Anthony, R., Niemann, S., Mathys, V., Cirillo, D. M., Indra, A., Mathys, V., Atanasova, Y., Obrovac, M., Žmak, L., Pieridou, D., Dvořák, V., Troels Lillebæk, Kummik, T., Klaos, K., Soini, H., ... Werngren, J. (2024). Re: 'Availability of drugs and resistance testing for BPALM regimen for rifampicin-resistant tuberculosis in Europe' by Lange et al. *Clinical Microbiology and Infection*, S1198743X24002775. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.06.001>
 6. Gedeon, A., Yab, E., Dinut, A., Sadowski, E., Capton, E., Dreneau, A., Petit, J., Gioia, B., Piveteau, C., Djaout, K., Lecat, E., Wehenkel, A. M., Gubellini, F., Mechaly, A., Alzari, P. M., Deprez, B., Baulard, A., Aubry, A., Willand, N., & Petrella, S. (2024). Molecular mechanism of a triazole-containing inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* DNA gyrase. *IScience*, 27(10), 110967. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110967>
 7. Godefroy, N., Monsel, G., Jauréguiberry, S., Henry, B., Véziris, N., Aubry, A., Robert, J., Jachym, M., Caumes, E., & Pourcher, V. (2024). Lessons learned from treating drug-resistant TB and how to apply these to drug-susceptible TB. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 28(7), 357–359. <https://doi.org/10.5588/ijtld.23.0548>
 8. Godmer, A., Bigey, L., Giai-Gianetto, Q., Pierrat, G., Mohammad, N., Mougari, F., Piarroux, R., Veziris, N., & Aubry, A. (2024). Contribution of machine learning for subspecies identification from *Mycobacterium abscessus* with MALDI-TOF MS in solid and liquid media. *Microbial Biotechnology*, 17(9), e14545. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14545>
 9. Günther, G., Guglielmetti, L., Kherabi, Y., Duarte, R., & Lange, C. (2024). Availability of drugs and resistance testing for bedaquiline, pretomanid, linezolid, and moxifloxacin (BPAL(M)) regimen for rifampicin-resistant tuberculosis in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 30(9), 1197.e1–1197.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.03.009>
 10. Guyeux C, Senelle G, Le Meur A, Supply P, Gaudin C, Phelan JE, Clark TG, Rigouts L, de Jong B, Sola C, Refrégier G. Newly Identified *Mycobacterium africanum* Lineage 10, Central Africa. *Emerg Infect Dis*. 2024 Oct;30(3):560-563. doi: 10.3201/eid3003.231466.
 11. Hasker, E., Assoumani, Y., Randrianantoandro, A., Ramboarina, S., Braet, S. M., Cauchoux, B., Baco, A., Mzembaba, A., Salim, Z., Amidy, M., Grillone, S., Attoumani, N., Grillone, S. H., Ronse, M., Peeters Grietens, K., Rakoto-Andrianarivelo, M., Harinjatovo, H., Supply, P., Snijders, R., ... Cambau E., De Jong, B. C. (2024). Post-exposure prophylaxis in leprosy (PEOPLE): a cluster randomised trial. *The Lancet Global Health*, 12(6), e1017–e1026. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(24\)00062-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(24)00062-7)
 12. Heid-Picard, B., Mougari, F., Pouvaret, A., Lanternier, F., Awad, Z., Bille, E., Lortholary, O., Cambau, E., & the Mabsc Study Group. (2024). Extrapulmonary *Mycobacterium abscessus* Infections, France, 2012–2020. *Emerging Infectious Diseases*, 30(11). <https://doi.org/10.3201/eid3011.240459>
 13. Kikhney, J., Friesen, I., Wiesener, S., Kursawe, L., Loddenkemper, C., Zündorf, J., Häuser, B., Cónsul Tejero, E. P., Schöning, D. V., Sarbandi, K., Hillemann, D., Kuhns, M., Stegemann, M. S., Pfäfflin, F., Klefisch, F.-R., Düsterhöft, V., Haller, S., Laer, A. V., Eckmanns, T., E. Cambau, ... Moter, A. (2024). Endocarditis associated with contamination of cardiovascular bioprostheses with *Mycobacterium chelonae*: a collaborative microbiological study. *The Lancet Microbe*, 5(12), 100934. <https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.06.001>
 14. Kunst, H., Lange, B., Hovardovska, O., Bockey, A., Zenner, D., Andersen, A. B., Hargreaves, S., Pareek, M., Friedland, J. S., Wejse, C., Bothamley, G., Guglielmetti, L., Chesov, D., Tiberi, S., Matteelli, A., Mandalakas, A. M., Heyckendorf, J., Eimer, J., Malhotra, A., ... for the TBnet. (2024). Tuberculosis in adult migrants in Europe: a TBnet consensus statement. *European Respiratory Journal*, 2401612. <https://doi.org/10.1183/13993003.01612-2024>
 15. Lange, C., Kherabi, Y., Guglielmetti, L., Duarte, R., & Günther, G. (2024). Availability of drugs and resistance testing for bedaquiline, pretomanid, linezolid, and moxifloxacin (BPAL(M)) regimen for rifampicin-resistant tuberculosis in Europe: author's response. *Clinical Microbiology and Infection*, 30(9), 1207–1208. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.06.009>
 16. Leymarie, A., Thibon, P., Bernigaud, C., Daurel, C., Ouedraogo, E., Lheure, C., Lemaitre, N., Cribier, B., Calugareanu, A., Ducroux, E., Baron, S., Vanhaecke, C., Lehericey, M., Goujon, E., Allard, T., Fouéré, S., Dompmartin, A., Chosidow, O., Robert, J., ... for Gr/IDIST (Groupe Infectiologie Dermatologique et Infections Sexuellement Transmissibles). (2024). *Mycobacterium chelonae* cutaneous infections unrelated to invasive procedures: A multicentre

retrospective case series. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, jdv.20521. <https://doi.org/10.1111/jdv.20521>

17. Loebinger, M. R., Aliberti, S., Haworth, C., Jankovic Makek, M., Lange, C., Lorent, N., Papavasileiou, A., Polverino, E., Rohde, G., Veziris, N., Wagner, D., & Van Ingen, J. (2024). Patients at risk of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease who need testing evaluated using a modified Delphi process by European experts. *ERJ Open Research*, 10(5), 00791–02023. <https://doi.org/10.1183/23120541.00791-2023>
18. Maitre, T., Baulard, A., Aubry, A., & Veziris, N. (2024). Optimizing the use of current antituberculosis drugs to overcome drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Infectious Diseases Now*, 54(1), 104807. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2023.104807>
19. Maitre, T., Godmer, A., Mory, C., Chauffour, A., Mai, T. C., El Helali, N., Aubry, A., & Veziris, N. (2024). Levofloxacin activity at increasing doses in a murine model of fluoroquinolone-susceptible and -resistant tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, e00583-24. <https://doi.org/10.1128/aac.00583-24>
20. Mengeot, L., Jachiet, M., Bourrat, E., Mahé, A., Cambau, E., Bernard, E., Pasqualini, C., Chamouine, A., Truong, J., Dumaine, C., Bertolotti, A., & Franco, J. (2024). 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*, 38(3). <https://doi.org/10.1111/jdv.19552>
21. Paulowski, L., Filip, R., Jankovic Makek, M., Guglielmetti, L., Goletti, D., Van Ingen, J., Kranzer, K., Maurer, F. P., & on behalf of ESGMYC. (2024). Impact of the COVID-19 pandemic on the real-world diagnostic infrastructure for tuberculosis—An ESGMYC collaborative study. *PLOS ONE*, 19(4), e0291404. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291404>
22. Rupasinghe, P., Ashraf, A., Barreda, N., Parveen, S., Zubair, M., Calderon, R., Asif, S., Hirani, N., Chingisova, L., Bulane, A., Hang, P. T., Ha, D. T., Ardizzoni, E., Kursheed, N., De Rijk, W. B., Rigouts, L., Guglielmetti, L., Mitnick, C., & De Jong, B. C. (2024). Reduced critical concentration might not have improved MGIT-based DST's sensitivity to rifampicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 68(5), e01701-23. <https://doi.org/10.1128/aac.01701-23>
23. Tagliani, E., Kohl, T. A., Ghodousi, A., Groenheit, R., Holicka, Y., Niemann, S., Maurer, F. P., Cirillo, D. M., & Cambau, E. (2024). Appeal from the European tuberculosis reference laboratory network (ERLTB-Net) for improving the diagnosis of infections due to nontuberculous mycobacteria. *Clinical Microbiology and Infection*, 30(1), 4–6. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.06.005>

6.2.2 Publications nationales

1. Bérot, V., Monsel, G., Lecorche, E., Halabi-Tawil, M., Maalouf, D., Pourcher, V., Aubry, A., Cambaud, E., Petit, A., & Caumes, E. (2024). Clinical relevance and prognostic impact of the classification between multibacillary and paucibacillary forms of cutaneous tuberculosis: A 24-year retrospective multicenter study. *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*, 151(4). <https://doi.org/10.1016/j.annder.2024.103324>
2. Kassegne, L., Veziris, N., & Fraisse, P. (2024). Analyse pharmacologique du traitement des pneumopathies à *Mycobacterium abscessus*. *Revue des Maladies Respiratoires*, 41(1), 29–42. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2023.10.010>
3. Maitre, T., Guglielmetti, L., Robert, J., Aubry, A., & Veziris, N. (2024). Avancées dans l'antibiothérapie de la tuberculose. *La Revue Du Praticien*, 74, 239–244.
4. Veziris, N., Aubry, A., Bonnet, I., Petersen, T., Poignon, C., Gydé, E., Guglielmetti, L., & Robert, J. (2024). Actualités sur la tuberculose à bacilles multirésistants aux antibiotiques et ses nouveaux traitements. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 6–7, 127–131. http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2024/6-7/2024_6-7_4.html

6.2.3 Communications orales invitées

NATIONALES

1. E. CAMBAU. "Therapeutic perspective of leprosy (including resistance)". Groupe de travail Telacebec meeting January organisé par la Fondation Raoul Follereau. Janvier 2024.
2. N. VEZIRIS Tuberculose multi-résistante et grossesse : quelles options thérapeutiques ? 44^{ème} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse. Paris. 2024.
3. N. VEZIRIS ; Nouveautés dans le traitement des tuberculoses à mycobactéries résistantes et multi-résistantes. 44^{ème} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse. Paris. 2024.
4. F. MOUGARI. « Microbiologie des infections pulmonaires à MNT : quoi de neuf en 2024? ». 17^e Concertation Multidisciplinaires en Infectiologie- Approche multidisciplinaire pour la prise en charge des infections pulmonaires à mycobactéries non tuberculeuses.
5. F. MOUGARI. Recherche de M. chimaera dans les générateurs thermiques utilisés lors des CEC ». Réunion MycoMed , Société Française de Microbiologie, 10 octobre 2024.

6. J. ROBERT. Epidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux. Journée spécialisée du GEDAC : cycle de bactériologie cutanée – Mycobactéries. Paris 12 décembre 2024
7. A. AUBRY. Diagnostic microbiologique de la tuberculose et des mycobactérioses Journée spécialisée du GEDAC : cycle de bactériologie cutanée – Mycobactéries. Paris 12 décembre 2024
8. N. VEZIRIS. Généralités/taxonomie/ Atteintes cliniques sur la tuberculose et les mycobactéries non tuberculeuses. Journée spécialisée du GEDAC : cycle de bactériologie cutanée – Mycobactéries. Paris 12 décembre 2024
9. A. AUBRY. Contribution of the team « Emergence and diffusion of multiple resistance against antibiotics" (EDIRA)" (Cimi-Paris / Sorbonne Université) to *M. leprae* studies. Telacebec meeting January organisé par la Fondation Raoul Follereau. Janvier 2024.
10. A. AUBRY. CA-SFM 2024 : l'antibiogramme des MNT. Réunion annuelle du Groupe MycoMed de la Société Française de Microbiologie. Paris 10 octobre 2024.
11. A. AUBRY. Session « Les "Incollables" sur les bactéries oubliées du CA-SFM », "Les mycobactéries revisitées", 44ème édition de la Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Paris 16 et 17 décembre 2024.

INTERNATIONALES

1. E. CAMBAU. Update on leprosy, ESCMID Summer school, Utrecht, Juillet 2024
2. E. CAMBAU. "Microbial diagnosis of leprosy", et "old and new anti-leprosy drugs", ESCMID postgraduate course, Bergen, Mai 2024
3. E. CAMBAU. Microbiology of leprosy, GPZL zero transmission symposium, mai 2024, Bergen
4. E. CAMBAU. Tuberculosis : clinical presentation, diagnosis & treatment ; ESCMID Post graduate course, Lausanne Juin 2024
5. E. CAMBAU. Update in diagnostics of infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM), ERS post graduate course, Porto, Juillet 2024
6. E. CAMBAU. Non-tuberculous mycobacterial infections, Atelier lors de la Summer School ESCMID, Utrecht juillet 2024
7. E. CAMBAU. Challenges with phenotypic and genotypic testing in the field of NTMs? European society of mycobacteriology, Juin 2024
8. E. CAMBAU. Antimicrobial resistance (AMR) surveillance in leprosy, technical advisory group de l'OMS lèpre, novembre 2024
9. E. CAMBAU. Setting an external quality assessment (EQA) programme for enhancing capacity building focusing to the microbiological tools used in the diagnosis of leprosy and the detection of drug resistance, Leprosy research Initiatives, Avril 2024, Eindhoven
10. GUGLIELMETTI L. endTB clinical trial: safety results. World Conference of the Union against TB and Lung Diseases, Paris
11. L.GUGLIELMETTI Defeating tuberculosis: challenges, breakthroughs and lessons learnt from projects including clinical research; presentation on "Clinical research in high-incidence countries: the endTB project", May 22 and 23, Barcelona, Spain
12. L.GUGLIELMETTI TB & NTM 2024; presentation on "multidrug-resistant tuberculosis - current developments", Freiburg, Germany, December 4
13. L.GUGLIELMETTI Global TB Clinical and Educational Summit 2024; "9 month regimen for multidrug-resistant tuberculosis"; 8-11 October, London, United Kingdom
14. L.GUGLIELMETTI JNI 2024; "Best of Mycobactériose", 12-14 June, 2024
15. L.GUGLIELMETTI Mycodays 2024, "endTB clinical trial, efficacy and safety of new, shorter treatment regimens for MDR-TB", 3-5 July, Lille
16. L.GUGLIELMETTI Tubercolosi e migrazione; "Nuovi schemi terapeutici nella Tubercolosi MDR", 12 June, Rome
17. L.GUGLIELMETTI ESCMID Global 2024, "Comparison of efficacy and safety between experimental regimens for MDR-TB from the endTB clinical trial", 27-30 April, Barcelona
18. L.GUGLIELMETTI MSF Scientific day 2024, "Results of the endTB clinical trial: improving treatment of multidrug-resistant tuberculosis", 16 May, London, United Kingdom
19. L.GUGLIELMETTI Union World Conference on Lung Diseases, "endTB-Q: Interim results of a randomized controlled trial testing a shorter treatment strategy for pre-XDR-TB", 12-16 November, Bali, Indonesia

6.2.4 Communications orales sans invitation

INTERNATIONALES

1. M. Xenopi Pulmonary Infection: A Randomized Clinical Trial Comparing Rifampin + Ethambutol + Either Clarithromycin or Moxifloxacin: The Camomy Study. C. Andrejak, N. VEZIRIS, F.-X. Lescure, A. Ampere, C. Appere De Vecchi, C. Audoly, F.-X. Blanc, A. Bergeron Lafaurie, E. Bergot, J.-F. Bervar, F. Bildstein, A. Bourdin, D. Boutoille, D. Bouvry, E. Catherinot, F. Claude, F. Couturaud, B. Degano, G. Deslee, M. Dupuy-grasset, F. Gagnadoux, M. Georges, C. Godet, C. Greib, X. Jais, M. Kerjouan, F. Le Meunier, H. Mal, B. Maitre, S. Marchand-Adam, C.-H. Marquette, H. Morel, H. Morisse, A. Nieves, B. Philippe, P. Priou, F. Schlemmer, M. Salaun, P. Tattevin, A. Tazi, J. Cadranet, and V. Jounieaux. American Thoracic Society 2024 International Conference, May 17-22, 2024 - San Diego, CA

NATIONALES

1. Tuberculose pulmonaire : peut-on se passer de l'examen microscopique ? F.Méchaï, T.Billard-Pomares, E.Beugre,O.Bouchaud,E.Carbonnelle, F. Mougari, B. Wyplocz, E.Cambau ,N.Vignier. - Journées dermatologiques de paris, décembre 2024 Paris. - Journée nationales d'infectiologie 2024, juin, Deauville
2. Absès froids multiples du pénis à Mycobacterium bovis au décours d'une BCG thérapie pour un cancer de la vessie non métastatique. A. Jue Denis; G. Monsel; L. Gounelle-Pontanelle; E. Cambau; F. Mougari; S. Fouéré; C. Lebacle; JN. Dauendorfer. - Journées dermatologiques de paris, décembre 2024 Paris.
3. T. Fouchet, M. Rochelet, E. Barbier, A. Hartmann, E. Cambau. A rapid electrochemical method for the detection of viable mycobacteria: application to the diagnosis of tuberculosis in sputum ? Mycodays, SFM, à l'Institut Pasteur de Lille du 3 au 5 juillet 2024.

6.2.5 Communications affichées

INTERNATIONALES

1. Kevin LA, Nicolas GODRON, Zeina AWAD, Josselin NOIREL, Faiza MOUGARI, Typhaine BILLARD-POMARES, Alexandra AUBRY, Etienne CARBONNELLE, Antoine BRIDIER-NAHMIA, Emmanuelle CAMBAU. Genome association study (GWAS) of clinical forms of tuberculosis. ESCMID global, Barcelona, Avril 2024
2. Maxime Dulion, Nicolas Veziris, Alexandra Aubry, Alexandre Godmer. Event: Improved identification of Mycobacterium avium complex by MALDI-TOF coupled with machine learning ESCMID Global 2024, Barcelona, Spain

6.2.6 Organisation : congrès national

1. J. ROBERT. Journée spécialisée du GEDAC : cycle de bactériologie cutanée – Mycobactéries. Paris 12 décembre 2024.

6.2.7 Chapitre d'ouvrage

1. K. La, C. Allam, M. Antar, T. Fouchet, Z. Awad, N. Godron, F. Mougari, C. Sola, A. Bridier-Nahmias, E. Cambau. Mycobacterium tuberculosis. Encyclopédie médico-chirurgicale 2024 90-05-0220-B
2. C. Sola, M. Rabiou Sahal, K La, G. Senelle, C. Guyeux, I. Mokrousov, G. Refrégier, E. Cambau . Mycobacterium tuberculosis complex genomic diversity, phylogeography and population structure. In: Genetics and Evolution of Infectious Diseases, (Editor : Michel Tibayrenc). 3rd edition, Elsevier, in Press (19 July 2024) p.683-p.772 (89 pages).

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. La rédaction est en cours afin de standardiser les pratiques analytiques au sein des différents laboratoires. Le protocole a été soumis pour publication début 2025. Nous participons aussi au contrôle de qualité AGLAE pour la recherche de mycobactéries dans l'eau de réseau.

8 Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Etudes épidémiologiques et cliniques sur la tuberculose

Le programme 2025 est dans la suite de celui de 2024 :

- Multi-résistance et ultra-résistance

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.

- 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). En 2024, la mise en place de l'essai a continué, avec la finalisation du protocole d'étude et la composition du Comité de Surveillance Indépendant. L'inclusion des patients dans cette étude commencera en 2025.

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 7 sites français en 2025.

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. L'étude est en phase de mise en place en France.

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, bédaquiline) 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 (bédaquiline, 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, 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).

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).

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 (Respi-TB et Respi-NTM) et nationaux (projets ANR DETONATOR et MUSTART financés par l'ANR).

Nous participons également à la surveillance de la sensibilité aux nouveaux antituberculeux, y compris le prétomanide 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 RespiTB.

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 respiNTM.

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 continuerons 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 poursuivons notre 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 était un des objectifs de 2024 (Master 2 Pierre Baylac et Salim Agsous) et les travaux en cours seront publiés en 2025.

Nous étudierons aussi les différentes espèces incluses sous le nom du complexe *fortuitum* car nous avons de plus en plus d'infections extra-pulmonaires liées à ces espèces dont certaines liées aux soins.

8.6 Lèpre

Nous étudions les caractéristiques génotypiques de la résistance acquise aux antiléproux 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. Nous poursuivons notre collaboration avec la DASS de la Nouvelle Calédonie pour l'étude de la transmission de la lèpre, en particulier dans les habitats insulaires, dont les résultats seront analysés en 2024.

Nous poursuivons notre 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 est maintenant disponible au CNR-MyMRA pour aider au suivi des réactions lépreuses et dans le cadre d'investigation autour des cas (voir supra 2024).

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](https://www.santepubliquefrance.fr/)) 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



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

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)
- Esther GYDE (APHP)
- Tania PETERSEN, AHU (APHP et Sorbonne Université)
- Corentin POIGNON, AHU (APHP et Sorbonne Université)
- Lorenzo GUGLIELMETTI, Praticien attaché (Santé publique France)
- Nicolas DELETTRE (APHP)

Cadre de Laboratoire

- Nathalie BACON (APHP)

Ingénieure de recherche

- Aurélie CHAUFFOUR (fond associatif)
- Inez HERMANN (Santé publique France)

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

- Adline MICHAUD (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

- Melissa NAIT CHABANE , 1 ETP, Santé publique France)
- Salim AGSOUS (0,67, Santé publique France, alternance master 2)
- Théo FOUCHET (0,12, Santé publique France)
- Raphaëlle PAOUNOV (0,08, Santé publique France)
- Nicolas GODRON(0,25, 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 (Miltényi)
- 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

CF annexe 4

- 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). Un 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 ; un autre CQE est organisé par l'IQLS, seul le laboratoire coordinateur y a participé en 2024.
- (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 ». En 2024, les deux laboratoires y ont participé.
- (c) prélèvements de sérums pour le diagnostic d'infection tuberculeuse par tests IGRA (6*/an) : UK NEQAS Interferon Gamma Release Assays (IGRA).
- (d) recherche de mycobactéries dans l'eau de réseau avec AGLAE (2 fois par an)

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, linézolide, bédaquiline, clofazimine, délamanide, et prétomanide).
- 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 (ofloxacin, moxifloxacin, éthionamide, linézolide, amikacine, capréomycine, bédaquiline, 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* y compris le prétomanide et la clofazimine
- 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, moxifloxacin, 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 6. 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 CM 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 7. 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
		Deeplex Myc-TB®	Rifampicine, isoniazide, éthambutol, pyrazinamide, streptomycine, fluoroquinolones, linézolide, bédaciline, clofazimine, éthionamide, kanamycine, capréomycine, amikacine
		<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
		<i>rrs, eis, tlyA</i>	éthionamide
		<i>rpsL, gid</i> <i>embA, embB, embC-A</i> <i>rrl, rplC</i> <i>atpE</i> <i>Rv0678, pepQ, Rv1979c</i> <i>alr, ddiA, cycA fgd1, fbiA, fbiB, fbiC, fbiD, ddn</i>	amikacine, kanamycine, capréomycine, streptomycine streptomycine éthambutol linézolide bédaciline bédaciline, 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>	Lepae-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 8. 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.

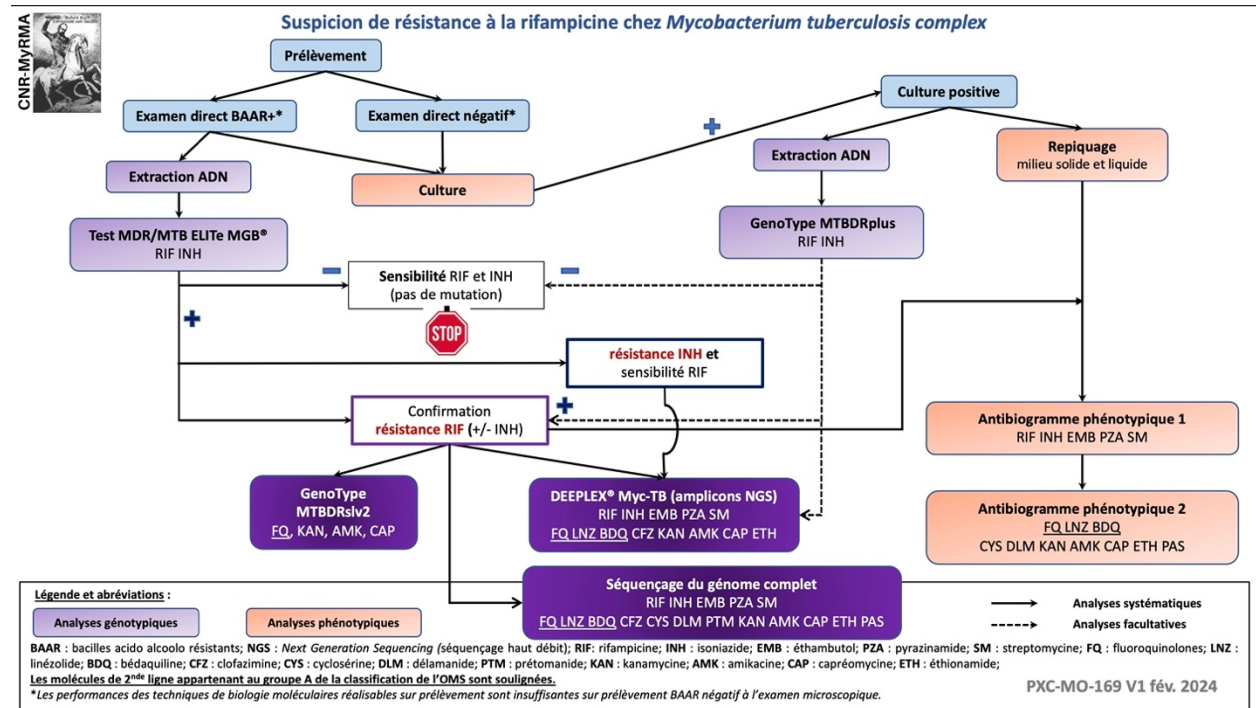


Figure 14. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance à la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis*

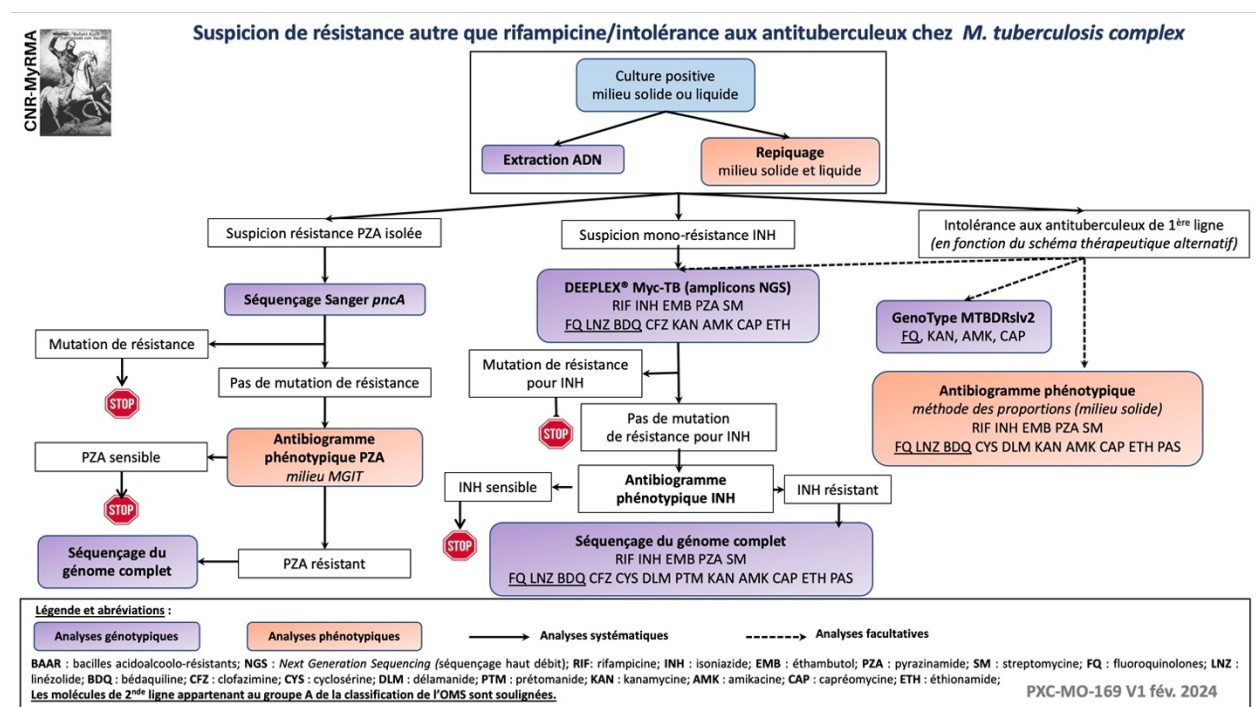


Figure 15. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de résistance autre que la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis*



Typage moléculaire pour comparaison de souches de *M. tuberculosis complex*

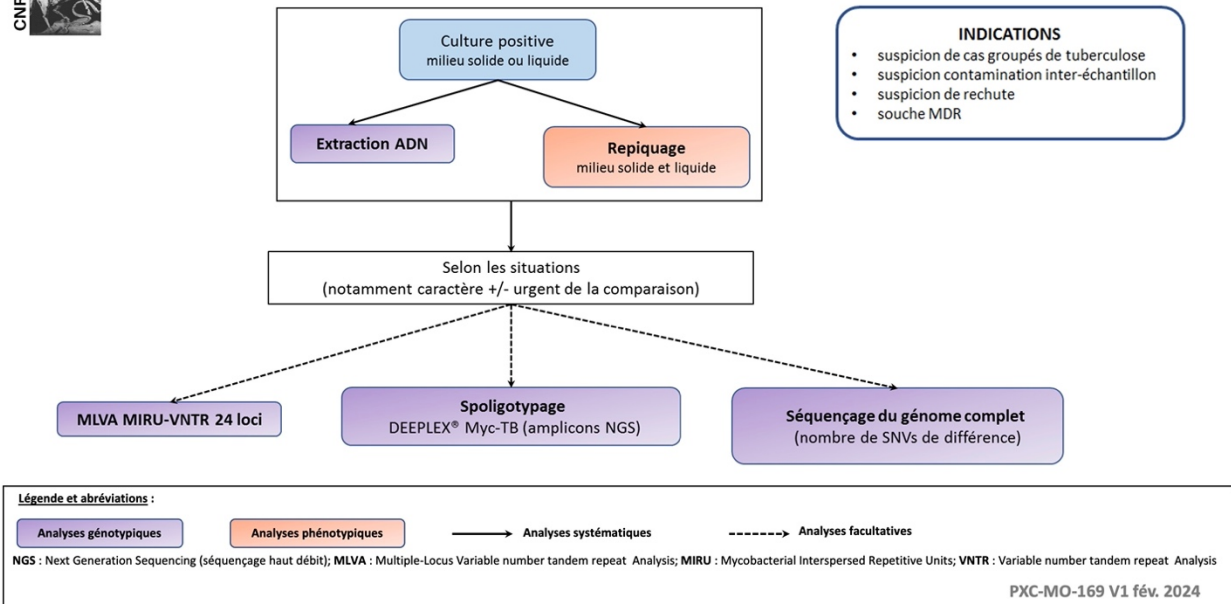


Figure 16. Logigramme pour le typage moléculaire pour comparaison de souches de *M. tuberculosis*



Mycobactéries non tuberculeuses : identification et diagnostic de la résistance aux antimycobactériens

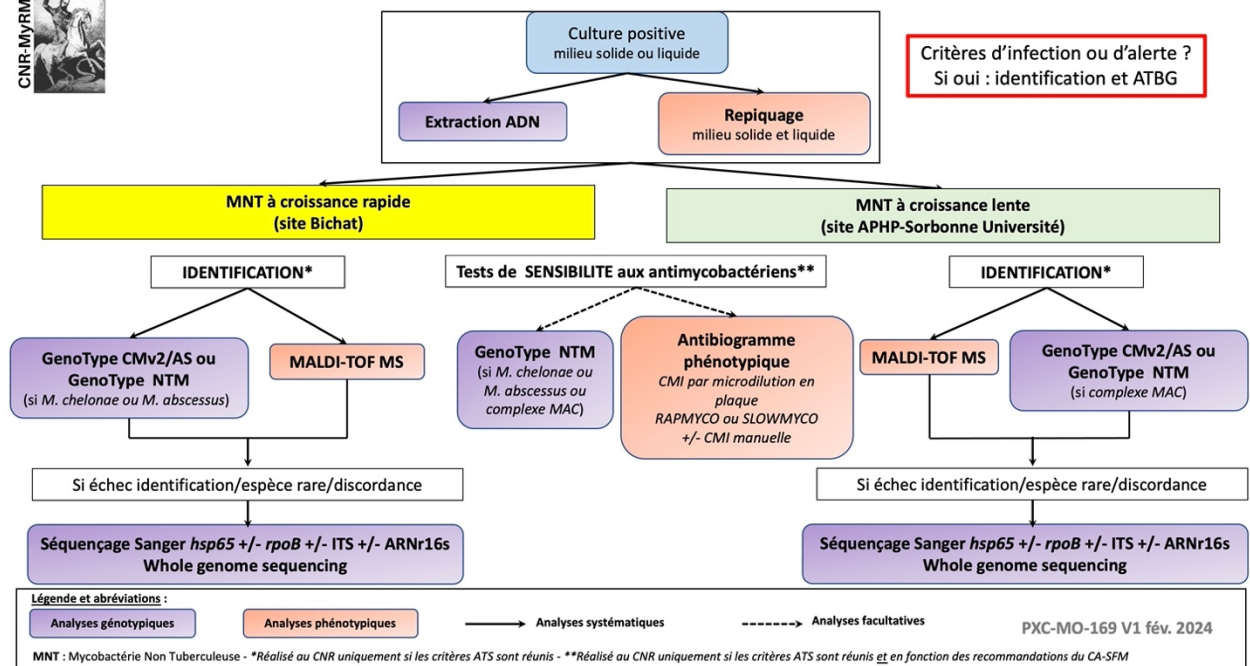


Figure 17. Logigramme pour identification et diagnostic de la résistance aux antimycobactériens chez les mycobactéries non tuberculeuses

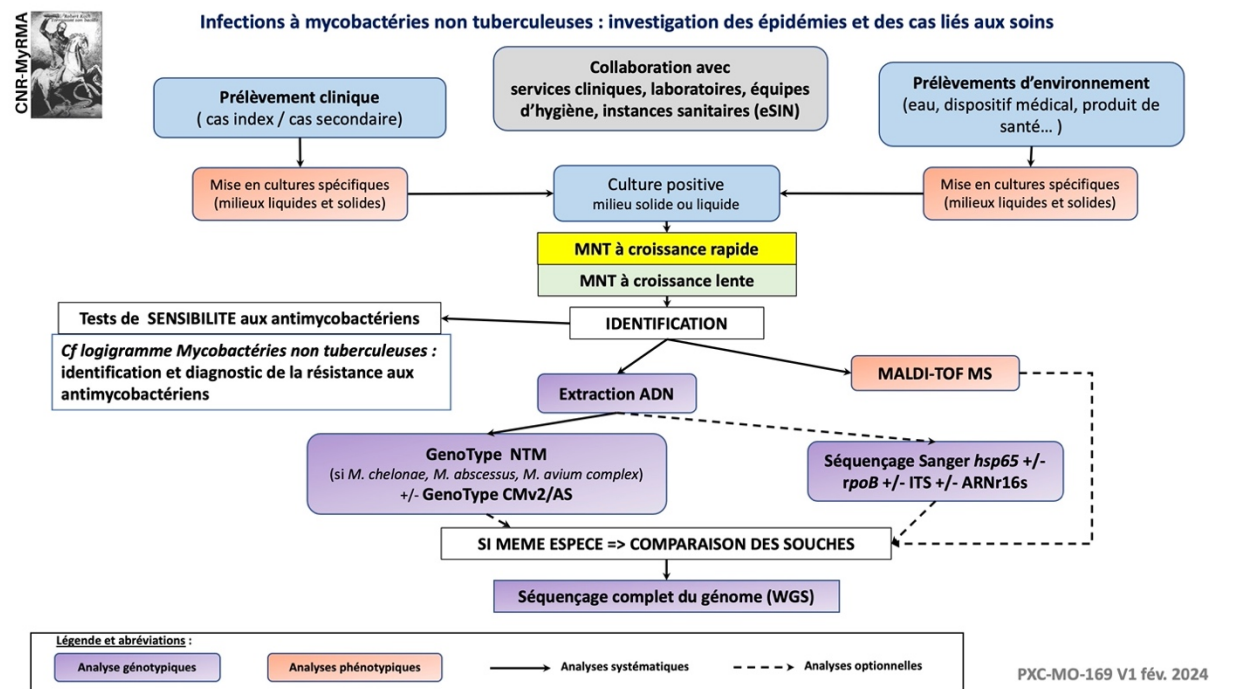


Figure 18. Logigramme pour l'investigation des épidémies et des cas liés aux soins lors d'infections à mycobactéries non tuberculeuses

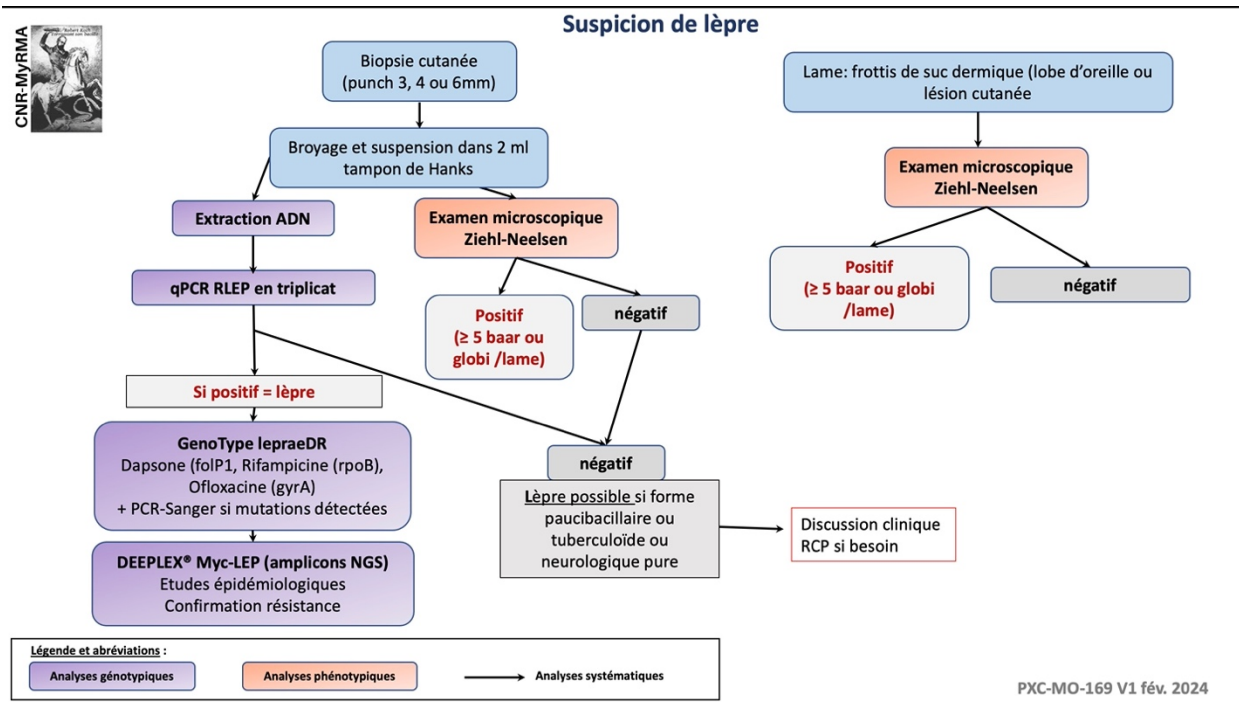


Figure 19. Logigramme pour le diagnostic microbiologique en cas de suspicion de lèpre

- 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 2024-25</u>
<u>Tuberculose</u>	<u>2/mois</u>	<u>5 à 10</u>	• TB MDR (cas ou contacts) • Autres résistances • Toxicité antituberculeux • Aggravations paradoxales	• Sanatorium (M. Jachym) • Pédiatres (G. Thouvenin) • Immunologiste (A. Bourgarit) • Infectiologue (C. Pouderoux)	• Recommandation du régime BDLM de 6 mois en adaptation à la difficulté d'accès au prêtomanide. Recommandation de la chimioprophylaxie par lévofloxacine 6 mois pour les ITL présumées MDR
<u>Mycobactéries Non Tuberculeuses</u>	<u>1/mois</u>	<u>10 à 15</u>	• Infections respiratoires et extra-respiratoires à MNT	• Pneumologues (C. Andrejak, FX. Blanc) • Infectiologues (L. Bernard, B. Heid) • Dermatologue (M. Jachiet, D. Kottler)	• Augmentation des demandes d'infection extra-pulmonaire type IAS • Diminution mucoviscidose
<u>Lèpre</u>	<u>1/mois</u>	<u>4 à 5</u>	• Diagnostic, réactions lépreuses, suspicion de rechute	• Dermatologues (M. Jachiet, A. Mahé) • Chirurgien léprologue (MY Grawvin) + neurologue (T Maisonobe) • Infectiologues (G. Monsel)	• Augmentation des demandes • Ouvert aussi aux DROM (Guyane, Martinique, Nlle Calédonie, Réunion)

ANNEXE 4 : RECENSEMENT DES COLLECTIONS DE MATERIELS BIOLOGIQUES (NON DESTINEES A ETRE RENDUES PUBLIQUES)

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 9).

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

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.

Tableau 9. 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	<u>erm41 bolletii, rrl</u> <u>a2058c</u>	CMI de la clarithromycine (mg/L) J14 >512 mg/L
Mm51	<u>erm41massiliense, rrl</u> <u>a2058t</u>	CMI de la clarithromycine (mg/L) J14 >256 mg/L
T41.6	<u>Eem41abscesus T28 rrl</u> <u>a2059g</u>	CMI de la clarithromycine (mg/mL) J14 >512 mg/L

C- CONDITIONS DE MISE A 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/>).