

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

| | | |
|----------------------|---------------|----------------------|
| Bactériologie | 16BAC2 | décembre 2016 |
|----------------------|---------------|----------------------|

Identification mycobactéries : *M. tuberculosis* (5), *M. fortuitum* (1), *M. intracellulare* (1)
Antibiogramme 3 souches *M. tuberculosis* : sensible, RIF-R, INH-R.

juin 2017

Muriel FROMAGE (Ansm)

Alexandra AUBRY et Nicolas VEZIRIS (CNR des mycobactéries et de la résistance aux antituberculeux)

Expédition : 30 novembre 2016

Clôture : 30 janvier 2017

Edition des compte-rendus individuels : 22 mars 2017

Paramètres contrôlés :

Identification mycobactéries (au minimum *Mycobacterium tuberculosis* complex)

Antibiogramme *Mycobacterium tuberculosis* (au minimum détection de la résistance à la rifampicine et à l'isoniazide)

Nombre de laboratoires concernés* : 83

Nombre de laboratoires participants** : 83

* Laboratoires ayant déclaré à l'Ansm pratiquer au moins une des analyses concernées par l'envoi

** Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

Parmi les 83 LBM inscrits à l'opération CNQ « mycobactéries », on distingue d'une part, 26 laboratoires ayant déclaré ne réaliser que l'identification (au minimum *Mycobacterium tuberculosis* complex) et d'autre part, 57 laboratoires ayant déclaré réaliser l'identification (au minimum *M. tuberculosis* complex) et l'antibiogramme de *M. tuberculosis* (au minimum la détection de la résistance à la rifampicine et à l'isoniazide).

Les premiers ont reçu, pour identification, deux mycobactéries atypiques (*M. fortuitum* et *M. intracellulare*) et trois souches de *M. tuberculosis* sensibles à tous les antituberculeux dont la souche *M. tuberculosis* H37Rv. Les seconds ont reçu, pour identification et antibiogramme, les mêmes mycobactéries atypiques ainsi que la souche *M. tuberculosis* H37Rv, accompagnées de deux souches *M. tuberculosis* monorésistantes, l'une RIF-R et l'autre INH-R. Les quatre antituberculeux à tester étaient les suivants : rifampicine (RIF), isoniazide (INH), éthambutol (EMB) et streptomycine (STR).

A l'exception d'un LBM qui a répondu « *M. canettii* » pour chacune des 3 souches *M. tuberculosis* qu'il avait à identifier, l'identification des 5 souches *M. tuberculosis* proposées lors de cette opération de contrôle n'a pas posé de problème (100% de réponses exactes).

En ce qui concerne l'identification des deux mycobactéries atypiques, on note respectivement 100% et 91,6% de réponses correctes pour *M. fortuitum* et *M. intracellulare*. En effet, sept LBM utilisateurs de la technique MALDI TOF ont rendu *M. chimaera* à la place de *M. intracellulare* (ces deux espèces sont très proches).

En ce qui concerne l'antibiogramme des 3 souches *M. tuberculosis*, réalisé par 57 LBM, on observe :

- pour la souche RIF-R, 100% de bonnes réponses (RIF-R, INH-S, EMB-S, STR-S) avec les techniques génotypiques et quasiment 100% de bonnes réponses avec les techniques phénotypiques (un seul LBM a rendu une réponse erronée STR-R).
- pour la souche INH-R, 100% de bonnes réponses (RIF-S, INH-R, EMB-S, STR-S) avec les techniques génotypiques et deux erreurs avec les techniques phénotypiques : un LBM (différent du précédent) a rendu STR-R et un LBM n'a pas détecté la résistance à l'isoniazide, ce qui est plus grave.
- pour la souche H37Rv sensible, 100% de bonnes réponses (RIF-S, INH-S, EMB-S, STR-S) avec les techniques génotypiques et quelques résultats discordants avec les méthodes phénotypiques. En effet, un LBM a répondu « résistant » pour les 4 antituberculeux, un autre LBM a répondu « résistant » pour 2 antituberculeux (EMB et STR) et 10 LBM ont répondu « résistant » à la streptomycine.

Enfin, une enquête rétrospective sur le recensement des cas de tuberculose (culture positive) survenus en France au cours de l'année 2015 a été réalisée en collaboration avec le CNR mycobactéries, auprès de l'ensemble des LBM inscrits à cette opération de contrôle. Cette enquête qui portait également sur les pratiques des LBM a permis d'évaluer le niveau de suivi des recommandations du HCSP relatives à la stratégie de diagnostic bactériologique rapide des cas de tuberculose multi-résistante.

Laboratoires participants et échantillons de contrôle

Les 83 laboratoires ayant déclaré à l'Ansm pratiquer au moins une des analyses concernées par l'envoi sont en majorité hospitaliers : 75 hôpitaux en métropole (dont 3 HIA) et 2 dans les DOM (Martinique et Réunion). Cette opération de contrôle a également inclus quatre LBM « privés » (dont Cerba et Biomnis) et deux Instituts Pasteur (Guadeloupe et Guyane).

Chacun des 83 LBM inscrit à l'opération CNQ 16BAC2 « mycobactéries » a reçu un panel de cinq souches cultivées sur Lowenstein Jensen.

Les 26 laboratoires ayant déclaré ne réaliser que l'identification (au minimum *Mycobacterium tuberculosis* complex) sur cultures ont reçu le Panel 1.

Les 57 laboratoires ayant déclaré réaliser l'identification (au minimum *M. tuberculosis* complex) et l'antibiogramme de *M. tuberculosis* (au minimum la détection de la résistance à la rifampicine et à l'isoniazide) sur cultures ont reçu le Panel 2.

Le tableau ci-dessous récapitule la composition des deux panels ainsi que les numéros d'échantillons attribués à chaque souche :

| | | N° échantillon | Panel 1 | Panel 2 | Effectif LBM |
|--|----------|----------------|---------|---------|--------------|
| <i>M. tuberculosis</i> sensible (souche H37Rv) | souche A | 736 ou 970 | X | X | 83 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensible | souche B | 326 ou 502 | X | | 26 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensible | souche C | 185 ou 921 | X | | 26 |
| <i>M. fortuitum</i> (souche ATCC 6841) | souche D | 224 ou 628 | X | X | 83 |
| <i>M. intracellulare</i> (souche ATCC 13950) | souche E | 113 ou 317 | X | X | 83 |
| <i>M. tuberculosis</i> RIF-R | souche F | 651 ou 839 | | X | 57 |
| <i>M. tuberculosis</i> INH-R | souche G | 230 ou 472 | | X | 57 |

Identification mycobactéries (7 souches)

Définition des échantillons

Comme indiqué dans le tableau ci-dessus, chaque LBM a reçu cinq souches pour identification : deux mycobactéries non tuberculeuses (MNT) et trois souches *M. tuberculosis*.

Seules les deux MNT et la souche *M. tuberculosis* H37Rv étaient communes à l'ensemble des LBM.

En revanche, les 26 LBM ayant déclaré ne réaliser que l'identification ont reçu, en complément des trois souches communes, deux souches *M. tuberculosis* « sensibles », tandis que les 57 LBM ayant déclaré réaliser l'identification et l'antibiogramme ont reçu deux souches *M. tuberculosis* monorésistantes.

La liste des mycobactéries ainsi que la liste des réactifs d'identification proposées au choix des participants sont rapportées respectivement dans l'annexe 1 et l'annexe 2.

Résultats des participants

1- Mycobactéries non tuberculeuses ou atypiques (*M. fortuitum* et *M. intracellulare*)

Ces deux mycobactéries atypiques étaient présentes dans le Panel 1 et le Panel 2. Le bilan des identifications transmises par les 83 laboratoires participants est présenté dans les tableaux I et II. Les techniques d'identification utilisées (MALDI-TOF, immunochromatographie (IC), caractères phénotypiques, méthode moléculaire commercialisée, PCR ou PCR-séquençage « maison ») ainsi que les réactifs correspondants sont détaillés dans les tableaux III et IV.

tableau I - identification *Mycobacterium fortuitum*

| Réponses des participants | Effectif | Réponse attendue |
|--|----------|--|
| <i>M. fortuitum</i> | 59 | <i>M. fortuitum</i> ou mycobactérie non tuberculeuse (autre que <i>M. tuberculosis</i> complex) |
| <i>M. fortuitum</i> complex | 2 | |
| mycobactérie non tuberculeuse (autre que <i>M. tuberculosis</i> complex) | 22 | |
| Total | 83 | |

tableau II - identification *Mycobacterium intracellulare*

| Réponses des participants | Effectif | Réponse attendue |
|--|----------|---|
| <i>M. intracellulare</i> | 48 | <i>M. intracellulare</i> ou <i>Mycobacterium avium</i> complex (MAC) ou mycobactérie non tuberculeuse (autre que <i>M. tuberculosis</i> complex) |
| mycobactérie non tuberculeuse (autre que <i>M. tuberculosis</i> complex) | 21 | |
| <i>M. chimaera</i> | 7 | |
| <i>Mycobacterium avium</i> complex (MAC) | 2 | |
| <i>Mycobacterium intracellulare</i> groupe | 2 | |
| <i>Mycobacterium intracellulare/chimaera</i> | 2 | |
| <i>M. avium-M. intracellulare-M. scrofulaceum</i> (MAIS complex) | 1 | |
| Total | 83 | |

tableau III - technique ou combinaison de techniques utilisée(s) selon la souche à identifier

| MALDI-TOF | IC | Méthode moléculaire commercialisée | | | PCR-seq | <i>M. fortuitum</i> | <i>M.intracellulare</i> |
|----------------|----|------------------------------------|----------|------------|---------|---------------------|-------------------------|
| | | 1 techn. | 2 techn. | ≥ 3 techn. | | | |
| X | | | | | | 3 | 3 |
| X | | | | | X | 1 | 1 |
| X | | | X | | X | 1 | 0 |
| X | | | | X | | 0 | 1 |
| X | X | | | | | 6 | 4 |
| X | X | X | | | | 3 | 3 |
| X | X | | X | | | 0 | 1 |
| X | X | | | | X | 2 | 2 |
| | X | | | | | 11 | 12 |
| | X | X | | | | 17 | 15 |
| | X | | X | | | 3 | 5 |
| | X | | | | X | 1 | 1 |
| | X | X | | | X | 0 | 1 |
| | | X | | | | 23 | 22 |
| | | X | | | X | 1 | 1 |
| | | | X | | | 6 | 6 |
| | | | X | | X | 0 | 1 |
| | | | | X | | 1 | 1 |
| | | | | | X | 3 | 2 |
| Pas de réponse | | | | | | 1 | 1 |
| Total | | | | | | 83 | 83 |

tableau IV - détail des réactifs utilisés dans chaque technique selon la souche à identifier

| | <i>M. fortuitum</i> | <i>M. intracellulare</i> |
|---|---------------------|--------------------------|
| MALDI-TOF | | |
| Bruker Maldi Biotyper | 15 | 15 |
| BioMérieux Vitek MS | 0 | 1 |
| non utilisé | 68 | 67 |
| Immunochromatographie (Ag MPT64) | | |
| ALERE (SD Bioline) TB Ag MPT64 Rapid | 36 | 37 |
| Becton Dickinson MGIT TBc Identification Test | 6 | 6 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) TBCheck MPT64 | 1 | 1 |
| non utilisée | 40 | 39 |
| Caractères phénotypiques | | |
| utilisés | 16 * | 15 ** |
| non utilisés | 67 | 68 |
| Méthode moléculaire commercialisée | | |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type Mycobacterium CM | 42 | 31 |
| CEPHEID Gene Xpert MTB/RIF | 7 | 7 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type Mycobacterium AS | 3 | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type NTM-DR | 0 | 7 |
| HOLOGIC GenProbe AccuProbe Mycobacterium avium complex | 3 | 5 |
| HOLOGIC GenProbe AccuProbe Mycobacterium tuberculosis complex | 3 | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBC | 2 | 1 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRplus | 2 | 3 |
| INNOGENETICS (Fujirebio) INNO-LiPA Mycobacteria V2 | 2 | 2 |
| ELITECH MTB Q-PCR Alert kit | 1 | 1 |
| GeneProof Mycobacterium tuberculosis PCR kit | 1 | 1 |
| QIAGEN Artus M. tuberculosis LC PCR | 1 | 1 |
| PCR-séquençage "maison" | | |
| Séquençage externalisé / cible : hsp65 | 4 | 4 |
| Séquençage local / cible : hsp65 | 3 | 3 |
| Séquençage local / cibles : hsp65 + gyrB | 1 | 1 |
| Séquençage local / cibles : hsp65 + 16SrARN | 1 | 1 |
| non utilisée | 74 | 74 |

* : sur les 16 LBM ayant indiqué réaliser des tests phénotypiques, seuls 8 ont précisé lesquels.

** : sur les 15 LBM ayant indiqué réaliser des tests phénotypiques, seuls 7 ont précisé lesquels.

Tests cités : aspect macro/pigmentation (2), aspect micro (4), nitrate réductase (3), niacine test(2), délai croissance (2) et, pour *M. fortuitum*, culture sur gélose ordinaire (2).

2- *Mycobacterium tuberculosis* (souche A)

Cette souche, *M. tuberculosis* H37Rv, était présente dans le Panel 1 et le Panel 2. Le bilan des identifications transmises par les 83 laboratoires participants est présenté dans les tableaux V. Les techniques d'identification utilisées (MALDI-TOF, immunochromatographie, caractères phénotypiques, méthode moléculaire commercialisée, PCR ou PCR-séquençage « maison ») ainsi que les réactifs correspondants sont détaillés dans les tableaux VI et VII.

tableau V - identification *Mycobacterium tuberculosis* (souche H37Rv)

| Réponses des participants | Effectif | Réponse attendue |
|--------------------------------------|----------|---|
| <i>M. tuberculosis</i> complex | 49 | <i>Mycobacterium tuberculosis sensu stricto</i> ou <i>M. tuberculosis</i> complex |
| <i>M. tuberculosis sensu stricto</i> | 33 | |
| <i>M. canettii</i> | 1 | |
| Total | 83 | |

tableau VI - *M. tuberculosis* (souche H37Rv) : technique ou combinaison de techniques utilisée(s)

| MALDI-TOF | IC | Méthode moléculaire commercialisée | | | PCR | PCR-seq | Effectif |
|-----------|----|------------------------------------|----------|----------|-----|---------|----------|
| | | 1 techn. | 2 techn. | 3 techn. | | | |
| X | | | | | | | 2 |
| X | X | | | X | | X | 1 |
| X | X | X | | | | | 1 |
| | X | | | | | | 19 |
| | X | X | | | | | 28 |
| | X | | X | | | | 8 |
| | X | | | X | | | 2 |
| | X | | | | X | | 4 |
| | X | X | | | X | | 1 |
| | | X | | | | | 14 |
| | | X | | | | X | 2 |
| | | | X | | | | 1 |
| Total | | | | | | | 83 |

tableau VII - *M. tuberculosis* (souche H37Rv) : détail des réactifs utilisés dans chaque technique

| | Effectif |
|---|----------|
| MALDI-TOF | |
| Bruker Maldi Biotyper | 4 |
| non utilisé | 79 |
| Immunochromatographie (Ag MPT64) | |
| ALERE (SD Bioline) TB Ag MPT64 Rapid | 50 |
| Becton Dickinson MGIT TBc Identification Test | 11 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) TBCheck MPT64 | 1 |
| Réactif non précisé | 2 |
| non utilisée | 19 |
| Caractères phénotypiques | |
| utilisés | 14 * |
| non utilisés | 69 |
| Méthode moléculaire commercialisée | |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBC | 32 |
| CEPHEID Gene Xpert MTB/RIF | 16 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRplus | 10 |
| HOLOGIC GenProbe AccuProbe Mycobacterium tuberculosis complex | 4 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type Mycobacterium CM | 4 |
| HOLOGIC GenProbe AccuProbe Mycobacterium avium complex | 2 |
| GeneProof Mycobacterium tuberculosis real time PCR kit | 2 |

| | |
|---|----|
| INNOGENETICS (Fujirebio) INNO-LiPA Mycobacteria V2 | 1 |
| ELITECH MTB Q-PCR Alert kit - IDM21 | 1 |
| DIAGENODE DIA-MT-50 M. tuberculosis real time PCR kit | 1 |
| PCR "maison" | |
| Cible : RD (RD1, RD5, RD9) | 3 |
| Cible : mpt65 | 1 |
| Cible IST | 1 |
| Non utilisée | 78 |
| PCR-séquençage "maison" | |
| Séquençage local / cible : hsp65 | 2 |
| Séquençage externalisé / cible : gyrB | 1 |
| non utilisée | 80 |

* : sur les 14 LBM ayant indiqué réaliser des tests phénotypiques, seuls 7 ont précisé lesquels. Tests cités : aspect macro/pigmentation (2), aspect micro (4), nitrate réductase (2), niacine test(1), délai de croissance (1) et TCH (1).

3- *Mycobacterium tuberculosis* (souche B et souche C)

Ces deux souches sont présentes uniquement dans le Panel 1. Elles ont été adressées aux 26 LBM ayant déclaré ne réaliser que l'identification (au minimum *M. tuberculosis* complex). Le bilan des identifications transmises par les 26 participants est présenté dans le tableau VIII. Les techniques d'identification utilisées (MALDI-TOF, immunochromatographie, caractères phénotypiques, méthode moléculaire commercialisée) ainsi que les réactifs correspondants sont détaillés dans les tableaux IX et X. Chaque participant a utilisé les mêmes techniques et pour chaque technique, les mêmes réactifs pour identifier les deux souches.

tableau VIII - identification *Mycobacterium tuberculosis* (souche B et souche C)

| Réponses des participants | souche B | souche C | Réponse attendue |
|--------------------------------------|----------|----------|---|
| <i>M. tuberculosis</i> complex | 23 | 23 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> sensu stricto ou <i>M. tuberculosis</i> complex |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto | 2 | 2 | |
| <i>M. canettii</i> | 1 | 1 | |
| Total | 26 | 26 | |

tableau IX- *M. tuberculosis* (souche B et souche C) : technique ou combinaison de techniques utilisée(s)

| MALDI-TOF | IC | Méthode moléculaire commercialisée | | | PCR | PCR-seq | Effectif |
|-----------|----|------------------------------------|----------|----------|-----|---------|----------|
| | | 1 techn. | 2 techn. | 3 techn. | | | |
| X | | | | | | 1 | |
| X | X | X | | | | 1 | |
| | X | | | | | 12 | |
| | X | X | | | | 5 | |
| | X | | X | | | 1 | |
| | | X | | | | 6 | |
| Total | | | | | | | 26 |

tableau X - *M. tuberculosis* (souche B et souche C) : détail des réactifs utilisés dans chaque technique

| | Effectif |
|-----------------------|----------|
| MALDI-TOF | |
| Bruker Maldi Biotyper | 2 |
| non utilisé | 24 |

| Immunochromatographie (Ag MPT64) | |
|---|-----|
| ALERE (SD Bioline) TB Ag MPT64 Rapid | 15 |
| Becton Dickinson MGIT TBc Identification Test | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) TBCheck MPT64 | 1 |
| non utilisée | 7 |
| Caractères phénotypiques | |
| utilisés | 4 * |
| non utilisés | 22 |
| Méthode moléculaire commercialisée | |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBC | 4 |
| CEPHEID Gene Xpert MTB/RIF | 9 |
| HOLOGIC GenProbe AccuProbe Mycobacterium tuberculosis complex | 1 |
| PCR "maison" | |
| non utilisée | 26 |
| PCR-séquençage "maison" | |
| non utilisée | 26 |

* : sur les 4 LBM ayant indiqué réaliser des tests phénotypiques, seuls 2 ont précisé lesquels. Tests cités : aspect micro (1), nitrate réductase / niacine test(1).

4- *Mycobacterium tuberculosis* (souche F et souche G)

Ces deux souches sont présentes uniquement dans le Panel 2. Elles ont été adressées aux 57 LBM ayant déclaré réaliser l'identification (au minimum *M. tuberculosis* complex) et l'antibiogramme. Le bilan des identifications transmises par les 57 participants est présenté dans le tableau XI. Les techniques d'identification utilisées (MALDI-TOF, immunochromatographie, caractères phénotypiques, méthode moléculaire commercialisée, PCR ou PCR-séquençage « maison ») ainsi que les réactifs correspondants sont détaillés dans les tableaux XII et XIII. Chaque participant a utilisé les mêmes réactifs pour identifier les deux souches.

tableau XI - identification *Mycobacterium tuberculosis*

| Réponses des participants | souche F | souche G | Réponse attendue |
|--------------------------------------|----------|----------|---|
| <i>M. tuberculosis</i> complex | 27 | 27 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> sensu stricto ou <i>M. tuberculosis</i> complex |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto | 30 | 30 | |
| Total | 57 | 57 | |

tableau XII - *M. tuberculosis* (souche F et souche G) : technique ou combinaison de techniques utilisée(s)

| MALDI-TOF | IC | Méthode moléculaire commercialisée | | | PCR | PCR-seq | Effectif |
|-----------|----|------------------------------------|----------|----------|-----|---------|----------|
| | | 1 techn. | 2 techn. | 3 techn. | | | |
| X | | | | | X | | 1 |
| X | X | | | X | | X | 1 |
| | X | | | | | | 7 |
| | X | X | | | | | 22 |
| | X | | X | | | | 7 |
| | X | | | X | | | 2 |
| | X | | | | X | | 4 |
| | X | X | | | X | | 1 |
| | | X | | | | | 9 |
| | | X | | | | X | 2 |
| | | | X | | | | 1 |
| Total | | | | | | | 57 |

tableau XIII - *M. tuberculosis* (souche F et souche G) : détail des réactifs utilisés dans chaque technique

| | souche F | souche G |
|---|----------|----------|
| MALDI-TOF | | |
| Bruker Maldi Biotyper | 2 | 2 |
| non utilisé | 55 | 55 |
| Immunochromatographie (Ag MPT64) | | |
| ALERE (SD Bioline) TB Ag MPT64 Rapid | 34 | 34 |
| Becton Dickinson MGIT TBc Identification Test | 8 | 8 |
| Réactif non précisé | 2 | 2 |
| non utilisée | 13 | 13 |
| Caractères phénotypiques | | |
| utilisés | 10 * | 10 ** |
| non utilisés | 47 | 47 |
| Méthode moléculaire commercialisée | | |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBC | 28 | 30 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRplus | 10 | 10 |
| CEPHEID Gene Xpert MTB/RIF | 8 | 7 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type Mycobacterium CM | 4 | 3 |
| HOLOGIC GenProbe AccuProbe Mycobacterium tuberculosis complex | 3 | 3 |
| HOLOGIC GenProbe AccuProbe Mycobacterium avium complex | 2 | 2 |
| GeneProof Mycobacterium tuberculosis real time PCR kit | 1 | 1 |
| INNOGENETICS (Fujirebio) INNO-LiPA Mycobacteria V2 | 1 | 1 |
| ELITECH MTB Q-PCR Alert kit - IDM21 | 1 | 1 |
| DIAGENODE DIA-MT-50 M. tuberculosis real time PCR kit | 1 | 1 |
| PCR "maison" | | |
| Cible : RD (RD1, RD5, RD9) | 3 | 3 |
| Cible : mpt65 | 1 | 1 |
| Cible : IST | 2 | 2 |
| Non utilisée | 51 | 51 |
| PCR-séquençage "maison" | | |
| Séquençage local / cible : hsp65 | 2 | 2 |
| Séquençage externalisé / cible : gyrB | 1 | 1 |
| non utilisée | 54 | 54 |

* : sur les 10 LBM ayant indiqué réaliser des tests phénotypiques, seuls 4 ont précisé lesquels.

** : sur les 10 LBM ayant indiqué réaliser des tests phénotypiques, seuls 5 ont précisé lesquels.

Tests cités : aspect macro/pigmentation (1), aspect micro (3), nitrate réductase (2), niacine test (1), délai croissance (1) et TCH (1).

Commentaires

1 - Identification des mycobactéries atypiques : *M. fortuitum* et *M. intracellulare*

Les deux MNT ont été adressées pour identification à l'ensemble des 83 LBM.

En ce qui concerne les techniques employées (tableaux III et IV), on note qu'un peu plus de la moitié (52%) des participants utilisent l'immunochromatographie (réactif ALERE dans 84% des cas) le plus souvent associée à une autre technique. Environ deux tiers utilisent également une technique moléculaire commercialisée. Le réactif le plus souvent cité est le GenoType Mycobacterium CM qui permet d'identifier parmi les mycobactéries atypiques, les espèces les plus communes (dont *M. fortuitum* et *M. intracellulare*). On remarque, pour

l'identification de la souche *M. intracellulare*, que 7 LBM utilisent le nouveau réactif GenoType NTM-DR qui permet entre autres de différencier *M. intracellulare* et *M. chimaera*. Une PCR-séquençage « maison » est réalisée par 9 LBM avec un séquençage externalisé pour 4 d'entre eux. Enfin, 15 LBM indiquent utiliser la technique MALDI-TOF (Maldi Biotyper BRUKER).

L'identification de la souche *M. fortuitum* (tableau I) n'a pas posé de problème avec 71,1% de réponses « *M. fortuitum* », 26,5% « mycobactérie non tuberculeuse » et 2,4% (2/83) « *M. fortuitum* complex ». Ce dernier libellé proposé par 2 LBM ne faisait pas partie de la liste des identifications au choix.

L'identification de la souche *M. intracellulare* (tableau II) a conduit à une majorité de réponses attendues : « *M. intracellulare* » (57,8%) ou « mycobactérie non tuberculeuse » (25,3%) ou MAC (2,4%).

D'autres réponses qui ne faisaient pas partie de la liste des identifications au choix ont été rendues par 4 LBM : *M. intracellulare* groupe ou *M. intracellulare/chimaera*.

Enfin, sept participants ont identifié l'espèce *M. chimaera*. Il s'agit d'utilisateurs du Maldi Biotyper BRUKER qui ont employé cette technique soit seule, soit associée à une technique immunochromatographique. En effet, les huit autres utilisateurs du Maldi Biotyper ayant complété cette technique avec un ou plusieurs réactifs de biologie moléculaire ont rendu « *M. intracellulare* ». Actuellement, la base de données standard CE-IVD commercialisée par BRUKER ne comprend pas les mycobactéries. En revanche, la base RUO (Research Use Only) en comprend quelques unes. Il faut noter qu'il existe également une base spécifique « mycobactéries » (v4) en RUO qui comprend 880 spectres correspondant à 159 espèces mais qui ne permet pas de distinguer les deux espèces *M. intracellulare* et *M.chimaera* : « *Mass spectra of M. intracellulare and M. chimaera are very similar to each other and are combined to a complex* » Cette base mycobactéries devrait, selon BRUKER, avoir le marquage CE en 2018.

2 - Identification *Mycobacterium tuberculosis*

En ce qui concerne les techniques employées par les 26 LBM qui ne font que l'identification (tableaux IX et X), on note que près des trois quarts utilisent l'immunochromatographie (en majorité le réactif ALERE) seule ou associée à une autre technique d'identification et la moitié utilisent une technique moléculaire commercialisée (en majorité le réactif Gene Xpert MTB/RIF). Aucun de ces LBM ne réalise de PCR ou PCR-séquençage « maison ». En revanche, deux LBM indiquent utiliser la technique MALDI-TOF (seule technique d'identification pour l'un d'entre eux). Pour ces LBM qui utilisent le MALDI-TOF, la question de la mise en place (ou non) d'un protocole préalable d'inactivation des mycobactéries n'a pas été posée.

Les identifications sont correctes avec une majorité (23/26) de réponses « *M. tuberculosis* complex », deux réponses « *M. tuberculosis* sensu stricto » et une réponse *M. canettii*. Le laboratoire qui a rendu *M. canettii* pour les 3 souches *M. tuberculosis* utilise le réactif BIOCENTRIC GenoType MTBC qui ne distingue pas les deux espèces et rend « *M.tuberculosis/M.canettii* ». Toutefois, parmi les trois autres LBM ayant utilisé ce réactif, deux ont répondu « *M. tuberculosis* complex » et un « *M. tuberculosis* sensu stricto ».

En ce qui concerne les techniques employées par 57 LBM qui font l'identification et l'antibiogramme (tableaux XII et XIII), on note que plus des trois quarts utilisent l'immunochromatographie (en majorité le réactif ALERE) seule ou associée à une autre technique. Plus des trois quarts utilisent également une technique moléculaire commercialisée. Le réactif le plus souvent cité est le GenoType MTBC BIOCENTRIC, suivi du GenoType MTBDRplus. Une PCR ou une PCR-séquençage « maison » est réalisée par respectivement 6 et 5 participants. Enfin, deux LBM indiquent utiliser la technique MALDI-TOF.

Les identifications sont correctes et plus précises (identification jusqu'à l'espèce *M. tuberculosis*) que celles obtenues par les LBM qui ne font que l'identification. En effet, on observe 53% de réponses « *M. tuberculosis* sensu stricto » et 47% « *M. tuberculosis* complex ».

Antibiogramme *Mycobacterium tuberculosis* (3 souches)

Définition des échantillons

Les 57 laboratoires ayant déclaré réaliser l'identification et l'antibiogramme (au minimum la détection de la résistance à la rifampicine et à l'isoniazide pour *M. tuberculosis*) ont reçu le Panel 2 qui comprend trois souches de *M. tuberculosis* : une souche (H37Rv) sensible à tous les antituberculeux, une souche résistante à la rifampicine par mutation (substitution S531L) dans le gène *rpoB* qui code la sous-unité bêta de l'ARN polymérase et une souche résistante à l'isoniazide par mutation (substitution S315T) dans le gène *katG* qui code une catalase-péroxydase indispensable à l'activité de l'isoniazide.

Pour chaque souche, il était demandé aux laboratoires participants :

- est-ce que vous détectez génotypiquement dans votre LBM la résistance à la rifampicine? à l'isoniazide? à l'éthambutol? à la streptomycine?

Si oui, indiquez le résultat (sensible ou résistant) ainsi que la(les) méthode(s) moléculaire(s) commercialisée(s) ou « maison » (PCR-séquençage) utilisée(s).

- est-ce que vous détectez phénotypiquement (mesure de la croissance bactérienne sur milieu solide ou liquide en présence d'antibiotique) dans votre LBM la résistance à la rifampicine? à l'isoniazide? à l'éthambutol? à la streptomycine?

Si oui, indiquez le résultat (sensible ou résistant) ainsi que la(les) méthode(s) utilisée(s).

Si la souche est résistante à l'isoniazide et que vous distinguez un niveau de résistance (BNR ou HNR), précisez-le.

La liste des réactifs proposée au choix des participants est rapportée dans l'annexe 3.

Résultats des participants

1- *Mycobacterium tuberculosis* (souche H37Rv)

Le nombre de LBM qui effectuent la détection génotypique et/ou phénotypique de la résistance est détaillé dans les tableaux XIV, XV, XVI et XVII pour chacun des 4 antituberculeux.

tableau XIV - Rifampicine / *M. tuberculosis* (souche H37Rv) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 1 | 9 | 1 | 11 |
| | Oui | 4 | 33 | 1 | 38 |
| | pas de réponse | | 8 | | 8 |
| | total | 5 | 50 | 2 | 57 |

tableau XV - Isoniazide / *M. tuberculosis* (souche H37Rv) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 1 | 17 | 1 | 19 |
| | Oui | 4 | 25 | 1 | 30 |
| | pas de réponse | | 8 | | 8 |
| | total | 5 | 50 | 2 | 57 |

tableau XVI - Ethambutol / *M. tuberculosis* (souche H37Rv) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 5 | 34 | | 39 |
| | Oui | | 6 | 1 | 7 |
| | pas de réponse | | 10 | 1 | 11 |
| | total | 5 | 50 | 2 | 57 |

tableau XVII - Streptomycine / *M. tuberculosis* (souche H37Rv) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 5 | 37 | | 42 |
| | Oui | | 3 | 1 | 4 |
| | pas de réponse | | 10 | 1 | 11 |
| | total | 5 | 50 | 2 | 57 |

1-1 antibiogramme génotypique

Les résultats obtenus et les réactifs utilisés pour chacun des 4 antituberculeux sont rassemblés respectivement dans les tableaux XVIII et XIX.

En ce qui concerne la technique « PCR-séquençage maison », elle a été réalisée par deux LBM. L'un pour les 4 antituberculeux : rifampicine (cible : *rpoB*), isoniazide (cibles : *katG* + *inhA*), éthambutol (cible : *embB*), streptomycine (cibles : *rrs* + *rpsl* + *gidB*) et l'autre pour l'éthambutol (cible : *embB*) et la streptomycine (cibles : *rrs* + *rpsl*).

La souche H37Rv faisait aussi partie du Panel 1 adressé aux 26 LBM ayant déclaré ne faire que l'identification. De façon surprenante, puisqu'ils n'étaient pas censés réaliser cette analyse, onze d'entre eux ont recherché une éventuelle résistance à la rifampicine avec le réactif CEPHEID Gene Xpert et ont rendu la réponse attendue « sensible ». Les données de ces 11 LBM n'ont pas été incluses dans les tableaux suivants (XVIII et XIX).

tableau XVIII - *M. tuberculosis* (souche H37Rv) / méthode génotypique : résultats obtenus par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|----------------|-----|-----|-----|-----|
| Sensible | 35 | 28 | 5 | 2 |
| Résistant | - | - | - | - |
| pas de réponse | 3 | 2 | 2 | 2 |
| total | 38 | 30 | 7 | 4 |

tableau XIX - *M. tuberculosis* (souche H37Rv) / méthode génotypique : réactifs utilisés par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|--|-----|-----|-----|-----|
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRplus | 26 | 22 | 1* | 1* |
| CEPHEID Gene Xpert MTB/RIF | 14 | 4* | - | - |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRsl Version1 | 1* | 1* | 5 | 2 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRsl Version2 | 2* | 2* | - | - |
| Non précisé | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Total | 45 | 31 | 8 | 5 |

* : réactif inapproprié pour l'antituberculeux considéré

1-2 antibiogramme phénotypique

Les résultats obtenus et les réactifs utilisés pour chacun des 4 antituberculeux sont rassemblés respectivement dans les tableaux XX et XXI.

tableau XX - *M. tuberculosis* (souche H37Rv) / méthode phénotypique : résultats obtenus par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|----------------|-----|-----|-----|-----|
| Sensible | 46 | 46 | 45 | 34 |
| Résistant | 1 | 1 | 2 | 12 |
| pas de réponse | 3 | 3 | 3 | 4 |
| total | 50 | 50 | 50 | 50 |

tableau XXI - *M. tuberculosis* (souche H37Rv) / méthode phénotypique : réactifs utilisés par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|---|-----|-----|-----|-----|
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 SIRE | 42 | 42 | 42 | 42 |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 INH 0,4 | - | 7 | - | - |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 EMB 7,5 | - | - | 5 | - |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 STR 4 | - | - | - | 5 |
| Méthode des proportions sur Lowenstein Jensen BIORAD | 3 | 3 | 3 | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) automate VersaTREK SIRE + PZA | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Etest Biomérieux | 1 | 1 | 1 | 1 |
| non précisé | 2 | 2 | 2 | 2 |
| total | 50 | 57 | 55 | 55 |

2- *Mycobacterium tuberculosis* RIF-R

Les effectifs des LBM qui effectuent la détection génotypique et/ou phénotypique de la résistance pour chacun des 4 antituberculeux sont détaillés dans les tableaux XXII, XXIII, XXIV et XXV.

tableau XXII - Rifampicine / *M. tuberculosis* (souche RIF-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 1 | 8 | 1 | 10 |
| | Oui | 5 | 38 | | 43 |
| | pas de réponse | | 4 | | 4 |
| | total | 6 | 50 | 1 | 57 |

tableau XXIII - Isoniazide / *M. tuberculosis* (souche RIF-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 1 | 14 | 1 | 16 |
| | Oui | 5 | 30 | | 35 |
| | pas de réponse | | 6 | | 6 |
| | total | 5 | 50 | 2 | 57 |

tableau XXIV - Ethambutol / *M. tuberculosis* (souche RIF-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 5 | 33 | | 38 |
| | Oui | 1 | 7 | | 8 |
| | pas de réponse | | 10 | 1 | 11 |
| | total | 6 | 50 | 1 | 57 |

tableau XXV - Streptomycine / *M. tuberculosis* (souche RIF-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 5 | 36 | | 41 |
| | Oui | 1 | 4 | | 5 |
| | pas de réponse | | 10 | 1 | 11 |
| | total | 6 | 50 | 1 | 57 |

2-1 antibiogramme génotypique

Les résultats obtenus et les réactifs utilisés pour chacun des 4 antituberculeux sont rassemblés respectivement dans les tableaux XXVI et XXVII.

La technique « PCR-séquençage maison », a été réalisée par trois LBM : les deux LBM cités pour la souche précédente (un LBM / 4 antituberculeux et un LBM / éthambutol + streptomycine) et un LBM pour la rifampicine uniquement (cible : *rpoB*).

tableau XXVI - *M. tuberculosis* (souche RIF-R) / méthode génotypique : résultats obtenus par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|----------------|-----|-----|-----|-----|
| Sensible | - | 33 | 6 | 3 |
| Résistant | 42 | - | - | - |
| pas de réponse | 1 | 2 | 2 | 2 |
| total | 43 | 35 | 8 | 5 |

tableau XXVII - *M. tuberculosis* (souche RIF-R) / méthode génotypique : réactifs utilisés par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|--|-----|-----|-----|-----|
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRplus | 31 | 31 | 1* | 1* |
| CEPHEID Gene Xpert MTB/RIF | 20 | - | - | - |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRsl Version1 | 1* | 1* | 6 | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRsl Version2 | 2* | 2* | - | - |
| Non précisé | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Total | 56 | 36 | 9 | 6 |

* : réactif inapproprié pour l'antituberculeux considéré

2-2 antibiogramme phénotypique

Les résultats obtenus et les réactifs utilisés pour chacun des 4 antituberculeux sont rassemblés respectivement dans les tableaux XXVIII et XXIX.

tableau XXVIII - *M. tuberculosis* (souche RIF-R) / méthode phénotypique : résultats obtenus par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|----------------|-----|-----|-----|-----|
| Sensible | - | 48 | 48 | 47 |
| Résistant | 48 | - | - | 1 |
| pas de réponse | 2 | 2 | 2 | 2 |
| total | 50 | 50 | 50 | 50 |

tableau XXIX - *M. tuberculosis* (souche RIF-R) / méthode phénotypique : réactifs utilisés par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|---|-----|-----|-----|-----|
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 SIRE | 44 | 40 | 40 | 39 |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 INH 0,4 | | 6 | | 1 |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 EMB 7,5 | | | 5 | 1 |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 STR 4 | | | | 4 |
| Méthode des proportions sur Lowenstein Jensen BIORAD | 3 | 3 | 3 | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) automate VersaTREK SIRE + PZA | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Etest Biomérieux | 1 | 1 | 1 | 1 |
| non précisé | | 4 | 4 | 4 |
| total | 50 | 56 | 55 | 55 |

3- *Mycobacterium tuberculosis* INH-R

Les effectifs des LBM qui effectuent la détection génotypique et/ou phénotypique de la résistance pour chacun des 4 antituberculeux sont détaillés dans les tableaux XXX, XXXI, XXXII et XXXIII.

tableau XXX - Rifampicine / *M. tuberculosis* (souche INH-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 1 | 8 | 1 | 10 |
| | Oui | 4 | 37 | | 41 |
| | pas de réponse | | 6 | | 6 |
| | total | 5 | 51 | 1 | 57 |

tableau XXXI - Isoniazide / *M. tuberculosis* (souche INH-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 1 | 14 | 1 | 16 |
| | Oui | 4 | 31 | | 35 |
| | pas de réponse | | 6 | | 6 |
| | total | 5 | 51 | 1 | 57 |

tableau XXXII - Ethambutol / *M. tuberculosis* (souche INH-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 5 | 32 | 1 | 38 |
| | Oui | | 9 | | 9 |
| | pas de réponse | | 9 | 1 | 10 |
| | total | 5 | 50 | 2 | 57 |

tableau XXXIII - Streptomycine / *M. tuberculosis* (souche INH-R) : effectifs méthodes génotypique et phénotypique

| | | Détection phénotypique de la résistance ? | | | |
|--|----------------|---|-----|----------------|-------|
| | | Non | Oui | pas de réponse | total |
| Détection génotypique de la résistance ? | Non | 5 | 36 | | 41 |
| | Oui | | 5 | | 5 |
| | pas de réponse | | 10 | 1 | 11 |
| | total | 5 | 51 | 1 | 57 |

3-1 antibiogramme génotypique

Les résultats obtenus et les réactifs utilisés pour chacun des 4 antituberculeux sont rassemblés respectivement dans les tableaux XXXIV et XXXV.

Comme pour la souche *M. tuberculosis* H37Rv, la technique « PCR-séquençage maison », a été réalisée par deux LBM. L'un pour les 4 antituberculeux : rifampicine (cible : *rpoB*), isoniazide (cibles : *katG* + *inhA*), éthambutol (cible : *embB*), streptomycine (cibles : *rrs* + *rpsL* + *gidB*) et l'autre pour l'éthambutol (cible : *embB*) et la streptomycine (cibles : *rrs* + *rpsL*).

tableau XXXIV - *M. tuberculosis* (souche INH-R) / méthode génotypique : résultats obtenus par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|----------------|-----|-----|-----|-----|
| Sensible | 38 | - | 7 | 3 |
| Résistant | - | 34 | - | - |
| pas de réponse | 3 | 1 | 2 | 2 |
| total | 41 | 35 | 9 | 5 |

tableau XXXV - *M. tuberculosis* (souche INH-R) / méthode génotypique : réactifs utilisés par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|--|-----|-----|-----|-----|
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRplus | 31 | 30 | 1* | 1* |
| CEPHEID Gene Xpert MTB/RIF - ATM05 | 15 | - | - | - |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRsl Version1 | 1* | 2* | 7 | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) Geno Type MTBDRsl Version2 | 2* | 2* | - | - |
| Non précisé | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Total | 51 | 36 | 10 | 6 |

* : réactif inapproprié pour l'antituberculeux considéré

3-2 antibiogramme phénotypique

Les résultats obtenus et les réactifs utilisés pour chacun des 4 antituberculeux sont rassemblés respectivement dans les tableaux XXXVI et XXXVIII.

Les réponses données par les participants à la question « si la souche est résistante à l'isoniazide, distinguez-vous un niveau de résistance et si oui, la souche est-elle BNR ou HNR ? » sont rapportées dans le tableau XXXVII.

tableau XXXVI - *M. tuberculosis* (souche INH-R) / méthode phénotypique : résultats obtenus par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|----------------|-----|-----|-----|-----|
| Sensible | 49 | 1 | 48 | 48 |
| Résistant | - | 48 | - | 1 |
| pas de réponse | 2 | 2 | 2 | 2 |
| total | 51 | 51 | 50 | 51 |

tableau XXXVII - *M. tuberculosis* (souche INH-R) / méthode phénotypique : niveau de résistance à l'isoniazide ?

| Distinguez- vous un niveau de résistance à l'INH ? | Effectif |
|--|----------|
| Non | 17 |
| Oui, BNR | - |
| Oui, HNR | 28 |
| pas de réponse | 3 |
| total | 48 |

tableau XXXVIII - *M. tuberculosis* (souche INH-R) / méthode phénotypique : réactifs utilisés par les participants

| | RIF | INH | EMB | STR |
|---|-----|-----|-----|-----|
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 SIRE | 44 | 44 | 43 | 42 |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 INH 0,4 | - | 22 | - | - |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 EMB 7,5 | - | - | 5 | - |
| Becton Dickinson BACTEC MGIT 960 STR 4 | - | - | - | 5 |
| Méthode des proportions sur Lowenstein Jensen BIORAD | 3 | 3 | 3 | 3 |
| BIOCENTRIC (Hain Lifescience) automate VersaTREK SIRE + PZA | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Etest Biomérieux | 1 | 1 | 1 | 1 |
| non précisé | 1 | 1 | 1 | 1 |
| total | 51 | 73 | 55 | 55 |

Commentaires

1- *Mycobacterium tuberculosis* (souche H37Rv)

La souche H37Rv est sensible aux quatre antituberculeux testés.

Tous les LBM ayant utilisé une méthode génotypique qui consiste à détecter des mutations prédictives de la résistance ont rendu la réponse attendue « sensible ». Ils sont 35 pour la rifampicine, 28 pour l'isoniazide, 5 pour l'éthambutol et 2 pour la streptomycine (tableau XVIII).

Les réactifs utilisés sont les suivants : Geno Type MTBDRplus et Gene Xpert MTB/RIF pour la rifampicine, Geno Type MTBDRplus pour l'isoniazide, Geno Type MTBDRsl version 1 pour l'éthambutol. On note que certains de ces réactifs sont cités de façon inappropriée pour un ou plusieurs des 4 antituberculeux (tableau XIX).

Deux LBM font également des PCR-séquençage « maison » (pour les 4 antituberculeux pour l'un, uniquement pour EMB et STR pour l'autre).

En ce qui concerne les résultats obtenus par la méthode phénotypique, on note que sur 47 LBM :

- 1 LBM a rendu « résistant » pour les 4 antituberculeux,
- 1 LBM a rendu « résistant » pour l'éthambutol et la streptomycine,
- 10 LBM ont rendu « résistant » uniquement pour la streptomycine.

Le réactif le plus utilisé pour tester la sensibilité aux quatre antituberculeux est le BACTEC MGIT 960 SIRE, associé au MGIT 960 INH 0,4 pour l'isoniazide (7 LBM), au MGIT 960 EMB 7,5 pour l'éthambutol (5 LBM) et au MGIT 960 STR 4 pour la streptomycine (5 LBM). Seuls 3 participants ont indiqué utiliser la méthode des proportions sur LJ BIORAD (3 participants ont indiqué ne pas avoir pu réaliser l'antibiogramme par cette méthode qu'ils utilisent habituellement, du fait d'une rupture de stock de milieux chez ce fournisseur). L'automate Versa TREK SIRE+PZA est utilisé par 2 LBM. Enfin, un participant a indiqué utiliser le Etest qui n'était pas proposé dans la liste des réactifs au choix.

Parmi les 12 LBM ayant rendu « résistant » pour la streptomycine, sept ont utilisé le MGIT 960 SIRE seul, trois ont complété par le MGIT 960 STR 4 et ont précisé « résistance de bas niveau », « résistante à 1 µg/mL et sensible à 4 µg/mL ».

Interrogé à ce sujet, le CNR mycobactéries a confirmé que la souche distribuée était sensible à la streptomycine mais avec une proportion anormale de mutants résistants.

2- *Mycobacterium tuberculosis* RIF-R

Pour cette souche, la résistance acquise à la rifampicine est liée à une mutation dans le codon 531 du gène *rpoB* de la sous-unité β de l'ARN polymérase qui entraîne une substitution de la sérine par la leucine : Ser531Leu. La mutation dans le codon 531 est observée dans près de la moitié des souches de *M. tuberculosis* résistantes à la rifampicine.

Tous les LBM ayant utilisé une méthode génotypique (42 pour la rifampicine, 33 pour l'isoniazide, 6 pour l'éthambutol et 3 pour la streptomycine) ont rendu les réponses attendues : « résistant » pour la rifampicine et « sensible » pour les trois autres antituberculeux testés (tableau XXVI).

Les réactifs utilisés sont les mêmes que pour la souche précédente (tableau XXVII).

En ce qui concerne les résultats obtenus par les 48 LBM ayant utilisé une méthode phénotypique, ils sont tous corrects à l'exception d'un un faux « résistant » (erreur majeure) rendu par un participant pour la streptomycine. Les réactifs utilisés sont les mêmes que pour la souche précédente.

3- *Mycobacterium tuberculosis* INH-R

Pour cette souche, la résistance acquise à l'isoniazide est liée à une mutation dans le codon 315 du gène *katG* de la catalase-péroxydase (indispensable à l'activation de l'INH dans la bactérie) qui entraîne une substitution de la sérine par la thréonine : Ser315Thr.

Tous les LBM ayant utilisé une méthode génotypique (38 pour la rifampicine, 34 pour l'isoniazide, 7 pour l'éthambutol et 3 pour la streptomycine) ont rendu les réponses attendues : « résistant » pour l'isoniazide et « sensible » pour les trois autres antituberculeux testés (tableau XXXIV).

Les réactifs utilisés sont les mêmes que pour la souche précédente (tableau XXXV).

En ce qui concerne les résultats obtenus par les 49 LBM ayant utilisé une méthode phénotypique, ils sont tous corrects à l'exception de deux d'entre eux :

- un faux « résistant » (erreur majeure) rendu pour la streptomycine. Il ne s'agit pas du LBM qui a rendu un faux « résistant » à la streptomycine pour la souche RIF-R.
- un faux « sensible » (erreur très majeure) rendu par un participant pour l'isoniazide.

Il s'agissait d'une résistance de haut niveau à l'isoniazide, étiquetée comme telle par les 28 LBM capables de préciser le niveau de résistance.

Enquête CNR/ANSM : Recensement des cas de tuberculose en France en 2015 et pratiques des LBM.

Dans le prolongement de l'identification des 7 souches de mycobactéries et de l'antibiogramme des 3 souches de *M. tuberculosis*, cette opération de contrôle a été l'occasion de réaliser, à la demande du CNR, une enquête rétrospective sur le nombre de cas de tuberculose bactériologiquement confirmée (culture +) au cours de l'année 2015 auprès de l'ensemble des laboratoires participants.

Cette enquête a également porté sur les pratiques des laboratoires, en particulier pour tout ce qui concerne la détection génotypique de la résistance à la rifampicine sur les prélèvements et les cultures, afin d'apprécier le niveau de mise en place des recommandations du HCSP relatives à la stratégie de diagnostic des tuberculoses multirésistantes (1).

Le questionnaire qui comportait huit items est reproduit *in extenso* dans l'annexe 4.

Résultats et commentaires

Trois des 83 LBM participants n'ont pas répondu au questionnaire.

⇒ Questions 1 à 3

Les réponses aux trois premières questions concernant respectivement le nombre de prélèvements traités pour recherche de mycobactéries, le nombre de cultures positives à *M. tuberculosis* complex et le nombre de cas de tuberculose à cultures positives pendant la période du 01/01/2015 au 31/12/2015, seront analysées par le CNR et comparées aux données fournies par les deux réseaux de surveillance (AZAY-Mycobactéries et CNR-MyRMA).

⇒ Question 4

La répartition des LBM participants en fonction de leur activité (identification mycobactérienne sur culture et/ou antibiogramme) est détaillée dans le tableau ci-dessous.

| IDENTIFICATION | ANTIBIOGRAMME | Effectif |
|--|--|----------|
| <i>M. tuberculosis</i> complex et mycobactéries atypiques | <i>M. tuberculosis</i> complex et mycobactéries atypiques | 14 |
| | <i>M. tuberculosis</i> complex mais pas mycobactéries atypiques | 33 |
| | ni <i>M. tuberculosis</i> complex ni mycobactéries atypiques | 12 |
| <i>M. tuberculosis</i> complex mais pas mycobactéries atypiques | <i>M. tuberculosis</i> complex mais pas mycobactéries atypiques | 6 |
| | ni <i>M. tuberculosis</i> complex ni mycobactéries atypiques | 15 |
| Total | | 80 |

⇒ Question 5

La culture doit être réalisée dans un laboratoire de sécurité biologique au minimum de niveau 2 avec un passage obligatoire à un confinement de niveau 3 en cas de subcultures après identification de *M. tuberculosis* complex. On remarque dans le tableau ci-dessous que sept LBM (6+1) ne respectent pas cette règle.

| IDENTIFICATION | ANTIBIOGRAMME | Laboratoire L3 ? | | |
|--|--|------------------|-----|----------------|
| | | NON | OUI | pas de réponse |
| <i>M. tuberculosis</i> complex et mycobactéries atypiques | <i>M. tuberculosis</i> complex et mycobactéries atypiques | - | 12 | 2 |
| | <i>M. tuberculosis</i> complex mais pas mycobactéries atypiques | 6 | 27 | - |
| | ni <i>M. tuberculosis</i> complex ni mycobactéries atypiques | 8 | 4 | - |
| <i>M. tuberculosis</i> complex mais pas mycobactéries atypiques | <i>M. tuberculosis</i> complex mais pas mycobactéries atypiques | 1 | 5 | - |
| | ni <i>M. tuberculosis</i> complex ni mycobactéries atypiques | 6 | 9 | - |
| Total | | 21 | 57 | 2 |

⇒ Question 6

Comme le montre le tableau suivant, lorsque les LBM n'effectuent pas l'une ou l'autre des analyses mentionnées ci-dessus, les souches sont adressées à un laboratoire extérieur, en majorité au CNR, suivi par les laboratoires Hospitalo-Universitaires.

| Type(s) laboratoire(s) sous-traitant ? | Effectif |
|---|----------|
| CNR mycobactéries | 27 |
| CHU | 12 |
| Cerba ou Biomnis / CNR mycobactéries | 9 |
| Cerba ou Biomnis | 8 |
| CHU / CNR mycobactéries | 3 |
| Autre groupement de LBM | 2 |
| Cerba ou Biomnis / CNR mycobactéries / Institut Pasteur | 1 |
| Institut Pasteur | 1 |
| Pas de réponse | 17 |
| Total | 80 |

⇒ Question 7

Tous les LBM inscrits à cette opération de contrôle étaient capables d'identifier au minimum *M. tuberculosis* complex isolé d'une culture. A la question « quelle(s) espèce(s) pouvez-vous identifier à l'intérieur du complexe ? », un peu plus du tiers (36%) indique ne pas pouvoir aller plus loin dans l'identification et 59% (47/80) indique pouvoir identifier spécifiquement l'espèce *M. tuberculosis*, ce qui ne correspond pas aux réponses obtenues pour l'identification de la souche *M. tuberculosis* H37Rv, pour laquelle seuls 33 LBM (et pas 47) ont donné la réponse « *M. tuberculosis* sensu stricto ».

| Espèce(s) identifiée(s) dans votre LBM, à l'intérieur du complexe <i>M. tuberculosis</i> ? | Effectif |
|--|----------|
| aucune | 29 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto / <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> / <i>M. canettii</i> / <i>M. microti</i> / <i>M. caprae</i> | 23 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto / <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> / <i>M. microti</i> / <i>M. caprae</i> | 10 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto | 5 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto / <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> | 5 |
| <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> / <i>M. microti</i> / <i>M. caprae</i> | 2 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto / <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> / <i>M. microti</i> | 2 |
| <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> / <i>M. canettii</i> / <i>M. microti</i> / <i>M. caprae</i> | 1 |
| <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. microti</i> / <i>M. caprae</i> | 1 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto / <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> / <i>M. canettii</i> / <i>M. microti</i> | 1 |
| <i>M. tuberculosis</i> sensu stricto / <i>M. bovis</i> / <i>M. bovis</i> BCG / <i>M. africanum</i> / <i>M. caprae</i> | 1 |
| Total | 80 |

⇒ Question 8 : détection génotypique de la résistance à la rifampicine

La suite du questionnaire portait exclusivement sur la détection génotypique de la résistance à la rifampicine avec une première partie sur les prélèvements et une deuxième partie sur les cultures.

● question 8-1 : détection génotypique de la résistance à la rifampicine sur les prélèvements.

Le tableau ci-dessous détaille l'ensemble des réponses des LBM concernant l'utilisation de cette technique de détection directement sur les prélèvements.

Il faut rappeler que les LBM qui effectuent la détection moléculaire du complexe *M. tuberculosis* et/ou de la résistance à la rifampicine sur les prélèvements mais pas sur les cultures étaient exclus de cette opération de contrôle dont les échantillons étaient des cultures.

| Réalisez-vous, dans votre LBM, la détection génotypique résistance RIF directement sur les prélèvements ? | |
|--|----|
| Oui | 59 |
| Non | 21 |
| Total | 80 |
| Si oui : | |
| sur tout examen microscopique positif d'un nouveau cas | 41 |
| sur examen microscopique positif d'un nouveau cas uniquement si facteurs de résistance | 8 |
| sur tous les prélèvements | 2 |
| pas de réponse | 8 |
| Total | 59 |
| Si détection de la résistance positive, délai moyen rendu du résultat à partir de la réalisation du prélèvement ? | |
| 1 jour | 32 |
| 2 jours | 19 |
| 3 jours | 6 |
| 4 jours | 1 |
| pas de réponse | 1 |
| Total | 59 |
| Si détection génotypique résistance RIF positive sur un prélèvement, contrôle local dans votre laboratoire? | |
| Non | 34 |
| Oui | 25 |
| Total | 59 |
| Si oui : | |
| sur le même prélèvement avec une autre technique | 15 |
| sur un 2ème prélèvement avec une autre technique | 5 |
| sur le même + 2ème prélèvement avec une autre technique | 3 |
| sur le même prélèvement avec la même technique | 1 |
| sur un 2ème prélèvement avec la même technique | 1 |
| Total | 25 |

On observe que près des trois quarts (74%) des participants réalisent la détection génotypique de la résistance à la rifampicine directement sur les prélèvements.

Dans 69% des cas, cet examen est effectué « sur tout examen microscopique positif d'un nouveau cas », ce qui correspond aux recommandations du HCSP. Les huit LBM qui conditionnent la réalisation de cet examen à la présence supplémentaire de facteurs de résistance sont trop restrictifs et ne suivent pas la règle. En revanche, le délai de rendu du résultat est très satisfaisant, puisqu'il a lieu dans les 2 jours suivant le prélèvement dans 89% des cas et dans les 3 jours pour 98% des cas.

En cas de résultat positif, seuls 42% des participants effectuent un contrôle localement dans leur laboratoire. En majorité (60%) sur le même prélèvement avec une autre technique ou sur un deuxième prélèvement avec

une autre technique, ce qui correspond aux recommandations du HCSP. Seul un LBM effectue un contrôle non pertinent sur le même prélèvement avec la même technique.

● **question 8-2 : détection génotypique de la résistance à la rifampicine sur les cultures.**

Le tableau ci-dessous détaille l'ensemble des réponses des LBM concernant l'utilisation de cette technique de détection sur les cultures.

| Réalisez-vous, dans votre LBM, la détection génotypique résistance RIF sur les cultures ? | |
|---|----|
| Oui | 50 |
| Non | 29 |
| pas de réponse | 1 |
| Total | 80 |
| Si oui : | |
| pour tout nouveau cas | 35 |
| uniquement si facteurs de résistance | 13 |
| pas de réponse | 2 |
| Total | 50 |
| Si détection de la résistance positive sur culture, délai moyen rendu résultat à partir de la positivité de la culture ? | |
| 1 jour | 22 |
| 2 jours | 15 |
| 3 jours | 7 |
| 4 jours | 3 |
| 5 jours | 1 |
| 7 jours | 1 |
| pas de réponse | 1 |
| Total | 50 |
| Si détection génotypique résistance RIF positive sur la culture, contrôle local dans votre laboratoire ? | |
| Non | 26 |
| Oui | 23 |
| pas de réponse | 1 |
| Total | 50 |
| Si oui : | |
| sur la même culture avec une autre technique | 18 |
| sur une 2ème culture avec une autre technique | 3 |
| sur la même culture avec la même technique | 1 |
| sur une 2ème culture (obtenue à partir d'un autre prélèvement) avec la même technique | 1 |
| Total | 23 |

On observe que 62,5% des participants réalisent la détection génotypique de la résistance à la rifampicine sur les cultures, soit 11% de moins que sur les prélèvements.

Dans 70% des cas, cet examen est effectué « pour tout nouveau cas », ce qui correspond aux recommandations du HCSP. Les treize LBM qui conditionnent la réalisation de cet examen à la présence supplémentaire de facteurs de résistance sont trop restrictifs. Quant au délai de rendu du résultat, il est satisfaisant, puisqu'il a lieu dans les 2 jours suivant la positivité de la culture dans 75% des cas et dans les 3 jours dans 89,8% des cas.

En cas de résultat positif, seuls 47% des participants effectuent un contrôle localement dans leur laboratoire. En majorité (60%) sur la même culture avec une autre technique ou sur une deuxième culture avec une autre technique, ce qui correspond aux recommandations du HCSP. Seul un LBM effectue un contrôle non pertinent sur la même culture avec la même technique.

• questions 8-3 et 8-4 :

- en cas de détection génotypique de la résistance à la rifampicine positive sur prélèvement ou culture, envoi systématique à un laboratoire extérieur pour contrôle ?
- si la détection génotypique de la résistance à la rifampicine n'est pas réalisée dans le laboratoire, envoi du prélèvement ou de la culture de tout nouveau cas à un laboratoire extérieur ?

Selon le tableau ci-dessous, sur les 80 participants ayant répondu au questionnaire, soixante réalisent la détection génotypique de la résistance à la rifampicine sur prélèvement et/ou culture et vingt n'effectuent pas cet examen dans leur laboratoire.

| détection génotypique résistance RIF sur : | | |
|--|----------------|----------|
| prélèvement ? | culture ? | effectif |
| oui | non | 10 |
| oui | oui | 49 |
| non | oui | 1 |
| non | non | 19 |
| non | pas de réponse | 1 |
| Total | | 80 |

Parmi les soixante LBM qui réalisent cette analyse, 78% envoient systématiquement le prélèvement et/ou la culture pour contrôle à un laboratoire externe en cas de résultat positif. Le plus souvent au CNR (79%), ou bien à un CHU (11%), aux LBM Cerba ou Biomnis (6%) ou à un autre groupement (4%).

En ce qui concerne les vingt LBM qui ne réalisent pas cet examen (détection génotypique de la résistance à la rifampicine), seuls 11 d'entre eux envoient le prélèvement ou la culture de tout nouveau cas à un laboratoire externe pour réaliser cet examen.

Sur les 59 LBM qui détectent la résistance à la rifampicine sur les prélèvements par une ou plusieurs méthodes génotypiques, nous avons vu précédemment (question 8-1) qu'en cas de résultat positif, seuls 42% (25/59) effectuent un contrôle localement dans leur laboratoire. Le tableau suivant détaille les contrôles effectués localement ou à l'extérieur par ces 59 LBM, en cas de résultat positif sur un prélèvement.

| Contrôle local ? | Contrôle par un LBM extérieur ? | | |
|------------------|---------------------------------|-----|-------|
| | Non | Oui | Total |
| Non | 6 | 28 | 34 |
| Oui | 7 | 18 | 25 |
| Total | 13 | 46 | 59 |

De même, sur les 50 LBM qui détectent la résistance à la rifampicine sur les cultures par une ou plusieurs méthodes génotypiques, on a vu précédemment (question 8-2) qu'en cas de résultat positif, seuls 47% (23/50) effectuent un contrôle localement dans leur laboratoire. Le tableau suivant détaille les contrôles effectués localement ou à l'extérieur par ces 50 LBM, en cas de résultat positif sur une culture.

| Contrôle local ? | Contrôle par un LBM extérieur ? | | |
|------------------|---------------------------------|-----|-------|
| | Non | Oui | Total |
| Non | 7 | 19 | 26 |
| Oui | 6 | 17 | 23 |
| pas de réponse | | 1 | 1 |
| Total | 13 | 37 | 50 |

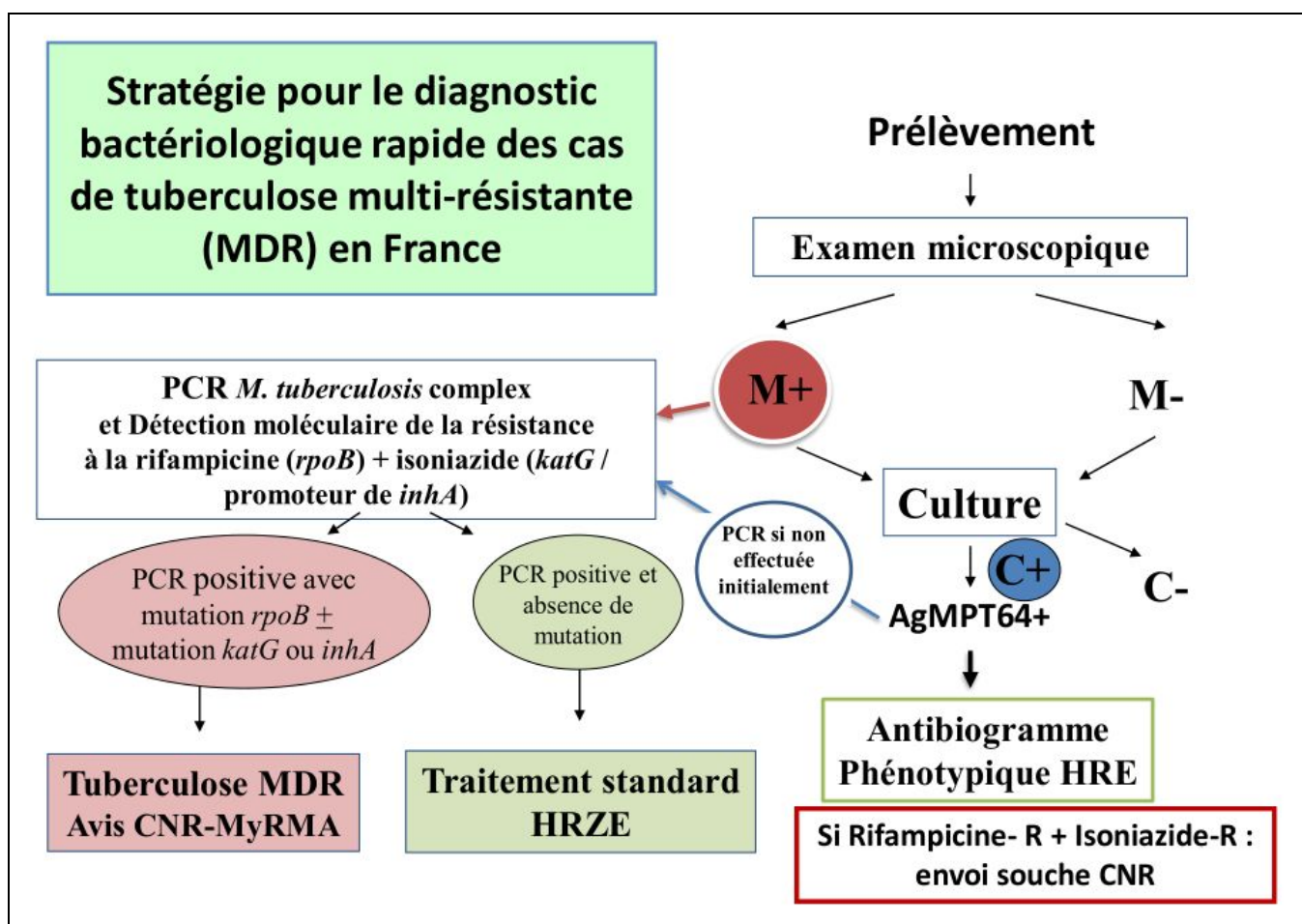
Pour rappel, le HCSP recommande dans son rapport de décembre 2014 que :

Tout nouveau patient pour lequel les prélèvements ont un résultat d'examen microscopique positif (M+), ou pour lequel l'examen microscopique est négatif mais la culture positive, doit bénéficier d'un test moléculaire confirmant qu'il s'agit bien d'une mycobactérie du complexe tuberculosis (PCR *M. tuberculosis* complex) et d'une recherche de mutations du gène *rpoB* conférant la résistance à la rifampicine. Cette recherche peut être utilement couplée à la recherche de mutations conférant la résistance à l'isoniazide. Le résultat de ces tests doit pouvoir être disponible dans un délai maximal de 72 heures.

Lorsqu'une mutation prédictive de résistance à la rifampicine est détectée, éventuellement associée à une mutation conférant la résistance à l'isoniazide, cette mutation doit être confirmée par une autre technique moléculaire (si la première technique a été appliquée directement sur un prélèvement, appliquer de préférence la deuxième technique sur un autre prélèvement si celui-ci peut être obtenu).

Si le laboratoire d'origine n'a pas la capacité d'effectuer intégralement ces tests génotypiques et phénotypiques, il contacte le laboratoire de bactériologie spécialisé en mycobactériologie du centre hospitalier universitaire le plus proche afin que celui-ci puisse les effectuer dans les délais recommandés ou bien le cas échéant le CNR.

En cas de résistance détectée par méthode moléculaire ou phénotypique, il est recommandé que la souche soit adressée sans délai au Centre national de référence (CNR-MyRMA) chargé de réaliser les tests complémentaires (résistance à l'ensemble des antituberculeux, génotypage...) et de conserver les souches XDR (autorisation spécifique).



M+ : examen microscopique positif (recherche BAAR)

PCR : Polymerase Chain Reaction

HRZE : isoniazide (H), rifampicine (R), pyrazynamide (Z), éthambutol (E)

Bibliographie

- (1) Rapport du HCSP, Tuberculose multirésistante et place des tests de biologie moléculaire, 16-18 décembre 2014
- (2) Avis du HCSP relatif aux lignes directrices du diagnostic de la tuberculose à bacilles résistants, 16-18 décembre 2014

ANNEXE 1

Liste des mycobactéries et codes associés

| CODE | identification au choix : |
|------|---|
| GMTC | Mycobacterium tuberculosis complex |
| GMTU | Mycobacterium tuberculosis sensu stricto |
| GMAF | M. africanum |
| GMMI | M. microti |
| GMBO | M. bovis |
| GMBB | M. bovis BCG |
| GMCP | M. caprae |
| GMCN | M. canettii |
| GMPI | M. pinnipedii |
| GMNT | mycobactérie non tuberculeuse (autre que M. tuberculosis complex) |
| GMAB | M. abscessus |
| GMCH | M. chelonae |
| GMGO | M. gordonae |
| GMAC | Mycobacterium avium complex (MAC) |
| GMAV | M. avium sensu stricto |
| GMCI | M. chimaera |
| GMIN | M. intracellulare |
| GMMA | M. marseillense |
| GMMS | M. massiliense |
| GMTI | M. timonense |
| GMCO | M. colombiense |
| GMBR | M. bouchedurhonense |
| GMBL | M. bolletii |
| GMVU | M. vulneris |
| GMAE | M. arosiense |
| GMAI | M. avium-M. intracellulare-M. scrofulaceum (MAIS complex) |
| GMSC | M. scrofulaceum |
| GMFO | M. fortuitum |
| GMKA | M. kansasii |
| GMUL | M. ulcerans |
| GMMU | M. marinum |
| GMSI | M. simiae |
| GMXE | M. xenopi |
| GMHA | M. haemophilum |
| GMPE | M. peregrinum |
| GMLL | M. malmoense |
| GMIJ | M. interjectum |
| GMSM | M. smegmatis |
| GMGE | M. genavense |
| GMCE | M. celatum |
| GXXX | Mycobacterium autre espèce (pas dans la liste) |

ANNEXE 2

Liste des réactifs d'identification des mycobactéries et codes associés

| Immunochromatographie (Ag MPT64) | | |
|--|-----------------------------------|--|
| IDI01 | ALERE (SD Bioline) | TB Ag MPT64 Rapid |
| IDI02 | ALL DIAG | MYCOBACTOP MPT64 |
| IDI03 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | TBCheck MPT64 |
| IDI04 | Becton Dickinson | MGIT TBc Identification Test |
| Méthodes moléculaires (DNA-strip, hybridation, RT PCR) | | |
| IDM01 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type MTBDRplus |
| IDM02 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type MTBC |
| IDM03 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type Mycobacterium CM |
| IDM04 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type Mycobacterium AS |
| IDM24 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type NTM-DR |
| IDM05 | INNOGENETICS (Fujirebio) | INNO-LiPA Mycobacteria V2 |
| IDM06 | INNOGENETICS (Fujirebio) | INNO-LiPA Rif.TB |
| IDM07 | HOLOGIC GenProbe | AccuProbe Mycobacterium tuberculosis complex |
| IDM08 | HOLOGIC GenProbe | AccuProbe Mycobacterium avium complex |
| IDM09 | HOLOGIC GenProbe | AccuProbe Mycobacterium avium |
| IDM10 | HOLOGIC GenProbe | AccuProbe Mycobacterium intracellulare |
| IDM11 | HOLOGIC GenProbe | AccuProbe Mycobacterium gordonae |
| IDM12 | HOLOGIC GenProbe | AccuProbe Mycobacterium kansasii |
| IDM13 | CEPHEID | Gene Xpert MTB/RIF |
| IDM23 | GENEPROOF | Mycobacterium tuberculosis PCR kit |
| IDM14 | SEEGENE | Anyplex plus MTB/NTM MDR-TB Detection |
| IDM15 | SEEGENE | Anyplex II MTB/MDR Detection |
| IDM16 | SEEGENE | Anyplex II MTB/MDR/XDR Detection |
| IDM17 | BECTON DICKINSON | ProbeTec ET DTB |
| IDM18 | ABBOTT | real Time MTB |
| IDM19 | ROCHE | Cobas TaqMan MTB test |
| IDM20 | QIAGEN | Artus M. tuberculosis LC PCR |
| IDM21 | ELITECH | MTB Q-PCR Alert kit |
| IDM22 | PATHOFINDER | Real Accurate MT PCR kit |
| IDMXX | autre réactif (pas dans la liste) | |
| Spectrométrie de masse MALDI-TOF | | |
| IDS01 | BIOMERIEUX - Vitek MS | |
| IDS02 | BRUKER - Maldi Biotyper | |
| IDS03 | ANDROMAS | |

ANNEXE 3

Liste des réactifs d'antibiogramme et codes associés

| Méthodes moléculaires | | |
|--|--|---------------------------------------|
| ATM01 | INNOGENETICS (Fujirebio) | INNO-LiPA Rif.TB |
| ATM02 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type MTBDRplus |
| ATM03 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type MTBDRsl Version1 |
| ATM04 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | Geno Type MTBDRsl Version2 |
| ATM05 | CEPHEID | Gene Xpert MTB/RIF |
| ATM06 | SEEGENE | Anyplex plus MTB/NTM MDR-TB Detection |
| ATM07 | SEEGENE | Anyplex II MTB/MDR Detection |
| ATM08 | SEEGENE | Anyplex II MTB/MDR/XDR Detection |
| ATM09 | ABBOTT | realTime MTB Rif/INH resistance |
| ATMXX | autre réactif (pas dans la liste) | |
| Méthodes phénotypiques (milieux solides ou liquides) | | |
| ATP01 | Méthode des proportions sur Lowenstein Jensen BIORAD | |
| ATP02 | Méthode des proportions sur Lowenstein Jensen BIOMERIEUX | |
| ATP03 | Méthode des proportions sur 7H10/7H11 | |
| ATP04 | Becton Dickinson | BACTEC MGIT 960 SIRE |
| ATP05 | Becton Dickinson | BACTEC MGIT 960 INH 0,4 |
| ATP06 | Becton Dickinson | BACTEC MGIT 960 STR 4 |
| ATP07 | Becton Dickinson | BACTEC MGIT 960 EMB 7,5 |
| ATP08 | Becton Dickinson | BACTEC 460 |
| ATP09 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | automate VersaTREK SIRE + PZA |
| ATP10 | BIOCENTRIC (Hain Lifescience) | sensititre MYCOTB |
| ATPXX | autre réactif (pas dans la liste) | |

ANNEXE 4

QUESTIONNAIRE CNR mycobactéries / ANSM / Opération de contrôle CNQ 16BAC2

Question n° 1 : Nombre de prélèvements reçus dans votre LBM pour recherche de mycobactéries pendant la période du 01/01/2015 au 31/12/2015 |__|__|__|__|__|

Question n° 2 : Nombre de cultures positives à *M. tuberculosis* complex pendant la période du 01/01/2015 au 31/12/2015 |__|__|__|__|__|

Question n° 3 : Nombre de cas de tuberculose à cultures positives pendant la période du 01/01/2015 au 31/12/2015 |__|__|__|__|__|

Question n° 4 : Cette opération de contrôle comprend deux analyses : identification mycobactérienne sur culture et antibiogramme des souches de *M. tuberculosis* complex. Cochez ci-dessous celles réalisées dans votre LBM :

- J'effectue l'identification de *M. tuberculosis* complex mais pas des mycobactéries atypiques
- J'effectue l'identification de *M. tuberculosis* complex et des mycobactéries atypiques
- Je n'effectue pas l'antibiogramme de *M. tuberculosis* complex ni des mycobactéries atypiques
- J'effectue l'antibiogramme de *M. tuberculosis* complex mais pas des mycobactéries atypiques
- J'effectue l'antibiogramme de *M. tuberculosis* complex et des mycobactéries atypiques

Question n° 5 : Si vous effectuez l'une ou l'autre des analyses mentionnées ci-dessus, travaillez-vous en laboratoire de confinement NSB3 (L3) : oui/non

Question n° 6 : Si vous n'effectuez pas l'une ou l'autre des analyses mentionnées ci-dessus, merci d'indiquer à quel type de laboratoire vous sous traitez cette(ces) analyse(s) :

- CHU
- Cerba ou Biomnis
- CNR mycobactéries
- Institut Pasteur
- Autre groupement de LBM

Question n° 7 : A l'intérieur du complexe *M. tuberculosis*, cochez dans la liste ci-dessous, la (les) espèce(s) que vous pouvez identifier dans votre LBM :

- aucune
- M. tuberculosis* sensu stricto
- M. bovis*
- M. bovis* BCG
- M. africanum*
- M. canettii*
- M. microti*
- M. caprae*

Question n° 8 : Concernant la détection génotypique de la résistance à la rifampicine

8 - 1/ Réalisez-vous, dans votre laboratoire, la détection génotypique de la résistance à la rifampicine directement sur les prélèvements ? oui/non

- Si oui :

- sur tous les prélèvements
- sur tout examen microscopique positif d'un nouveau cas
- sur examen microscopique positif d'un nouveau cas uniquement si facteurs de résistance

- Si la détection de la résistance est positive, quel est le délai moyen de rendu du résultat à partir de la réalisation du prélèvement ?

- 1 jour
- 2 jours
- 3 jours
- 4 jours
- 5 jours
- 6 jours
- 7 jours

- En cas de détection génotypique de la résistance à la rifampicine positive sur un prélèvement, contrôlez-vous ce résultat positif localement dans votre laboratoire ? oui/non

Si oui :

- sur le même prélèvement avec la même technique
- sur le même prélèvement avec une autre technique
- sur un 2^{ème} prélèvement avec la même technique
- sur un 2^{ème} prélèvement avec une autre technique
- sur le même + 2^{ème} prélèvement avec la même technique
- sur le même + 2^{ème} prélèvement avec une autre technique

8 - 2/ Réalisez-vous, dans votre laboratoire, la détection génotypique de la résistance à la rifampicine sur les cultures ? oui/non

- Si oui :

- sur tout nouveau cas
- uniquement si facteurs de risque de résistance

- Si oui, en cas de détection positive de la résistance, quel est le délai moyen de rendu du résultat à partir de la positivité de la culture ?

- 1 jour
- 2 jours
- 3 jours
- 4 jours
- 5 jours
- 6 jours
- 7 jours

- En cas de détection génotypique de la résistance à la rifampicine positive sur la culture, contrôlez-vous ce résultat positif localement dans votre laboratoire ? oui/non

Si oui :

- sur la même culture avec la même technique
- sur la même culture avec une autre technique
- sur une 2^{ème} culture (obtenue à partir d'un autre prélèvement) avec la même technique
- sur une 2^{ème} culture avec une autre technique
- sur la même + 2^{ème} culture avec la même technique
- sur la même + 2^{ème} culture avec une autre technique

8 - 3/ En cas de détection génotypique de la résistance à la rifampicine positive sur le prélèvement ou la culture, envoyez-vous systématiquement le prélèvement ou la culture pour contrôle à l'extérieur ? oui/non

Si oui, à quel type de laboratoire ?

- CHU
- Cerba ou Biomnis
- CNR mycobactéries
- Institut Pasteur
- Autre groupement de LBM

8 - 4/ Si vous ne réalisez pas cet examen (détection génotypique de la résistance à la rifampicine) dans votre laboratoire, envoyez- vous le prélèvement ou la culture de tout nouveau cas à l'extérieur ? oui/non

Si oui, à quel type de laboratoire ?

- CHU
- Cerba ou Biomnis
- CNR mycobactéries
- Institut Pasteur
- Autre groupement de LBM