



Tests d'hybridation inverse sur bandelette pour la détection de la tuberculose pharmaco-résistante

Guide pour l'interprétation et la présentation des résultats destiné au personnel de laboratoire et aux cliniciens



Tests d'hybridation inverse sur
bandelette pour la détection de la
tuberculose pharmaco-résistante
Guide pour l'interprétation et la présentation
des résultats destiné au personnel de
laboratoire et aux cliniciens



Sommaire

Abréviations	v
Glossaire	vi
Remerciements	vii
À propos de ce guide	viii
Introduction	1
Principe du test d'hybridation inverse sur bandelette	2
Genotype MTBDRplus Version 2	3
Genotype MTBDRsl Version 2	3
Interprétation et présentation des résultats des tests d'hybridation inverse sur bandelette	3
Modifications apportées aux interprétations du fabricant	5
Mesures diagnostiques complémentaires pour le choix du traitement approprié contre la tuberculose	8
Interprétation des tests d'hybridation inverse sur bandelette (LPA) pour les médicaments de première intention (FL)	11
Rifampicine	11
Isoniazide	13
Interprétation des tests d'hybridation inverse sur bandelette (LPA) pour les médicaments de deuxième intention (SL)	16
Fluoroquinolones	16
Antituberculeux injectables de deuxième intention	20
Études de cas : Exemples d'évaluations de la tuberculose pharmacorésistante selon les SL-LPA	23
Références	30
Annexe 1. Modèle de rapport pour les FL-LPA – Cas pratiques	33
Annexe 2. Modèle de rapport pour les SL-LPA – Cas pratiques	35
Annexe 3. Substitutions de nucléotides spécifiques détectées par les sondes MUT	37

Abréviations

Am	amikacine
CB	clinical breakpoint (seuil clinique)
CC	concentration critique
Cm	capréomycine
CMI	concentration minimale inhibitrice
Eto	éthionamide
FL-LPA	first line – line probe assay (test d’hybridation inverse sur bandelette pour les médicaments de première intention)
FQ	fluoroquinolones
H	isoniazide
Km	kanamycine
Lfx	lévofloxacine
LPA	line probe assay (test d’hybridation inverse sur bandelette)
NTM	mycobactérie non tuberculeuse
Mfx	moxifloxacine
MTBC	complexe <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MUT	sonde spécifique de la mutation
Pto	prothionamide
QRDR	région déterminant la résistance aux quinolones résistant
RRDR	région déterminant la résistance à la rifampicine
Rif	rifampicine
S	sensible
SLI	second-line injectable (agent injectable de deuxième intention, p. ex. kanamycine, amikacine, capréomycine)
SL-LPA	second line – line probe assay (test d’hybridation inverse sur bandelette pour les médicaments de deuxième intention)
TB	tuberculose
TB-MR	tuberculose multirésistante
TDS	test de pharmaco-sensibilité
WT	wild-type (type sauvage)

Glossaire

Concentration critique (CC) : Concentration la plus faible d'agent antituberculeux permettant d'inhiber *in vitro* la croissance de 99 % des souches de phénotype sauvage du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC).

Seuil clinique (CB) : concentration/s d'agent antimicrobien définissant une concentration minimale inhibitrice (CMI) au-dessus de la concentration critique qui sépare les souches susceptibles de répondre au traitement de celles non susceptibles de répondre au traitement. Cette concentration est déterminée par plusieurs variables, incluant celles *in vivo*, telles que la corrélation avec les données cliniques concernant la réponse au traitement et les données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, notamment la dose de médicament, ainsi que les distributions des CMI et les marqueurs génétiques. Il est possible d'augmenter la dose pour contrer la résistance observée à des doses plus faibles jusqu'à ce que la dose maximale tolérée soit atteinte, et par conséquent d'appliquer un seuil clinique plus élevé au-dessus duquel il n'est pas recommandé d'utiliser le médicament en question. Le seuil clinique est utilisé pour orienter les décisions cliniques individuelles dans le traitement des patients.

Concentration minimale inhibitrice (CMI) : Concentration la plus faible d'agent antimicrobien permettant d'inhiber la croissance de plus de 99 % d'un microorganisme sur milieu solide ou lors d'un test de sensibilité par dilution en bouillon.

En général, lorsque les CMI testées avec une méthode standardisée sont regroupées sur une espèce, une seule distribution gaussienne des CMI se forme, ce qui correspond à la distribution des phénotypes sauvages (pWT) pour cette espèce (c.-à-d. la distribution pour les organismes dépourvus de mécanismes de résistance détectables sur le plan phénotypique). Des distributions supplémentaires avec des CMI globalement plus élevées sont parfois identifiées et correspondent à des organismes intrinsèquement ou naturellement résistants (p. ex. distribution des phénotypes non sauvages).

Remerciements

Ce guide a été conçu comme produit de collaboration du groupe central de l'*Initiative mondiale des laboratoires* (GLI). Son élaboration a été dirigée et menée à bien par Elisa Tagliani et Daniela Cirillo (Institut scientifique San Raffaele), avec la contribution de Elisa Ardizzoni, Bouke de Jong et Leen Rigouts (Institut de Médecine Tropicale d'Anvers). Nous remercions particulièrement les membres de l'équipe du GLI pour leurs importantes contributions, notamment Heather Alexander, Olajumoke Tubi Abiola, Maka Akhalaia, Heidi Albert, Uladzimir Antonenka, Martina Casenghi, Petra de Haas, Kathleen England, Lucilaine Ferrazoli, Marguerite Massinga Loembe, Alaine Umbyeyi Nyaruhirira, Daniel Orozco, Kaiser Shen, Thomas Shinnick, Alena Skrahina, Sabira Tahseen, et Hung Van Nguyen. Durant la finalisation de ce guide, les efforts de coordination et les apports techniques ont été assurés par Dennis Falzon, Christopher Gilpin, Lice González-Angulo, Alexei Korobitsyn, Fuad Mirzayev et Karin Weyer du Programme mondial de lutte contre la tuberculose (GTB) de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS).

Nous avons apprécié les commentaires fournis par les partenaires et les intervenants suivants : Ignacio Monedero-Recuero de l'*Initiative mondiale contre la tuberculose pharma-corésistante* (GDI) ; Paolo Miotto (Institut scientifique San Raffaele) ; Claudio Köser (Université de Cambridge); Natalia Shubladze (membre du groupe central de l'*Initiative européenne des laboratoires* (ELI) ; et Soudeh Ehsani du bureau régional de l'OMS pour l'Europe.

Les auteurs ont pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier l'exactitude des informations présentées dans cette publication. Cependant, le matériel publié est distribué sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas les auteurs ne pourront être tenus responsables de tout dommage résultant de son utilisation.

Le GLI est un groupe de travail du Partenariat Halte à la tuberculose. L'élaboration et la publication de ce document ont été réalisées grâce au soutien financier de l'Agence des États-Unis pour le développement international (USAID).

Traduction : Apostroph Group. Relecture : Marguerite Massinga Loembe.

Image de couverture réalisée par © Alicephotography. La mise en page et la réalisation de ce guide ont été effectuées avec un minimum d'éléments graphiques.

À propos de ce guide

Ce document a été conçu pour servir de guide pratique pour l'interprétation des tests d'hybridation inverse sur bandelette (LPA) de première intention (FL) et de deuxième intention (SL) les plus couramment utilisés (p. ex. les tests GenoType MTBDR*plus* V2.0 et GenoType MTBDRs/ V2.0 ; Hain LifeScience, Allemagne). Outre l'interprétation des mutations identifiées par les deux tests, ce guide comprend également des recommandations pratiques concernant les mesures diagnostiques complémentaires qui doivent être prises en présence de mutations spécifiques et les conséquences cliniques qu'ont ces mutations sur le choix d'un schéma thérapeutique approprié contre la tuberculose (TB).

Ce guide a pour but de fournir des informations aussi bien au personnel de laboratoire qu'aux cliniciens sur :

- l'association entre des mutations spécifiques détectées par le test et une pharmaco-résistance phénotypique ;
- les cas où des mutations conférant une résistance spécifique ne sont pas identifiés et que la résistance peut uniquement être supposée ;
- les conséquences cliniques des mutations spécifiques détectées par les tests.

Le guide apporte également une aide spécifique aux équipes des laboratoires nationaux et régionaux spécialisés dans la tuberculose afin de mieux comprendre et gérer les éventuelles discordances entre les tests de sensibilité aux médicaments (TDS) phénotypiques et génotypiques.

Ce guide décrit les mutations identifiées par les bandelettes des tests FL-LPA et SL-LPA, notamment les informations relatives à leur association avec une pharmaco-résistance phénotypique selon les travaux publiés par Miotto et al. (1) et avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les médicaments de première et deuxième intention comme l'a récemment rapporté l'OMS (2, 3). L'interprétation des tests, les tests diagnostiques complémentaires et les conséquences cliniques découlant de la présence de mutations spécifiques, ainsi que les conséquences cliniques dans les cas où la résistance est supposée sont également présentés.

Enfin, le guide présente des études de cas individuels pour montrer comment les informations doivent être rapportées aux cliniciens, des exemples de résultats de LPA et un modèle de rapport tel que recommandé par les auteurs.

Introduction

Au cours des vingt dernières années, une meilleure compréhension des bases moléculaires de la pharmaco-résistance a permis le développement d'un grand nombre de méthodes génotypiques pour une détermination rapide de la sensibilité et de la résistance aux médicaments antituberculeux. En plus de la rapidité du diagnostic, les tests moléculaires ont d'autres avantages. Par exemple, il est possible d'utiliser directement des échantillons cliniques (sans avoir besoin d'isoler préalablement la souche en culture solide ou liquide) et des échantillons contenant des bactéries non viables (p. ex. les bactéries tuées par la chaleur ou par inactivation chimique), d'atteindre un rendement élevé et de réduire les exigences en matière de biosécurité.

En 2008, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a approuvé l'utilisation du GenoType MTBDR*plus* (désigné par GenoType MTBDR*plus* V1), test d'hybridation inverse sur bandelette (LPA) pour les médicaments de première intention (FL), pour la détection rapide de la tuberculose multirésistante (TB-MR) (4). Par la suite, de nouvelles versions de la technologie LPA ont été développées depuis 2011, dont (i) le GenoType MTBDR*plus* version 2 (désigné par GenoType MTBDR*plus* V2), et (ii) le Nipro NTM+MDRTB detection kit 2 (désigné par « Nipro », Tokyo, Japon). Ces nouveaux LPA visent à améliorer la sensibilité de la détection du MTBC (complexe *Mycobacterium tuberculosis*) et à détecter en parallèle la résistance à la rifampicine (Rif) et à l'isoniazide (H). En 2015, la Fondation pour de nouveaux diagnostics innovants (FIND) a évalué les LPA Nipro et GenoType MTBDR*plus* V2 et les a comparés au GenoType MTBDR*plus* V1. L'étude a démontré que ces trois LPA disponibles sur le marché étaient équivalents pour la détection de la TB et de la résistance à la Rif et à l'H (5).

Le premier LPA commercialisé pour la détection de la résistance aux médicaments contre la TB de deuxième intention a été le GenoType MTBDR*s*/ version 1.0, développé par Hain Lifescience il y a 10 ans (désigné par GenoType MTBDR*s*/ V1). Une nouvelle version du test (GenoType MTBDR*s*/ V2) qui détecte les mutations associées aux résistances aux fluoroquinolones et aux médicaments injectables de deuxième intention (SLI) détectées par la version 1.0, ainsi que des mutations supplémentaires (décrites dans la section ci-dessous), est arrivée en 2015.

L'année suivante, l'OMS a publié des recommandations concernant l'utilisation des FL-LPA disponibles sur le marché (p. ex. GenoType MTBDR*plus* V1, GenoType MTBDR*plus* V2, et Nipro) en tant que test initial plutôt que les tests de sensibilité aux médicaments (DST) phénotypiques pour détecter la résistance à Rif et à H (6). Par ailleurs, des recommandations concernant l'utilisation du GenoType MTBDR*s*/ (V1 et V2) pour détecter la résistance aux fluoroquinolones et aux médicaments SLI chez les patients résistants à la rifampicine et ceux atteints de tuberculose multirésistante, et visant à orienter le choix d'un schéma thérapeutique approprié contre la tuberculose multirésistante ont également été publiées par l'OMS en 2016 (7).

Pour une description plus détaillée de la place des FL-LPA et SL-LPA dans les algorithmes de diagnostic de la TB, se référer au document *Algorithmes de diagnostic de la tuberculose – Modèle de l'Initiative mondiale pour les laboratoires* (GLI) (mis à jour en juin 2018) (8).

L'objectif de ce document qui est axé sur les deux LPA les plus couramment utilisés (c.-à-d. GenoType MTBDR*plus* V2 et GenoType MTBDR*s/* V2) est de servir de guide au personnel de laboratoire et aux cliniciens pour l'interprétation des résultats des FL-LPA et des SL-LPA, et de mieux comprendre et gérer les éventuelles discordances entre les DST phénotypiques et génotypiques.

Principe du test d'hybridation inverse sur bandelette

Les tests d'hybridation inverse sur bandelette font partie des tests ADN sur bandelettes qui permettent de déterminer le profil de pharmacorésistance d'une souche du MTBC à travers le schéma de fixation d'amplicons (produits d'amplification de l'ADN) aux sondes ciblant les mutations les plus souvent associées à une résistance aux agents de première et deuxième intention et aux sondes ciblant la séquence d'ADN de type sauvage (WT) correspondante.

Les LPA sont des tests approuvés par l'OMS permettant la détection rapide de la pharmacorésistance aux agents de première et deuxième intention. Ils peuvent être utilisés pour tester des isolats de cultures (tests indirects), mais également pour faire des tests directs sur des échantillons à frottis positif pour les bacilles acidorésistants (AFB) par examen microscopique (FL-LPA), et des échantillons d'expectorations à frottis positif et à frottis négatif (SL-LPA) (6, 7).

Les mutations sont détectées par : (i) la fixation des amplicons aux sondes ciblant les mutations les plus fréquentes (sondes MUT) ou (ii) sont supposées du fait de l'absence d'hybridation (c.-à-d. absence de fixation) des amplicons aux sondes WT correspondantes.

La réaction de post-hybridation aboutit à la formation de bandes colorées sur la bandelette de test qui détecte la fixation de la sonde.

Il convient de rappeler qu'à l'instar d'autres tests rapides actuellement approuvés par l'OMS, les LPA ont leurs limites :

- Même si les LPA peuvent détecter les mutations les plus souvent identifiées dans les souches résistantes, certaines mutations conférant une résistance sont situées en dehors des régions ciblées par le test, et donc, une résistance ne peut pas être complètement exclue, même en présence de toutes les sondes WT. Par conséquent, il peut être nécessaire dans certains cas d'effectuer un TDS supplémentaire pour permettre une évaluation complète.
- Certaines mutations sont spécifiquement identifiées par les sondes MUT, alors que d'autres sont seulement supposées du fait de l'absence de fixation des amplicons sur les sondes WT. L'absence de liaison d'une sonde WT sans fixation simultanée d'une sonde mutante est probablement causée par la présence d'une mutation de résistance. Cependant, des erreurs systématiques sont possibles en raison de mutations synonymes et non synonymes (p. ex. mutations phylogénétiques). Ceci est rare à l'échelle mondiale (< 1 % des isolats), mais ces isolats peuvent être nombreux au niveau local (9).

- Le LPA est moins efficace que le DST conventionnel en culture pour détecter une résistance dans des échantillons contenant à la fois des bactéries pharmaco-résistantes et pharmaco-sensibles (hétérorésistance). En particulier, avec le LPA, il est possible de détecter des bactéries résistantes avec des mutations détectées par les sondes MUT si les bactéries résistantes représentent au moins 5 % de la population totale. Cependant, les bactéries résistantes dont les mutations sont supposées du fait de l'absence de sondes WT seront probablement manquées si la population résistante représente moins de 95 % de la population bactérienne totale (10, 11).

Dans l'ensemble, la sensibilité et spécificité concernant les différents médicaments ciblés par les LPA sont décrites en détail dans d'autres documents (12, 13). En bref, le FL-LPA a montré une sensibilité et une spécificité de respectivement 96,7 % et 98,8 % pour la détection de la résistance à la Rif, et une sensibilité et une spécificité de respectivement 90,2 % et 99,2 % pour la détection de la résistance à l'H (12). Le SL-LPA (GenoType MTBDRs/ V1) a montré une sensibilité et une spécificité combinées de respectivement 86,2 % et 98,6 % pour la détection de la résistance aux fluoroquinolones par test direct, et une sensibilité et une spécificité combinées de respectivement 87,0 % et 99,5 % pour la détection de la résistance aux médicaments injectables de deuxième intention (13).

GenoType MTBDR*plus* Version 2

Le GenoType MTBDR*plus* (Figure 1a) cible des mutations spécifiques dans la région déterminant la résistance à la rifampicine (RRDR) du gène *rpoB* (du codon 505 à 533) (Figure 2) pour détecter la résistance à Rif, et des mutations dans le promoteur *inhA* (des nucléotides -16 à -8 en amont) et les régions du *katG* (codon 315) pour identifier la résistance à H. Les substitutions de nucléotides spécifiques détectées par le test sont décrites dans la section « Annexes ».

GenoType MTBDRs/ Version 2

La seconde version du GenoType MTBDRs/ (Figure 1b) comprend la région déterminant la résistance aux quinolones (QRDR) des gènes *gyrA* (du codon 85 au 96) (Figure 3) et *gyrB* (du codon 536 au 541) (16) pour la détection de la résistance aux fluoroquinolones et la région des promoteurs *rrs* (positions sur l'acide nucléique 1401, 1402 et 1484) et *eis* (des nucléotides -37 à -2 en amont) pour la détection de la résistance aux médicaments SLI. Il convient de noter que les régions précises couvertes par toutes les sondes MUT n'ont pas été révélées et que seules quelques régions couvertes par les sondes WT sont connues (voir Figures 2 et 3). Les changements de nucléotides spécifiques détectés par les sondes MUT sont décrits dans la section « Annexes ».

Interprétation et rapportage des résultats des tests d'hybridation inverse sur bandelette

Le LPA possède deux contrôles internes sur la bandelette : le **Contrôle conjugué** (ligne 1), et le **Contrôle d'amplification** (ligne 2) (Figure 1). La ligne du Contrôle conjugué doit toujours être visible pour démontrer l'efficacité de la fixation du conjugué et de la réaction du substrat. Le Contrôle d'amplification sert de référence pour l'interprétation des sondes WT et MUT : seules les bandes dont les intensités sont

Figure 1. Configuration des bandelettes du GenoType MTBDRplus V2 (a) et du GenoType MTBDRs/ V2 (b)**a (14)**

Line	
1	Contrôle conjugué
2	Contrôle d'amplification
3	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex TUB
4	<i>rpoB</i> Zone de contrôle <i>rpoB</i>
5	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 1 <i>rpoB</i> WT1
6	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 2 <i>rpoB</i> WT2
7	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 3 <i>rpoB</i> WT3
8	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 4 <i>rpoB</i> WT4
9	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 5 <i>rpoB</i> WT5
10	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 6 <i>rpoB</i> WT6
11	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 7 <i>rpoB</i> WT7
12	<i>rpoB</i> sonde de type sauvage 8 <i>rpoB</i> WT8
13	<i>rpoB</i> sonde de mutation 1 <i>rpoB</i> MUT1
14	<i>rpoB</i> sonde de mutation 2A <i>rpoB</i> MUT2A
15	<i>rpoB</i> sonde de mutation 2B <i>rpoB</i> MUT2B
16	<i>rpoB</i> sonde de mutation 3 <i>rpoB</i> MUT3
17	<i>katG</i> Zone de contrôle <i>katG</i>
18	<i>katG</i> sonde de type sauvage <i>katG</i> WT
19	<i>katG</i> sonde de mutation 1 <i>katG</i> MUT1
20	<i>katG</i> sonde de mutation 2 <i>katG</i> MUT2
21	<i>inhA</i> Zone de contrôle <i>inhA</i>
22	<i>inhA</i> sonde de type sauvage 1 <i>inhA</i> WT1
23	<i>inhA</i> sonde de type sauvage 2 <i>inhA</i> WT2
24	<i>inhA</i> sonde de mutation 1 <i>inhA</i> MUT1
25	<i>inhA</i> sonde de mutation 2 <i>inhA</i> MUT2
26	<i>inhA</i> sonde de mutation 3A <i>inhA</i> MUT3A
27	<i>inhA</i> sonde de mutation 3B <i>inhA</i> MUT3B
	Marqueur coloré

b (15)

Line	
1	Contrôle conjugué
2	Contrôle d'amplification
3	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex TUB
4	<i>gyrA</i> Zone de contrôle <i>gyrA</i>
5	<i>gyrA</i> sonde de type sauvage 1 <i>gyrA</i> WT1
6	<i>gyrA</i> sonde de type sauvage 2 <i>gyrA</i> WT2
7	<i>gyrA</i> sonde de type sauvage 3 <i>gyrA</i> WT3
8	<i>gyrA</i> sonde de mutation 1 <i>gyrA</i> MUT1
9	<i>gyrA</i> sonde de mutation 2 <i>gyrA</i> MUT2
10	<i>gyrA</i> sonde de mutation 3A <i>gyrA</i> MUT3A
11	<i>gyrA</i> sonde de mutation 3B <i>gyrA</i> MUT3B
12	<i>gyrA</i> sonde de mutation 3C <i>gyrA</i> MUT3C
13	<i>gyrA</i> sonde de mutation 3D <i>gyrA</i> MUT3D
14	<i>gyrB</i> Zone de contrôle <i>gyrB</i>
15	<i>gyrB</i> sonde de type sauvage <i>gyrB</i> WT
16	<i>gyrB</i> sonde de mutation 1 <i>gyrB</i> MUT1
17	<i>gyrB</i> sonde de mutation 2 <i>gyrB</i> MUT2
18	<i>rrs</i> Zone de contrôle <i>rrs</i>
19	<i>rrs</i> sonde de type sauvage 1 <i>rrs</i> WT1
20	<i>rrs</i> sonde de type sauvage 2 <i>rrs</i> WT2
21	<i>rrs</i> sonde de mutation 1 <i>rrs</i> MUT1
22	<i>rrs</i> sonde de mutation 2 <i>rrs</i> MUT2
23	<i>eis</i> Zone de contrôle <i>eis</i>
24	<i>eis</i> sonde de type sauvage 1 <i>eis</i> WT1
25	<i>eis</i> sonde de type sauvage 2 <i>eis</i> WT2
26	<i>eis</i> sonde de type sauvage 3 <i>eis</i> WT3
27	<i>eis</i> sonde de mutation 1 <i>eis</i> MUT1
	Marqueur coloré

presque aussi fortes ou plus fortes que celle de la bande du Contrôle d'amplification doivent être prises en compte. En cas de résultat positif, le signal de la zone du Contrôle d'amplification peut être faible voir même totalement disparaître. Ce phénomène concerne le plus souvent les tests indirects, alors qu'il est rare pour les tests directs. L'absence de Contrôle d'amplification peut être due à une compétition entre réactions individuelles pendant l'amplification. Dans ce cas, le test a été effectué correctement et il peut être interprété. En cas de résultat négatif, les bandes du Contrôle conjugué et du Contrôle d'amplification doivent toujours être visibles (c.-à-d. résultat négatif valide). L'absence de Contrôle d'amplification indique qu'une erreur s'est produite lors de la préparation et/ou de la réalisation de la réaction d'amplification, ou la présence d'inhibiteurs d'amplification. Dans ce cas, le résultat du test est **non valide** et doit être répété.

La **bande de réaction TUB** (ligne 3) est présente seulement si l'ADN amplifié provient de membres du MTBC. La présence de mycobactéries non tuberculeuses (NTM) dans l'échantillon peut engendrer des profils de bandes aléatoires, avec plusieurs espèces positives au test sur certaines bandes WT *rpoB* en raison de similitudes génétiques entre les espèces. Par conséquent, en présence de bactéries NTM et non de bactéries MTBC, la bande TUB sera toujours absente, et le résultat correspondant au MTBC ne sera pas détecté.

Les bandes de la **Zone de contrôle du locus** du gène pour les différentes régions cibles analysées sur la bande d'ADN sont situées juste avant leurs bandes WT et MUT respectives. Les bandes de la Zone de contrôle d'un locus doivent toujours être présentes afin que le test soit considéré valide pour la cible correspondante. Cependant, si la bande de la Zone de contrôle du locus d'un seul gène est absente, il est possible d'interpréter les résultats des autres gènes pour lesquels la bande de la Zone de contrôle du locus du gène est présente.

Le LPA est considéré comme **indéterminé** pour un médicament ou un groupe de médicaments spécifique si la zone de contrôle du locus correspondant à ce médicament ou groupe de médicaments spécifique est absente alors que le test est valide (c.-à-d. que le Contrôle conjugué et les bandes TUB sont visibles avec ou sans le Contrôle d'amplification). Dans ce cas, le test doit être répété avant de rapporter les résultats. Si, après un nouveau test, les mêmes résultats sont obtenus, rappelez les résultats pour les loci pouvant être interprétés conformément aux instructions, et considérez que les résultats sont indéterminés pour les médicaments ou groupes de médicaments dont la Zone de contrôle est absente. Ces résultats indéterminés peuvent s'expliquer de manière logique du fait de mutations ou délétions dans la région du Contrôle du locus, mais aussi de la délétion partielle ou complète d'un gène cible. Dans ce cas, il convient d'exiger un séquençage afin d'identifier la mutation spécifique.

Les **zones de réaction WT** comprennent les régions du génome avec des mutations de résistance connues. Les **zones de réaction MUT** correspondent aux sondes qui identifient les mutations de résistance les plus fréquentes du gène étudié.

La résistance est détectée lorsque les sondes MUT sont visibles, alors qu'en l'absence de sondes WT, la résistance ne peut qu'être supposée (voir ci-dessous pour plus de détails).

La détection simultanée de toutes les sondes WT et d'une des sondes MUT dans la région cible correspondante révèle la présence d'une hétérorésistance (c.-à-d. la coexistence dans le même échantillon de bactéries sensibles et résistantes). Dans ce cas, le résultat doit être considéré comme résistant.

Modifications apportées aux interprétations du fabricant (14, 15)

Utilisation du terme « Résistance non détectée » au lieu de « Sensible » pour définir le profil de résistance des bactéries

Compte tenu des limites du LPA et en particulier du fait que la résistance ne peut totalement être exclue même en présence de toutes les sondes WT (c.-à-d. que les mutations qui confèrent une résistance ne sont pas toutes couvertes par ce test ou que les mutations qui sont couvertes peuvent être en-dessous du seuil de détection), il est préférable de rapporter le résultat comme « Résistance détectée » ou « Résistance non détectée ».

Différence entre « Résistance supposée » et « Résistance détectée »

Le terme « Résistance supposée » est utilisé lorsqu'une ou plusieurs sondes WT ne sont pas visibles dans les régions du gène connues pour conférer une résistance au médicament, et qu'aucune sonde MUT n'est visible dans la région correspondante. Dans ce cas, la mutation précise ne peut pas être déterminée et seule la région dans laquelle la mutation est située est identifiée.

Le terme « Résistance détectée » est utilisé lorsqu'une ou plusieurs sondes MUT identifiant les mutations spécifiques conférant une résistance aux médicaments sont visibles (que les sondes WT soient visibles ou non).

Stratification des mutations de résistance pour l'isoniazide (H) et la moxifloxacine (Mfx) pour les mutations associées à une « faible augmentation de la CMI » et une « forte augmentation de la CMI »

Les mutations conférant une résistance à H et à Mfx sont stratifiées en mutations associées à une faible augmentation de la CMI et à une forte augmentation de la CMI en fonction de la distribution de leurs CMI associées. Cette stratification a d'importantes implications pour l'inclusion de H et de Mfx dans le schéma thérapeutique, puisque la résistance causée par les mutations associées à de faibles augmentations de la CMI pour H et Mfx peut être compensée en augmentant la dose médicamenteuse.

Pour H, les données *in vitro* indiquent que lorsque des mutations spécifiques du promoteur *inhA* (qui sont généralement associées à une faible augmentation de la CMI) sont détectées (et en l'absence de mutations du *katG*), le fait d'augmenter la dose médicamenteuse peut s'avérer efficace ; ainsi, on pourrait envisager d'utiliser de H à une dose maximale de 15 mg/kg par jour. Dans le cas de mutations du *katG*, qui sont le plus souvent associées à une forte augmentation de la CMI, l'utilisation de l'isoniazide, même à plus haute dose, est moins susceptible d'être efficace. La présence de mutations combinées dans le promoteur *inhA* et le gène *katG* entraîne une augmentation considérable de la CMI, qui ne peut probablement pas être compensée par une augmentation de la dose (17).

Pour Mfx, si les mutations associées à la CMI dépassent la concentration critique (CC) mais sont en-dessous du seuil clinique (CB), alors, pour ces mutations définies comme étant associées à une faible augmentation de la CMI, la Mfx à haute dose (jusqu'à 800 mg par jour chez les adultes) est probablement efficace (18–21). Lorsque la résistance à la Mfx est supposée (c.-à-d. que la mutation spécifique est inconnue), la présence de mutations associées à au moins une faible augmentation de la CMI est supposée et par conséquent, une haute dose médicamenteuse peut encore être efficace. Cependant, dans ce cas, il est recommandé de faire un TDS pour Mfx au CB, et si possible, d'effectuer un séquençage afin de déterminer la mutation spécifique. Si la souche du MTBC est résistante à la Mfx au CB en raison de la présence de mutations associées à une forte augmentation de la CMI, le médicament ne peut pas être considéré comme efficace.

S'il existe plus d'une sonde par médicament fournissant des informations (p. ex. détection simultanée de mutations de résistance associées à diverses augmentations de la CMI), le critère retenu pour l'interprétation est que les mutations associées à une forte augmentation de la CMI l'emportent sur les mutations associées à une faible augmentation de la CMI.

En résumé, les résultats doivent être rapportés dans l'ordre suivant (où le signe « > » signifie « l'emporte sur ») :

- *Pour H* : Mutation associée à une forte augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à une forte augmentation de la CMI supposée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI supposée > Résistance non détectée.
- *Pour Mfx* : Mutation associée à une forte augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI supposée > Résistance non détectée.
- *Pour la Rif, la lévofloxacine (Lfx), l'amikacine (Am), la kanamycine (Km) et la capréomycine (Cm)* : Résistance détectée > Résistance supposée > Résistance non détectée.

En résumé

Cas	Zones de réaction WT	Zones de réaction MUT	Interprétation
1	Toutes les sondes WT sont visibles	Les sondes MUT ne sont pas toutes visibles	Résistance non détectée.
2	Une ou plusieurs sondes ne sont pas visibles	Une ou plusieurs sondes MUT dans la région correspondante sont visibles	En fonction de la spécificité du médicament : – Résistance détectée (Rif, médicaments SLI) ; – Mutations associées à une forte augmentation de la CMI détectées (H et Mfx) ; – Mutations associées à au moins une faible augmentation de la CMI détectées (H et Mfx).
3	Une ou plusieurs sondes ne sont pas visibles	Aucune sonde MUT n'est visible	En fonction de la spécificité du médicament : – Résistance supposée (Rif, médicaments SLI) ; – Mutations associées à une forte augmentation de la CMI supposées (H et Mfx) ; – Mutations associées à au moins une faible augmentation de la CMI supposées (H et Mfx).
4	Toutes les sondes WT sont visibles	Une sonde MUT est visible	Résistance détectée (à cause d'une hétéro-résistance) ; interpréter selon le cas 2.

Exclusion de la sonde *eis* WT3

À ce jour, il n'y a pas de preuve formelle que la mutation **c-2a** dans la région du promoteur *eis* représente, à elle seule, un marqueur valide de résistance (1). Par conséquent, si la sonde *eis* WT3 n'est pas visible, l'interprétation du test pour Km a été révisée et appelée « Résistance non détectée ».

Interprétation du profil de résistance pour l'éthionamide et la prothionamide

Les mutations qui entraînent la surexpression du gène *inhA*, telles que celles détectées par les FL-LPA, sont associées à une résistance croisée à l'éthionamide (Eto) et la prothionamide (Pto) (1, 22, 23). Ainsi, si ces mutations sont détectées par le test, la résistance à l'Eto et à la Pto doit être signalée et les médicaments ne doivent pas être utilisés dans le schéma thérapeutique. Cependant, il faut souligner que même en l'absence de mutation dans la région du promoteur *inhA*, une résistance à l'Eto/la Pto ne peut être exclue. Des mutations conférant une résistance à l'Eto/la Pto peuvent en effet être présentes dans des régions génomiques non ciblées par le LPA (p. ex. *ethA*, *ethR*).

Rapportage des résultats pour la kanamycine et la capréomycine

L'OMS a récemment publié un bref communiqué sur les principales modifications apportées au traitement de la tuberculose multirésistante (TB-MR) et de la tuberculose résistante à la rifampicine (24), annonçant les points clés des nouvelles lignes directrices de l'OMS pour le traitement de la TB-MR qui seront diffusées fin 2018. Ces modifications s'appuient sur les résultats d'une méta-analyse visant à évaluer le lien entre succès thérapeutique ou décès et le recours à des médicaments individuels, ainsi que le nombre optimal de ces médicaments et la durée optimale du traitement chez les patients atteints de TB-MR (25).

Concernant l'utilisation de médicaments SLI, les résultats de cette méta-analyse montrent que par rapport aux traitements sans médicament injectable, l'amikacine présente de modestes avantages, tandis que la kanamycine et la capréomycine n'apportent aucun bénéfice ou sont associées à de mauvais résultats. Par conséquent, l'OMS ne recommande plus l'utilisation de la kanamycine et de la capréomycine, en raison du risque accru d'échec thérapeutique et de rechute associé à leur utilisation dans le cadre de traitements de longue durée contre la TB-MR. En outre, les programmes qui utilisent le traitement standardisé de courte durée contre la TB-MR devraient remplacer la kanamycine par l'amikacine, sans attendre que les stocks de kanamycine soient épuisés (24).

En considérant le fait qu'il ne sera pas possible d'appliquer immédiatement les nouvelles normes de soins de l'OMS pour chaque patient atteint de TB-MR, et que la kanamycine et la capréomycine seront probablement utilisées pendant la phase de transition, l'interprétation du SL-SLP pour la kanamycine et la capréomycine a été incluse dans ce document dans le but de fournir des directives provisoires.

Mesures diagnostiques complémentaires pour orienter adéquatement le traitement contre la TB

En fonction de la région spécifique étudiée par le FL-LPA et le SL-LPA, une ou plusieurs mesures diagnostiques complémentaires sont recommandées ou proposées en option pour mieux orienter le choix du schéma thérapeutique. La décision d'entreprendre des procédures complémentaires et optionnelles de diagnostic doit être prise en considérant le risque de résistance pour chaque patient et la prévalence de la résistance selon le contexte géographique spécifique, puisque ces facteurs influent sur la valeur prédictive positive du test.

Différentes mesures diagnostiques complémentaires sont recommandées ou

proposées en option, en fonction du médicament spécifique étudié. Ces mesures sont brièvement résumées ci-dessous :

Rifampicine (Rif) :

- Si la résistance est supposée du fait de l'absence de fixation des amplicons aux sondes WT (c.-à-d. qu'une ou plusieurs sondes WT ne sont pas visibles), il est proposé en option de séquencer le gène *rpoB* afin d'identifier la mutation spécifique. Pour l'interprétation des mutations du *rpoB*, se référer au guide technique de l'OMS sur les technologies de séquençage de dernière génération (3). Il faut souligner que le TDS phénotypique effectué dans le MGIT ne doit pas être considéré comme un test de confirmation idéal puisqu'il manque des mutations bien connues associées à la résistance à la Rif (c.-à-d. des mutations « contestées ») (26–29).

Isoniazide (H) :

- Si la résistance est supposée du fait de l'absence de fixation des amplicons aux sondes WT dans la région du *katG* (c.-à-d. qu'une ou plusieurs sondes WT ne sont pas visibles), il est suggéré de séquencer le gène *katG* en option afin d'identifier la mutation spécifique. Pour l'interprétation des mutations du *katG*, se référer au guide technique de l'OMS sur les technologies de séquençage nouvelle génération (3).
- Si les mutations associées à une faible augmentation de la CMI (c.-à-d. des sondes MUT visibles dans la région du promoteur *inhA* en l'absence de mutations dans la région cible du *katG*), il est suggéré en option de séquencer la région codante de l'*inhA* et du gène *katG*. En effet, la présence simultanée de mutations supplémentaires dans la région codante de l'*inhA* ou dans d'autres positions que la 315 dans le gène *katG* (mutations non détectées par le GenoType MTBDR*plus*) (30, 31), lesquelles sont rares à l'échelle mondiale mais peuvent être plus fréquentes dans des contextes géographiques spécifiques, pourrait entraîner une augmentation considérable de la CMI qui serait alors trop élevée pour être compensée par une augmentation de la dose médicamenteuse.
- Si des mutations associées à une faible augmentation de la CMI sont supposées du fait de l'absence de fixation des amplicons aux sondes WT dans la région du promoteur *inhA* (et qu'aucune mutation dans la région cible du *katG* n'est détectée), il est recommandé de répéter le test pour confirmer le résultat. Les procédures complémentaires optionnelles de diagnostic comprennent le séquençage du promoteur *inhA* afin d'identifier la mutation spécifique ou le recours à un DST phénotypique pour H.

Moxifloxacin (Mfx):

- Si des mutations associées à une faible augmentation de la CMI sont détectées (c.-à-d. des sondes MUT1, MUT2, MUT3A visibles dans la région *gyrA* et/ou des sondes MUT1, MUT2 visibles dans la région *gyrB*), il est recommandé d'effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx afin d'exclure toute résistance au CB.
- Si des mutations associées à une faible augmentation de la CMI sont supposées du fait de l'absence de fixation des amplicons aux sondes WT dans les régions *gyrA* et

gyrB (c.-à-d. que les sondes WT ne sont pas visibles), il est recommandé d'effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx afin d'exclure toute résistance au CB. Les mesures complémentaires optionnelles comprennent le séquençage de la QRDR de la *gyrA* et/ou de la *gyrB* afin d'identifier la mutation spécifique et/ou d'effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx (et/ou la Lfx) à la CC (selon les capacités du laboratoire).

Amikacine (Am), kanamycine (Km),¹ capréomycine (Cm) :¹

- Si la résistance est supposée du fait de l'absence de fixation des amplicons aux sondes WT dans la région du *rrs* (c.-à-d. qu'une ou plusieurs sondes WT ne sont pas visibles), il est recommandé de répéter le test pour confirmer le résultat. Si le résultat est confirmé, le TDS phénotypique doit être effectué pour Am, Km et Cm afin de confirmer la résistance. Le séquençage du gène *rrs* est suggéré en option afin d'identifier la mutation spécifique.

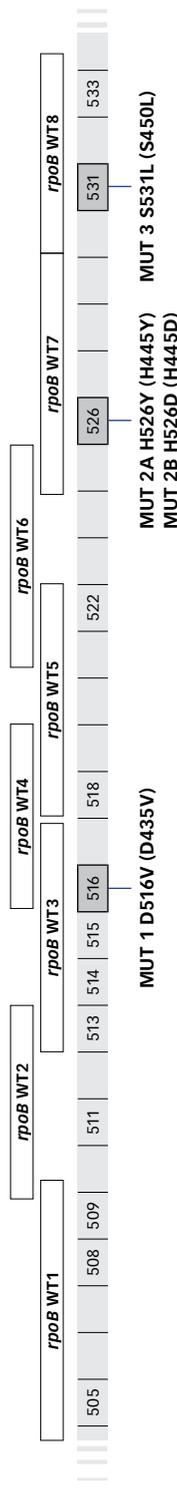
¹ Il n'est plus recommandé d'utiliser la Km et la Cm pour le traitement de la tuberculose multirésistante ou de la tuberculose résistante à la rifampicine (24). Les laboratoires doivent continuer de rapporter les résultats pour la Cm et la Km jusqu'à la pleine application des recommandations.

Interprétation des tests d'hybridation inverse sur bandelette (LPA) pour les médicaments de première intention (FL)

Rifampicine

Figure 2. Région déterminant la résistance à la rifampicine (RRDR) étudiée par le GenoType MTBDRplus

Région déterminant la résistance à la rifampicine (RRDR) du gène *rpoB*, codons couverts par les sondes WT et les mutations spécifiques reconnues par les sondes MUT dans le GenoType MTBDRplus Ver 2.0- pour *E. coli* vs numérotation des codons des MTB et nomenclature des acides aminés (14). Dans l'ensemble, la spécificité du GenoType MTBDRplus Ver 2.0 pour la résistance à la Rif est très bonne, mais lorsque vous avez un doute sur la validité d'un résultat de résistance à la Rif, demandez le séquençage du *rpoB* comme test de référence.



Région cible	Sonde MTBDRplus	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
<i>rpoB</i> WT1	<i>rpoB</i> WT1 non visible	Mutation(s) aux codons 505–509 (424–428) ^b	Résistance à la rifampicine (Rif) supposée	En option : Effectuer un séquençage de la <i>rpoB</i> pour identifier une mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace
<i>rpoB</i> WT2	<i>rpoB</i> WT2 non visible	Mutation(s) aux codons 510–513 (429–432) ^b	Résistance à la Rif supposée	En option : Effectuer un séquençage de la <i>rpoB</i> pour identifier la mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace

Région cible	Sonde MTBDRp/ius	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
<i>rpoB</i> WT2/3	<i>rpoB</i> WT2 et WT3 non visibles	Mutation(s) aux codons 510-517 (429-436) ^b	Résistance à la Rif supposée	En option : Effectuer un séquençage de la <i>rpoB</i> pour identifier une mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace
<i>rpoB</i> WT3/4	<i>rpoB</i> MUT1 visible	D516V (D435Y) ^b	Résistance à la Rif détectée	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise.	La rifampicine n'est pas efficace
	<i>rpoB</i> WT3, WT4 et MUT1 non visible	Mutation(s) aux codons 513-519 (432-438) ^b	Résistance à la Rif supposée	En option : Effectuer un séquençage de la <i>rpoB</i> pour identifier une mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace
<i>rpoB</i> WT4/5	<i>rpoB</i> WT4 et WT5 non visible	Mutation(s) aux codons 516-522 (435-441) ^b	Résistance à la Rif supposée	En option : Effectuer un séquençage de la <i>rpoB</i> pour identifier la mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace
<i>rpoB</i> WT5/6	<i>rpoB</i> WT5 et WT6 non visible	Mutation(s) aux codons 518-525 (437-444) ^b	Résistance à la Rif supposée	En option : Effectuer un séquençage de la <i>rpoB</i> pour identifier une mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace
<i>rpoB</i> WT7	<i>rpoB</i> MUT2A visible	H526Y (H445Y) ^b	Résistance à la Rif détectée	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise	La rifampicine n'est pas efficace
	<i>rpoB</i> MUT2B visible	H526D (H445D) ^b	Résistance à la Rif détectée	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise	La rifampicine n'est pas efficace
	<i>rpoB</i> WT7, MUT2A and MUT2B non visible	Mutation(s) aux codons 526-529 (445-448) ^b	Résistance à la Rif supposée	En option : Effectuer un séquençage de la <i>rpoB</i> pour identifier une mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace

Région cible	Sonde MTBDRp/ius	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
rpoB WT8	rpoB MUT3 visible	S531L (S450L) ^b	Résistance à la Rif détectée	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise	La rifampicine n'est pas efficace
	rpoB WT8 et MUT3 non visible	Mutation(s) aux codons 530-533 (449-452) ^b	Résistance à la Rif supposée	En option : Effectuer un séquençage de la rpoB pour identifier la mutation spécifique.	La rifampicine n'est pas efficace

^a La décision de procéder à des mesures diagnostiques optionnelles doit être prise en considérant la catégorie de risque à laquelle appartient le patient concernant la résistance et la prévalence de la résistance dans l'environnement géographique spécifique, puisque ces facteurs influent sur la valeur prédictive positive du test. Les mutations silencieuses pourraient être plus préoccupantes dans les environnements où la prévalence de la résistance à la rifampicine est faible.

^b La numérotation des codons des MTB d'après Andre et al (32) est indiquée entre parenthèses

Isoniazide

Région cible	Sonde MTBDRp/ius	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
katG WT	katG MUT1 ou MUT2 visible	S315T1 /S315T2	Mutation associée à une forte augmentation de la MIC détectée.	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise	L'isoniazide n'est probablement pas efficace, même à forte dose (17).
	katG WT, MUT1 et MUT2 non visible^b	Mutation(s) au codon 315	Mutation associée à une forte augmentation de la CMI supposée.	En option : Effectuer un séquençage du katG pour identifier une mutation spécifique.	L'isoniazide n'est probablement pas efficace, même à forte dose (17).

Région cible	Sonde MTBDR _{plus}	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
<i>inhA</i> WT1	<i>inhA</i> MUT1 visible	c-15t	Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée. Résistance à l'Eto/la Pto détectée.	En option : Effectuer un séquençage de la région codante de l' <i>inhA</i> et du gène <i>katG</i> . Aucune mesure diagnostique supplémentaire pour l'Eto/la Pto.	L'isoniazide à haute dose est probablement efficace (17). L'éthionamide et la prothionamide ne sont pas efficaces.
	<i>inhA</i> MUT2 visible	a-16g ^d	Mutation probablement associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée. Résistance à l'Eto/la Pto probablement détectée.	En option : Effectuer un séquençage de la région codante de l' <i>inhA</i> et du gène <i>katG</i> . Aucune mesure diagnostique supplémentaire pour l'Eto/la Pto.	L'isoniazide à haute dose est probablement efficace (23). L'éthionamide et la prothionamide ne sont probablement pas efficaces.
	<i>inhA</i> WT1, MUT1 et MUT2 non visible	Mutation(s) dans la région -15 ^d	Mutation probablement associée à au moins une faible augmentation de la CMI supposée. Résistance à l'Eto/la Pto probablement supposée.	Recommandé : Répéter le SI-LPA pour confirmer le résultat. En option : – Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique. – Effectuer un TDS phénotypique pour l'H, l'Eto et la Pto.	L'isoniazide à haute dose est probablement efficace (23). L'éthionamide et la prothionamide ne sont probablement pas efficaces.

Région cible	Sonde MTBDRplus	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
inH <i>a</i> WT2	inH <i>a</i> MUT3A visible	t-8 ^{c,d}	Mutation probablement associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée. Résistance à l'Eto/la Pto probablement détectée.	En option : Effectuer un séquençage de la région codante de l' <i>inH<i>a</i></i> et du gène <i>katG</i> . Aucune mesure diagnostique supplémentaire pour l'Eto/la Pto.	L'isoniazide à haute dose est probablement efficace (23). L'éthionamide et la prothionamide ne sont probablement pas efficaces.
		t-8a ^d	Mutation probablement associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée. Résistance à l'Eto/la Pto probablement détectée.	En option : Effectuer un séquençage de la région codante de l' <i>inH<i>a</i></i> et du gène <i>katG</i> . Aucune mesure diagnostique supplémentaire pour l'Eto/la Pto.	L'isoniazide à haute dose est probablement efficace (23). L'éthionamide et la prothionamide ne sont probablement pas efficaces.
	inH <i>a</i> WT2, MUT3A et MUT3B non visibles	Mutation dans la région -8 ^d	Mutation probablement associée à au moins une faible augmentation de la CMI supposée. Résistance à l'Eto/la Pto probablement supposée.	Recommandé : Répéter le FL-LPA pour confirmer le résultat. En option : – Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique. – Effectuer un TDS phénotypique pour l'H, l'Eto et la Pto.	L'isoniazide à haute dose est probablement efficace (23). L'éthionamide et la prothionamide ne sont probablement pas efficaces.

^a La décision de procéder en option à des mesures diagnostiques complémentaires doit être prise en considérant la catégorie de risque à laquelle appartient le patient concernant la résistance et la prévalence de la résistance dans l'environnement géographique spécifique, puisque ces facteurs influent sur la valeur prédictive positive du test.

^b La délétion partielle ou totale du gène *katG*, qui est associée à une forte augmentation de la CMI, entraîne l'absence totale de bandes pour le locus du *katG* (c.-à-d. que les sondes du Contrôle du locus du *katG*, WT et MUT ne sont pas visibles).

^c La présence simultanée de mutations supplémentaires dans la région codante de l'*inH*a** ou dans d'autres positions que la 315 dans le gène *katG* (mutations non détectées par le Genotype MTBDRplus) (30, 31), lesquelles sont rares à l'échelle mondiale mais peuvent être plus fréquentes dans des environnements géographiques spécifiques, pourrait entraîner une augmentation considérable de la CMI qui serait alors trop élevée pour être compensée par une augmentation de la dose médicamenteuse.

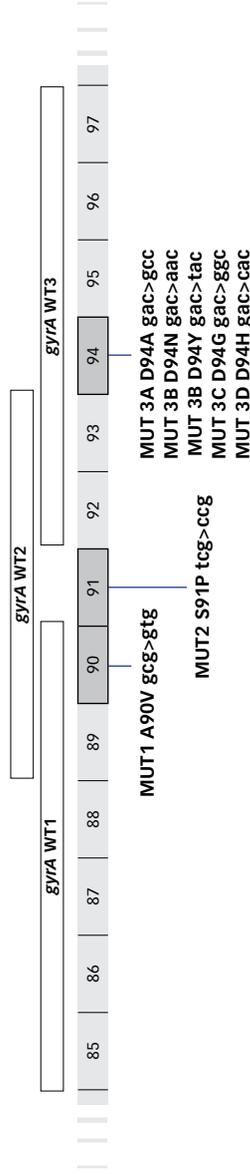
^d Des données supplémentaires mettant en corrélation ces mutations avec le TDS phénotypique pour l'isoniazide sont nécessaires pour renforcer l'hypothèse selon laquelle ces mutations sont associées à une pharmaco-résistance.

Interprétation des tests d'hybridation inverse sur bandelette (LPA) pour les médicaments de deuxième intention (SL)

Fluoroquinolones

Figure 3. Région déterminant la résistance aux quinolones du gène *gyrA* étudiée par le Genotype MTBDRs/.

Région déterminant la résistance aux quinolones (QRDR) du gène *gyrA*, les codons couverts par les sondes WT et les mutations spécifiques (substitutions à la fois d'acides aminés et de nucléotides) reconnues par les sondes MUT dans le Genotype MTBDRs/ Ver 2.0 (15).



Région cible	MTBDRs/ Sonde	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
<i>gyrA</i> WT 1	<i>gyrA</i> WT1 non visibles	Codon(s) 85–89	Résistance à la Lfx supposée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx supposée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB pour exclure toute résistance. En option : – VEffectuer un séquençage de la QRDR du <i>gyrA</i> pour identifier une mutation spécifique ; – Effectuer un TDS phénotypique pour la Lfx et la Mfx à la CC.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB. Note. Ces recommandations ne s'appliquent pas si le séquençage, disponible avant le début du traitement, identifie des mutations qui ne sont pas associées à la résistance aux FQ, ou si le TDS phénotypique présente une sensibilité à la CC.

Région cible	MTBDRs/ Sonde	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
gyrA WT2	gyrA MUT1 visible	A90V	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB pour exclure toute résistance.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.
	gyrA MUT2 visible	S91P	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB pour exclure toute résistance.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.
gyrA WT3	gyrA WT2, MUT1 et MUT2 non visibles	Codon(s) 89–93	Résistance à la Lfx supposée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx supposée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB pour exclure toute résistance. En option : – Effectuer un séquençage de la QRDR du <i>gyrA</i> pour identifier une mutation spécifique ; – Effectuer un TDS phénotypique pour la Lfx et la Mfx à la CC.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB. Note: Ces recommandations ne s'appliquent pas si le séquençage, disponible avant le début du traitement, identifie des mutations qui ne sont pas associées à la résistance aux FQ, ou si le TDS phénotypique présente une sensibilité à la CC.
	gyrA MUT3A visible	D94A	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB pour exclure toute résistance.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.
	gyrA MUT3B visible	D94N ou D94Y	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à une forte augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine n'est pas efficace.

Région cible	MTBDRs/ Sonde	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
gyrA WT3	gyrA MUT3C visible	D94G	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à une forte augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine n'est pas efficace.
	gyrA MUT3D développée	D94H	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à une forte augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine n'est pas efficace.
	gyrA WT3, MUT3A, MUT3B, MUT3C, MUT3D non visibles	Codon(s) 92-96	Résistance à la Lfx supposée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx supposée.	<p>Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB pour exclure toute résistance.</p> <p>En option :</p> <ul style="list-style-type: none"> Effectuer un séquençage de la QRDR du gyrA pour identifier une mutation spécifique ; Effectuer un TDS phénotypique pour la Lfx et la Mfx à la CC. 	<p>La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.</p> <p>Note. Ces recommandations ne s'appliquent pas si le séquençage, disponible avant le début du traitement, identifie des mutations qui ne sont pas associées à la résistance aux FQ, ou si le TDS phénotypique présente une sensibilité à la CC.</p>

^a La décision de procéder en option à des mesures diagnostiques complémentaires doit être prise en considérant la catégorie de risque à laquelle appartient le patient concernant la résistance et la prévalence de la résistance dans l'environnement géographique spécifique, puisque ces facteurs influent sur la valeur prédictive positive du test.

Région cible	MTBDRs/ Sonde	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats	Mesure diagnostique complémentaire ^a	Implications cliniques
gyrB WT	gyrB MUT1 visible	N538D (codon 499) ^b	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx afin d'exclure tout résistance au CB.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.
	gyrB MUT2 visible	E540V (codon 501) ^b	Résistance à la Lfx détectée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx afin d'exclure tout résistance au CB.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.
	gyrB WT, MUT1 et MUT2 non visibles	Codon(s) 536-541 (codon 497-502) ^b	Résistance à la Lfx supposée. Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx supposée.	Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx afin d'exclure tout résistance au CB. En option : – Effectuer un séquençage de la QRDR du <i>gyrA</i> pour identifier une mutation spécifique ; – Effectuer un TDS phénotypique pour la Lfx et la Mfx à la CC.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB. Note. Ces recommandations ne s'appliquent pas si le séquençage, disponible avant le début du traitement, identifie des mutations qui ne sont pas associées à la résistance aux FQ, ou si le TDS phénotypique présente une sensibilité à la CC.

^a La décision de procéder en option à des mesures diagnostiques complémentaires doit être prise en considérant la catégorie de risque à laquelle appartient le patient concernant la résistance et la prévalence de la résistance dans l'environnement géographique spécifique, puisque ces facteurs influent sur la valeur prédictive positive du test.

^b Système de numérotation des codons d'après Camus et al (33).

Antituberculeux injectables de deuxième intention^a

Région cible	MTDRs/ Sonde	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats pour la kanamycine (Km)	Interprétation des résultats pour l'amikacine (Am)	Interprétation des résultats pour la capréomycine (Cm)	Mesure diagnostique complémentaire ^b	Implications cliniques
rrs WT1	rrs MUT1 visible	a1401g	Résistance à la Km détectée.	Résistance à l'Am détectée.	Résistance à la Cm détectée.	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise.	L'amikacine, la kanamycine et la capréomycine ne sont pas efficaces.
	InhA WT1, MUT3A et MUT1 non visibles	Mutation(s) dans la région 1400	Résistance à la Km supposée.	Résistance à l'Am supposée	Résistance à la Cm supposée.	Recommandé : Répéter le test SL-LPA et si le résultat est confirmé, effectuer un TDS phénotypique pour l'Am, la Km et la Cm. En option : Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique.	La kanamycine et la capréomycine ne sont probablement pas efficaces. Le résultat du TDS phénotypique doit orienter le choix du médecin quant à l'utilisation d'amikacine dans le schéma thérapeutique.
rrs WT2	rrs MUT2 visible	g1484t	Résistance à la Km détectée.	Résistance à l'Am détectée.	Résistance à la Cm détectée.	Aucune mesure diagnostique supplémentaire requise.	L'amikacine, la kanamycine et la capréomycine ne sont pas efficaces.
	InhA WT2, MUT3A et MUT2 non visibles	Mutation dans la région 1484	Résistance à la Km supposée.	Résistance à l'Am supposée.	Résistance à la Cm supposée.	Recommandé : Répéter le test SL-LPA et si le résultat est confirmé, effectuer un TDS phénotypique pour l'Am, la Km et la Cm. En option : Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique.	L'amikacine, la kanamycine et la capréomycine ne sont probablement pas efficaces.

Région cible	MTBDRs/ Sonde	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats pour la kanamycine (Km)	Interprétation des résultats pour l'amikacine (Am)	Interprétation des résultats pour la capréomycine (Cm)	Mesure diagnostique complémentaire ^b	Implications cliniques
eis WT1	eis WT1 non visible	Mutation(s) dans la région -37	Résistance à la Km supposée.	Résistance à l'Am non détectée.	Résistance à la Cm non détectée.	En option : Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique	L'amikacine est probablement efficace. La capréomycine est probablement efficace. La kanamycine n'est pas efficace.
	eis MUT1 non visible	c-14t	Résistance à la Km détectée.	Résistance à l'Am non détectée.	Résistance à la Cm non détectée.	En option : Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique	L'amikacine est probablement efficace. La capréomycine est probablement efficace. La kanamycine n'est pas efficace.
eis WT2	eis WT2 et MUT1 non visibles	Mutation(s) dans la région -10 à -15	Résistance à la Km supposée.	Résistance à l'Am non détectée.	Résistance à la Cm non détectée.	En option : Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique	L'amikacine est probablement efficace. La capréomycine est probablement efficace. La kanamycine n'est probablement pas efficace.

Région cible	MTBDRs/ Sonde	Mutation ou région étudiée	Interprétation des résultats pour la kanamycine (Km)	Interprétation des résultats pour l'amikacine (Am)	Interprétation des résultats pour la capréomycine (Cm)	Mesure diagnostique complémentaire ^b	Implications cliniques
<i>eis</i> WT3	<i>eis</i> WT3 non visible	Mutation(s) dans la région -2 Note. Aucune preuve que les mutations dans cette région sont associées à une résistance (1)	Résistance à la Km non détectée.	Résistance à l'Am non détectée.	Résistance à la Cm non détectée.	En option : Effectuer un séquençage pour identifier une mutation spécifique	L'amikacine est probablement efficace. La capréomycine est probablement efficace. La kanamycine est probablement efficace.

^a L'OMS ne recommande plus l'utilisation de la kanamycine et de la capréomycine, en raison du risque accru d'échec thérapeutique et de rechute associé à leur utilisation dans le cadre de traitements prolongés de la TB-MR (23). L'interprétation du SL-LPA pour la kanamycine et la capréomycine a été incluse dans ce document dans le but de fournir des directives provisoires pendant la phase de transition.

^b La décision de procéder à des mesures diagnostiques complémentaires indiquées comme optionnelles doit être prise en considérant la catégorie de risque à laquelle appartient le patient concernant la résistance et la prévalence de la résistance dans l'environnement géographique spécifique, puisque ces facteurs influent sur la valeur prédictive positive du test.

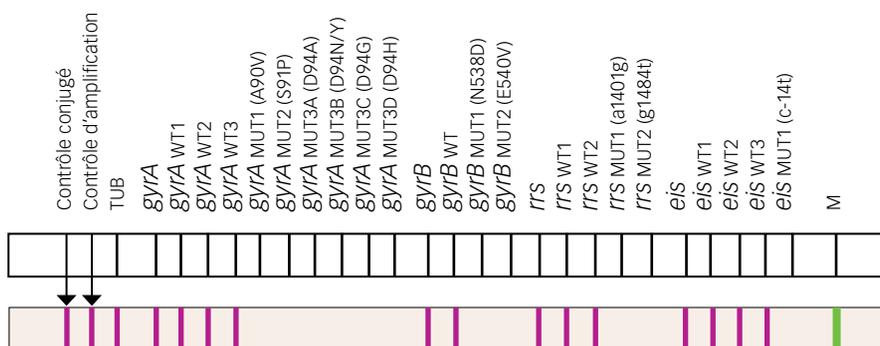
^c Puisqu'aucune sonde MUT dans la région *rrs* 1400 ne s'est développée, il n'est pas possible d'identifier la mutation précise. Puisque ce profil de bandes peut être causé par une mutation qui n'est probablement pas associée à la résistance à l'Am (p. ex. C1402T), une pharmacorésistance est supprimée jusqu'à ce que le DST phénotypique soit effectué et que le résultat soit utilisé pour réévaluer le schéma thérapeutique.

Guide d'évaluation des cas de TB pharmaco-résistante selon le SL-LPA

CAS N° 1

Aucune mutation de résistance détectée ou supposée dans les régions génomiques incluses dans le SL-LPA.

Toutes les bandes WT visibles et aucune bande MUT dans le SL-LPA.



Rapport génotypique :

Résistance non détectée

Mesure diagnostique complémentaire :

En option :

- Effectuer un TDS phénotypique pour la Lfx à la CC (p. ex. CC : 1,0 mg/l dans le MGIT et la 7H10) et/ou pour la Mfx à la CC et au CB (p. ex. CC : 0,25 mg/l dans le MGIT et 0,5 mg/l dans la 7H10; CB : 1,0 mg/l dans le MGIT et 2,0 mg/l dans la 7H10).
- Effectuer un TDS phénotypique pour le médicament SLI étudié.

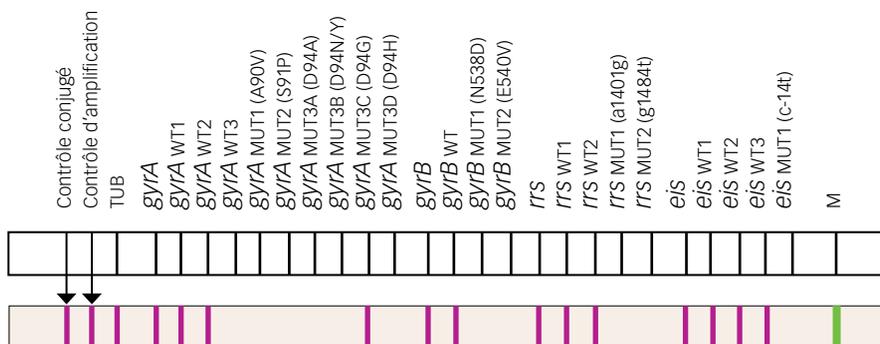
La décision de procéder en option à ces mesures complémentaires doit être prise en considérant la catégorie de risque à laquelle appartient le patient concernant la résistance (p. ex. exposition préalable à des médicaments LS, échec thérapeutique présumé) et la prévalence de la résistance dans l'environnement géographique spécifique, puisque ces facteurs influent sur la valeur prédictive positive du test.

Implications cliniques :

Démarrer le traitement de la TB-MR. Réviser le schéma thérapeutique en fonction des résultats du TDS phénotypique.

CAS N° 2

Détection de mutations de résistance associées à une forte augmentation de la CMI pour la Mfx



Si une des sondes MUT suivantes est visible :

- *gyrA* MUT3C (c.-à-d. *gyrA* D94G) (voir l'image ci-dessus à titre d'exemple)
- *gyrA* MUT3D (c.-à-d. *gyrA* D94H)
- *gyrA* MUT3B (c.-à-d. *gyrA* D94N/Y)

Rapport génotypique :

Lévofloxacine : Résistance détectée

Moxifloxacine : Mutation associée à une forte augmentation de la CMI pour la Mfx détectée

Mesure diagnostique complémentaire :

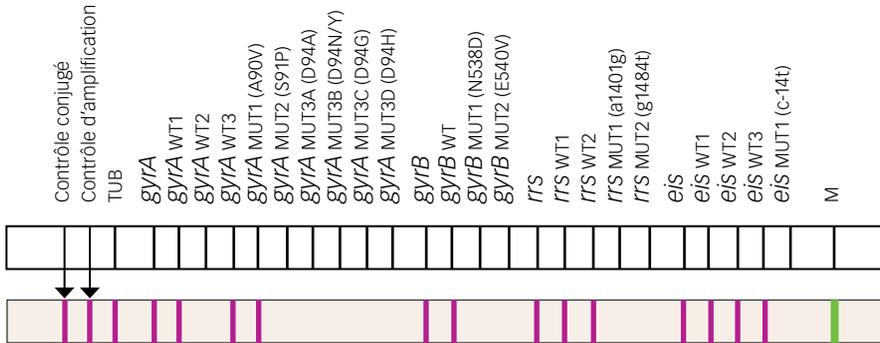
En option : Effectuer un TDS phénotypique pour le médicament SLI étudié.

Implications cliniques :

Même à forte dose, la Mfx ne peut pas être considérée comme un médicament efficace.

CAS N° 3

Détection de mutations associées à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx



Si une des sondes MUT suivantes est visible :

- *gyrA* MUT1 (c.-à-d. *gyrA* A90V) (voir l'image ci-dessus à titre d'exemple)
- *gyrA* MUT2 (c.-à-d. *gyrA* S91P)
- *gyrA* MUT3A (c.-à-d. *gyrA* D94A)
- *gyrB* MUT1 (c.-à-d. *gyrB* N538D)
- *gyrB* MUT2 (c.-à-d. *gyrB* E540D)

Rapport génotypique :

Lévofloxacine : Résistance détectée.

Moxifloxacine : Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.

Mesure diagnostique complémentaire :

Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB conformément au Cas 1.

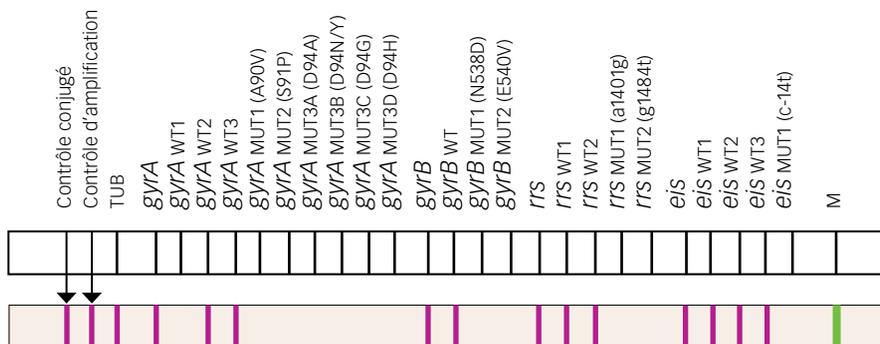
En option : Effectuer un TDS phénotypique pour le médicament SLI étudié.

Implications cliniques :

La Mfx peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.

CAS N° 4

*Mutation précise inconnue, seulement supposée dans les régions des fluoroquinolones (FQ) (c.-à-d. *gyrA* et *gyrB*)*



Si une des bandes WT suivantes n'est pas visible :

- *gyrA* WT1 (c.-à-d. sonde *gyrA* WT1 absente) (voir l'image ci-dessus à titre d'exemple),
- *gyrA* WT2 (c.-à-d. sonde *gyrA* WT2 absente),
- *gyrA* WT3 (c.-à-d. sonde *gyrA* WT3 absente),
- *gyrB* WT (c.-à-d. sonde *gyrB* WT absente),

et qu'aucune sonde MUT n'est visible dans les régions *gyrA* et *gyrB*.

Rapport génotypique :

Lévofloxacine : Résistance supposée.

Moxifloxacine : Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx supposée.

Mesure diagnostique complémentaire :

Recommandé : Effectuer un TDS phénotypique pour la Mfx au CB conformément au Cas 1.

En option mais recommandé dans certains environnements :¹ Séquençage de la QRDR du *gyrA* et du *gyrB* pour identifier une mutation de résistance et exclure des mutations synonymes ou des mutations non synonymes ne causant pas de résistance (résultats faussement positifs systématiques) (interpréter sur la base des Cas 2 à 4 et suivre les recommandations respectives pour le DST phénotypique).

¹ L'absence de fixation d'une sonde WT sans fixation simultanée d'une sonde mutante est causée par la présence d'une mutation de résistance (p. ex. *gyrA* G88A). Cependant, des erreurs systématiques sont possibles en raison de mutations synonymes ou non synonymes. Ceci est rare à l'échelle mondiale (< 1 % des isolats), mais ces isolats peuvent être nombreux au niveau local. Il n'est malheureusement pas possible de prédire dans quels environnements ces cas sont fréquents, ce qui implique que chaque laboratoire doit décider de la nécessité ou non d'un séquençage de la QRDR en se basant sur l'épidémiologie locale. Par exemple, la mutation *gyrA* A90G, qui empêche la fixation de la *gyrA* WT2, est fréquente en République du Congo et en République démocratique du Congo, tandis qu'une mutation synonyme avec un codon en position 96 du *gyrA*, qui empêche la fixation de la *gyrA* WT3, est fréquente à Medellín (Colombie) (9). Il est donc recommandé d'effectuer un séquençage dans ces deux environnements.

Si le séquençage n'est pas disponible, effectuer un TDS phénotypique à la CC pour la Lfx et/ou la Mfx conformément au Cas 1.

En option : Effectuer un TDS phénotypique pour le médicament SLI étudié.

Implications cliniques :

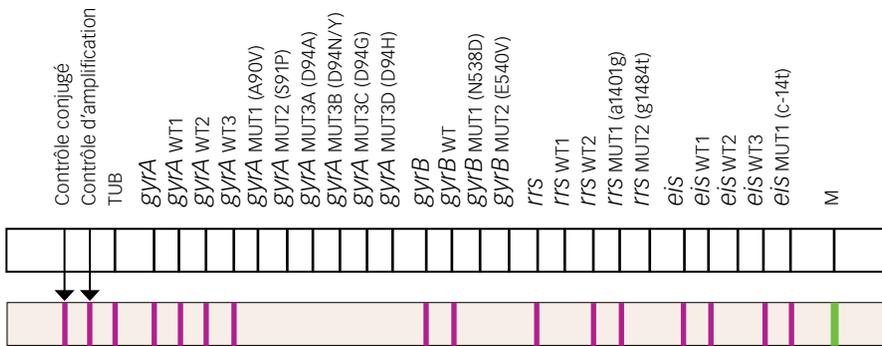
La lévofloxacine n'est pas efficace.

La Mfx peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.

Note. Ces recommandations ne s'appliquent pas si le séquençage, disponible avant le début du traitement, identifie des mutations qui ne sont pas associées à la résistance aux FQ, ou si le TDS phénotypique présente une sensibilité à la CC.

CAS N° 5

Détection de mutations qui causent une résistance aux SLI.



Si une des bandes MUT suivantes est visible :

- *rrs* MUT1 (c.-à-d. *rrs* a1401g) (voir l'image ci-dessus à titre d'exemple)
- *rrs* MUT2 (c.-à-d. *rrs* g1484t)
- *eis* MUT1 (c.-à-d. *eis* c-14t)

Rapport génotypique :

En cas de mutations du *rrs* seul ou de mutations à la fois du *rrs* et du *eis* :

- Amikacine : Résistance détectée
- Kanamycine : Résistance détectée
- Capréomycine : Résistance détectée

En cas de mutation du c-14t sur le gène *eis* uniquement :

- Amikacine : Résistance non détectée
- Kanamycine : Résistance détectée
- Capréomycine : Résistance non détectée

Mesure diagnostique complémentaire :

En option : Effectuer un TDS phénotypique pour les FQ conformément au Cas 1.

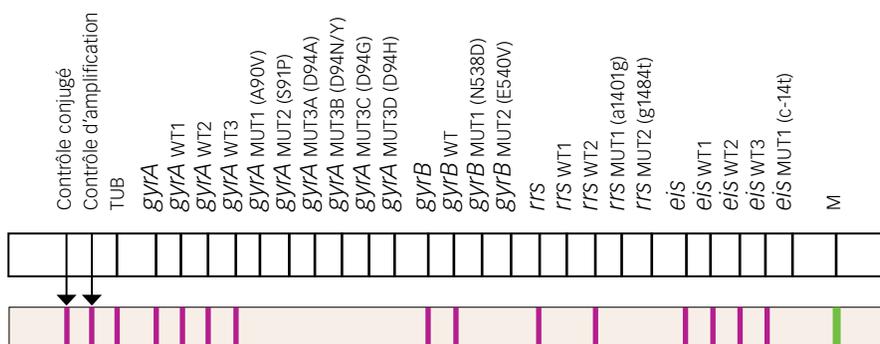
Implications cliniques :

En cas de mutations du *rrs* seul ou de mutations la fois du *rrs* et du *eis*, une résistance aux médicaments SLI est attendue.

En cas de mutation du c-14t sur le gène *eis* uniquement : l'amikacine est efficace.

CAS N° 6

Mutation précise inconnue, seulement supposée, dans la région rrs



Si une des bandes MUT suivantes n'est pas visible :

- *rrs* WT1 (*rrs* sonde WT1 non visible) (voir l'image ci-dessus à titre d'exemple),
- *rrs* WT2 (*rrs* sonde WT2 non visible),

et qu'aucune sonde MUT n'est visible dans la région *rrs*.

Rapport génotypique :

En cas de mutation dans la région *rrs* 1400 :

- Amikacine : Résistance supposée¹
- Kanamycine : Résistance supposée
- Capréomycine : Résistance supposée

En cas de mutation dans la région *rrs* 1484 :

- Amikacine : Résistance supposée
- Kanamycine : Résistance supposée
- Capréomycine : Résistance supposée

¹ Puisqu'aucune sonde MUT dans la région *rrs* 1400 n'a été révélée, il n'est pas possible d'identifier la mutation précise. Puisque ce profil de bandes peut être causé par une mutation qui n'est probablement pas associée à la résistance à l'Am (p. ex. c1402t), une pharmacorésistance est supposée jusqu'à ce que le TDS phénotypique soit effectué et que le résultat soit utilisé pour réévaluer le schéma thérapeutique.

Mesure diagnostique complémentaire :

Recommandé : Répéter le test et si le résultat est confirmé, effectuer une TDS phénotypique pour l'Am.

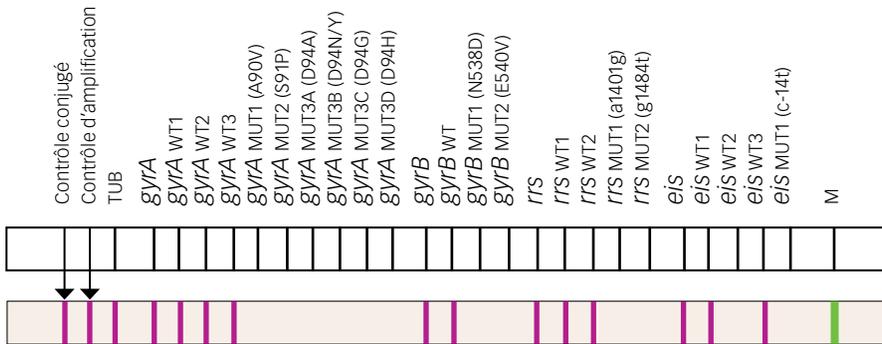
En option : Effectuer un séquençage pour identifier une mutation précise. Effectuer un TDS phénotypique pour les FQ conformément au Cas 1.

Implications cliniques :

La kanamycine et la capréomycine ne sont probablement pas efficaces.

CAS N° 7

Mutation précise inconnue, seulement supposée, dans la région eis



Si une des bandes MUT suivantes n'est pas visible :

- *eis* WT1 (*eis* sonde WT1 non visible) (p. ex. *eis* g-37t),
- *eis* WT2 (*eis* sonde WT2 non visible) (p. ex. *eis* c-12t ou g-10a) (voir l'image ci-dessus à titre d'exemple),

et qu'aucune sonde MUT n'est visible dans la région *eis*.

Rapport génotypique :

Dans le cas où des mutations sont supposées dans la région *eis* (avec aucune mutation supplémentaire dans la région *rrs*) :

- Amikacine : Résistance non détectée
- Kanamycine : Résistance supposée
- Capréomycine : Résistance non détectée

Mesure diagnostique complémentaire :

En option : Effectuer un TDS phénotypique pour les FQ conformément au Cas 1 ainsi que pour l'Am et la Cm.

Implications cliniques :

L'amikacine est probablement efficace.

Références

1. Miotto, P et al. "A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*." *European Respiratory Journal* 50.6 (2017): 1701354.
2. World Health Organization. Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization;2018 (WHO/CDS/TB/2018.5). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_technical_report_concentrations_TB_drug_susceptibility/en/.
3. World Health Organization (2018). The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guide. Geneva: World Health Organization; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.19). Licence: CC BY-NCSA3.0 IGO.
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274443/WHO-CDS-TB-2018.19-eng.pdf>.
4. World Health Organization. (2008). Molecular line probe assay for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Policy statement. World Health Organization.
http://www.who.int/tb/laboratory/line_probe_assays/en/
5. Nathavitharana RR, et al. 2016. Multicenter Noninferiority Evaluation of Hain GenoType MTBDRplus Version 2 and Nipro NTM+MDRTB Line Probe Assays for Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance. *J Clin Microbiol* 54:1624-1630.
6. World Health Organization. (2016). The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to isoniazid and rifampicin: policy update. World Health Organization.
<http://www.who.int/tb/publications/molecular-test-resistance/en/>
7. World Health Organization. (2016). The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs: policy guidance. World Health Organization.
<http://www.who.int/iris/handle/10665/246131>
8. GLI model TB diagnostic algorithms (revised June 2018). Global Laboratory Initiative. 2017.
http://stoptb.org/wg/gli/assets/documents/GLI_algorithms.pdf.
9. Ajileye A, et al. 2017. Some Synonymous and Nonsynonymous *gyrA* Mutations in *Mycobacterium tuberculosis* Lead to Systematic False-Positive Fluoroquinolone Resistance Results with the Hain GenoType MTBDRsl Assays. *Antimicrob Agents Chemother* 61.
10. Folkvardsen DB, et al. 2013. Can molecular methods detect 1% isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*? *J Clin Microbiol* 51:1596-9.
11. Folkvardsen DB, et al. 2013. Rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* cultures as detected by phenotypic and genotypic drug susceptibility test methods. *J Clin Microbiol* 51:4220-2.

12. Nathavitharana RR, et al. 2017. Accuracy of line probe assays for the diagnosis of pulmonary and multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 49.
13. Theron G, et al. 2016. GenoType® MTBDRsl assay for resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. *Cochrane Database Syst Rev* 9:CD010705.
14. Hain Lifescience. GenoType MTBDRplus VER 2.0 Molecular Genetic Assay for Identification of the *M. tuberculosis* Complex and its Resistance to Rifampicin and Isoniazid from Clinical Specimens and Cultivated samples Instructions for use (June 2015).
15. Hain Lifescience. GenoType MTBDRsl VER 2.0. Molecular Genetic Assay for Identification of the *M. tuberculosis* Complex and its Resistance to Fluoroquinolones and Aminoglycosides/Cyclic Peptides from Sputum Specimens or Cultivated Samples. Instruction for use (June 2015).
16. Tagliani E, et al. 2015. Diagnostic Performance of the New Version (v2.0) of GenoType MTBDRsl Assay for Detection of Resistance to Fluoroquinolones and Second-Line Injectable Drugs: a Multicenter Study. *J Clin Microbiol* 53:2961-9.
17. WHO treatment guidelines for isoniazid-resistant tuberculosis: Supplement to the WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0
http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_guidelines_isoniazid_resistant_TB/en/
18. Technical report on the critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis (WHO/CDS/TB/2018.5) [Internet]. Geneva, World Health Organization; 2017. Disponible sur :
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260470/1/WHO-CDS-TB-2018.5-eng.pdf>
19. Technical report on the pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK/PD) of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis (WHO/CDS/TB/2018.6) [Internet]. Geneva, World Health Organization; 2018. Disponible sur :
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260440/1/WHO-CDS-TB-2018.6-eng.pdf>
20. Rigouts L, et al. 2015. Specific gyrA gene mutations predict poor treatment outcome in MDR-TB. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71(2):314–23.
21. Lange C, et al. 2018. Perspectives for personalized therapy for patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Journal of internal medicine* [Epub ahead of print].
22. Vadwai V, et al. 2013. Can inhA mutation predict ethionamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis* 17:129–30.
23. Vilch ze C, et al. 2014. Resistance to Isoniazid and Ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*: Genes, Mutations, and Causalities. *Microbiol Spectr* 2:MGM2-0014-2013.
24. World Health Organization. Rapid communication: key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB). Licence: CC BY-NC-SA 3.0.
http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_RapidCommunicationMDRTB.pdf.
25. Ahmad N, et al. 2018. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis. *Lancet* 392:821–834.
26. Rigouts L, et al. 2013. Rifampin resistance missed in automated liquid culture system for *Mycobacterium tuberculosis* isolates with specific rpoB mutations. *J Clin Microbiol* 51:2641-5.
27. Van Deun A, et al. 2013. Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard. *J Clin Microbiol* 51:2633-40.

28. Shah NS, et al. 2016. Clinical Impact on Tuberculosis Treatment Outcomes of Discordance Between Molecular and Growth-Based Assays for Rifampin Resistance, California 2003–2013. *Open Forum Infect Dis* 3:ofw150.
29. Miotto, P et al. Role of disputed mutations in the *rpoB* gene in the interpretation of automated liquid MGIT culture results for rifampicin susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of clinical microbiology* (2018): JCM-01599.
30. Seifert M, et al. 2015. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *PLoS One* 10:e0119628.
31. Kandler JL, et al. 2018. Validation of Novel *Mycobacterium tuberculosis* Isoniazid Resistance Mutations Not Detectable by Common Molecular Tests. *Antimicrob Agents Chemother* 62.
32. Andre E, et al. 2017. Consensus numbering system for the rifampicin resistance-associated *rpoB* gene mutations in pathogenic mycobacteria. *Clin Microbiol Infect* 23:167–172.
33. Camus JC, et al. 2002. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967–73.

Annexe 1.

Modèle de rapport pour les FL-LPA – Cas pratiques

Veillez noter que la rubrique « Conclusion » a été incluse par commodité mais qu'elle ne doit pas être intégrée au rapport de laboratoire.

Exemple 1

Médicament	Gène	Mutation	Interprétation	Conclusion
Rif ^a	<i>rpoB</i>	H526Y	Résistance à la Rif détectée.	La rifampicine n'est pas efficace.
H ^a	<i>katG</i>	Mutation(s) dans la région du codon 315	Mutation associée à une forte augmentation de la CMI supposée.	L'isoniazide n'est probablement pas efficace, même à forte dose.
	<i>inhA</i>	t-8a		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	t-8a	Résistance à l'Eto/ la Pto probablement détectée.	L'éthionamide et la prothionamide ne sont probablement pas efficaces.

Exemple 2

Médicament	Gène	Mutation	Interprétation	Conclusion
Rif ^a	<i>rpoB</i>	Aucune mutation détectée	Résistance à la Rif non détectée.	La rifampicine est efficace.
H ^a	<i>katG</i>	S315T	Mutation associée à une forte augmentation de la CMI détectée.	L'isoniazide n'est pas efficace, même à forte dose.
	<i>inhA</i>	c-15t		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	c-15t	Résistance à l'Eto/la Pto détectée.	L'éthionamide et la prothionamide ne sont pas efficaces.

^a S'il existe plus d'une sonde par médicament fournissant des informations, les résultats doivent être rapportés dans l'ordre suivant (où le signe « > » signifie « l'emporte sur ») :
Pour l'H : Mutation associée à une forte augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à une forte augmentation de la CMI supposée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI supposée > Résistance non détectée.
Pour la Rif : Résistance détectée > Résistance supposée > Résistance non détectée.

Exemple 3

Médicament	Gène	Mutation	Interprétation	Conclusion
Rif	<i>rpoB</i>	Mutation(s) dans les régions du codon 516-522 (435-441)	Résistance à la Rif supposée.	La rifampicine n'est pas efficace.
H	<i>katG</i>	Aucune mutation détectée	Mutation probablement associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée.	L'isoniazide à haute dose est probablement efficace.
	<i>inhA</i>	t-8c		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	t-8c	Résistance à l'Eto/ la Pto probablement détectée.	L'éthionamide et la prothionamide ne sont probablement pas efficaces.

Annexe 2.

Modèle de rapport pour les SL-LPA – Cas pratiques

Veillez noter que la rubrique « Conclusion » a été incluse par commodité mais qu'elle ne doit pas être intégrée au rapport de laboratoire.

Exemple 1

Médicament	Gène	Mutation	Interprétation	Conclusion
Lfx ^a	<i>gyrA</i>	D94A	Résistance à la Lfx détectée.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB.
	<i>gyrB</i>	Aucune mutation		
Mfx ^a	<i>gyrA</i>	D94A	Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	
	<i>gyrB</i>	Aucune mutation		
Km ^a	<i>rrs</i>	a1401g	Résistance à la Km détectée.	
	promoteur <i>eis</i>	Mutation(s) dans la région -10 à -15		
Am	<i>rrs</i>	a1401g	Résistance à l'Am détectée.	
Cm	<i>rrs</i>	a1401g	Résistance à la Cm détectée.	

Exemple 2

Médicament	Gène	Mutation	Interprétation	Conclusion
Lfx	<i>gyrA</i>	A90V	Résistance à la Lfx détectée.	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB. La kanamycine n'est pas efficace. L'amikacine est efficace. La capréomycine est efficace.
	<i>gyrB</i>	Aucune mutation		
Mfx	<i>gyrA</i>	A90V	Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx détectée.	
	<i>gyrB</i>	Aucune mutation		
Km	<i>rrs</i>	Aucune mutation	Résistance à la Km supposée.	
	promoteur <i>eis</i>	Mutation(s) dans la région -37		
Am	<i>rrs</i>	Aucune mutation	Résistance à l'Am non détectée.	
Cm	<i>rrs</i>	Aucune mutation	Résistance à la Cm non détectée.	

Exemple 3

Médicament	Gène	Mutation	Interprétation	Conclusion
Lfx	<i>gyrA</i>	Mutation(s) au codon 89–93	Résistance à la Lfx supposée	La lévofloxacine n'est pas efficace. La moxifloxacine peut être utilisée à plus haute dose. Le traitement doit être réévalué en fonction des résultats du TDS phénotypique au CB. Note. Ces recommandations ne s'appliquent pas si le séquençage, disponible avant le début du traitement, identifie des mutations qui ne sont pas associées à la résistance aux FQ, ou si le TDS phénotypique présente une sensibilité à la CC.
	<i>gyrB</i>	Aucune mutation		
Mfx	<i>gyrA</i>	Mutation(s) au codon 89–93	Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI pour la Mfx supposée.	
	<i>gyrB</i>	Aucune mutation		
Km	<i>rrs</i>	Aucune mutation	Résistance à la Km non détectée	
	promoteur <i>eis</i>	Mutation(s) dans la région -2		
Am	<i>rrs</i>	Aucune mutation	Résistance à l'Am non détectée	
Cm	<i>rrs</i>	Aucune mutation	Résistance à la Cm non détectée	

^a S'il existe plus d'une sonde par médicament fournissant des informations, les résultats doivent être rapportés dans l'ordre suivant (où le signe « > » signifie « l'emporte sur ») :

Pour la Lfx, l'Am, la Km et la Cm : Résistance détectée > Résistance supposée > Résistance non détectée.

Pour la Mfx : Mutation associée à une forte augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI détectée > Mutation associée à au moins une faible augmentation de la CMI supposée > Résistance non détectée.

Annexe 3.

Substitutions de nucléotides spécifiques détectées par les sondes MUT

Veillez noter que certains changements d'acides aminés (AA) identifiés par le FL-LPA et le SL-LPA sont causés par des substitutions de nucléotides qui ne sont pas spécifiquement reconnues par les sondes MUT. Par exemple, la mutation A90V du gène *gyrA* est causée par deux substitutions possibles de nucléotides, à savoir (i) gcg>gtg ou (ii) gcg>gtc. Cependant, seule la première substitution au niveau nucléotide (gcg>gtg) sera reconnue par la sonde *gyrA* MUT1, alors que la seconde (gcg>gtc) sera détectée seulement par l'absence de la sonde *gyrA* WT2 (c.-à-d. *gyrA* WT2 non détectée).

	Sonde MUT	Changement d'AA	Substitution au niveau nucléotide
Sondes <i>rpoB</i> MUT	MUT1	D516V (D435V)	gac>gtc
	MUT2A	H526Y (H445Y)	cac> tac
	MUT2B	H526D (H445D)	cac> gac
	MUT3	S531L (S450L)	tcg>ttg

	Sonde MUT	Changement d'AA	Substitution au niveau nucléotide
Sondes <i>katG</i> MUT	MUT1	S315T	agc>acc
	MUT2	S315T	agc>aca

	Sonde MUT	Changement d'AA	Substitution au niveau nucléotide
Sondes <i>gyrA</i> MUT	MUT1	A90V	gcg>gtg
	MUT2	S91P	tcg>ccg
	MUT3A	D94A	gac>gcc
	MUT3B	D94N	gac>aac
	MUT3B	D94Y	gac>tac
	MUT3C	D94G	gac>ggc
	MUT3D	D94H	gac>cac

	Sonde MUT	Changement d'AA	Substitution au niveau nucléotide
Sondes <i>gyrB</i> MUT	MUT1	N538D (N499D)	aac>gac
	MUT2	E540V (E501V)	gaa>gta



www.stoptb.org/wg/gli