

## **Organisation de la lutte antituberculeuse en Guyane**

Les centres hospitaliers de Cayenne (CHAR), Kourou (CHK) et Saint-Laurent du Maroni (CHOG) sont en première ligne pour l'évaluation clinique initiale et la mise sous traitement. La Croix Rouge Française organise les enquêtes autour des cas, la prise en charge et le suivi des traitements pour les patients à la sortie de l'Hôpital. L'Agence Régionale de Santé (ARS) surveille les Déclarations Obligatoires, supervise et soutient le programme de lutte contre la tuberculose.

L'Institut Pasteur détient le monopole du diagnostic bactériologique direct, de la mise en culture des prélèvements et du rendu des antibiogrammes de première ligne en Guyane. Cette place a été confirmée récemment dans le rapport de la mission d'évaluation du programme de lutte contre la tuberculose en Guyane (L'Union, Mai 2019) mandatée par l'ARS en 2018 pour faire face à la recrudescence des cas de tuberculose.

## **La démarche diagnostique du laboratoire**

L'activité du laboratoire des mycobactéries est suivie par un biologiste médical, Dr. Emmanuel Beillard, dont l'allocation du temps à ce secteur de microbiologie spécialisée correspond à 0.2 ETP. La partie technique du diagnostic est prise en charge par 1 technicien équivalent temps-plein (ETP).

Notre laboratoire s'est progressivement modernisé pour se mettre en conformité avec la démarche diagnostique de référence ainsi qu'avec la norme ISO15189 : la mise en place des cultures en milieu liquide (1 puis 2 automates MGIT Bactec®, Becton-Dickinson) en 2012 et 2014, la mise en place des tests Quantiféron® ou Interferon-gamma Release Assay (IGRA) par technique ELISA en 2014 et passage à une version optimisée en 2017, un colorateur automatisé en 2015 (RAL Stainer®), déménagement dans une salle du laboratoire P3 du vectopôle en 2016.

Notre démarche diagnostique de référence pour la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* comporte 5 étapes principales visant à exclure la possibilité d'infection à mycobactéries non tuberculeuses:

Examen initial :

Examen direct (ED) microscopique sur le prélèvement avant décontamination et concentration pour mise en évidence des BAAR (Bacilles acido-alcoolo-résistants), délai de rendu <2j ouvrés. L'examen est réalisé en utilisant une coloration de Ziehl-Neelsen (non fluorescente).

#### Mise en culture:

Pour chaque prélèvement traité, un milieu liquide MGIT et 1 tube en milieu solide (Lowenstein-Jensen, LJ) sont ensemencés et cultivés à 37°C pendant respectivement 42j et 60j. Un tube LJ supplémentaire est ensemencé et cultivé à 30°C pour les prélèvements cutanés. L'utilisation de milieux liquides dans un automate de culture (MGIT Bactec®) permet de raccourcir le délai moyen de pousse des mycobactéries à 10-15 jours par rapport au milieu solide (4 à 6 semaines).

#### Identification et antibiogramme de première ligne :

Le laboratoire utilise un test de détection rapide de l'antigène MPT64 à partir des cultures positives qui, en quelques minutes, oriente vers le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (délai de rendu <2j ouvrés à partir de la positivité de la culture). En cas de positivité pour l'antigène MPT64 (spécifique du complexe *tuberculosis*), les échantillons sont envoyés au laboratoire CERBA pour confirmation de l'identité par PCR.

Les antibiogrammes de première ligne (Streptomycine, Isoniazide, Rifampicine, Ethambutol (SIRE) et Pyrazinamide (PZA)) sont réalisés avec les automates BACTEC en milieu liquide sur la première série de prélèvements positifs. Si une résistance est détectée, elle est contrôlée en milieu liquide avant d'être envoyée au CNR des Mycobactéries en métropole pour caractérisation moléculaire.

#### Mycobactéries atypiques

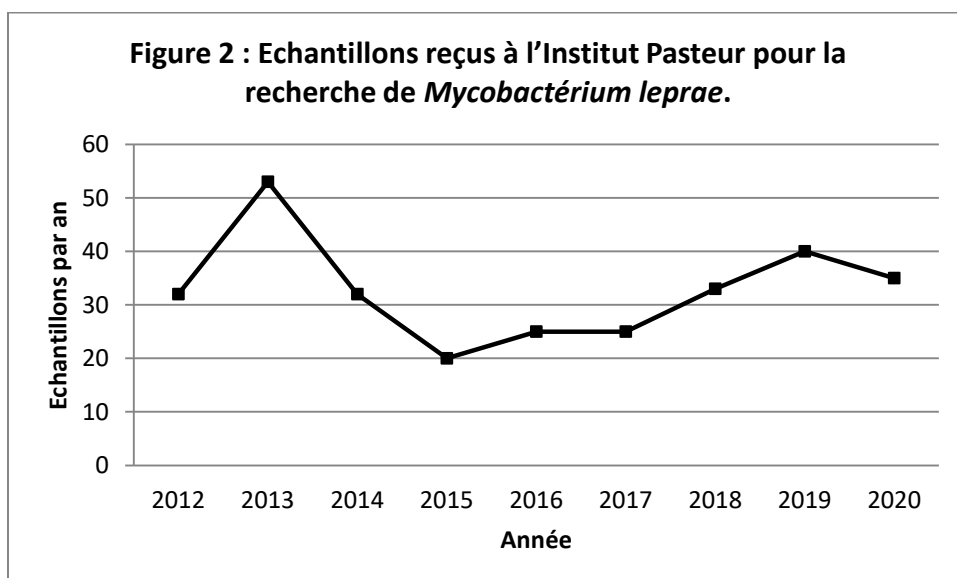
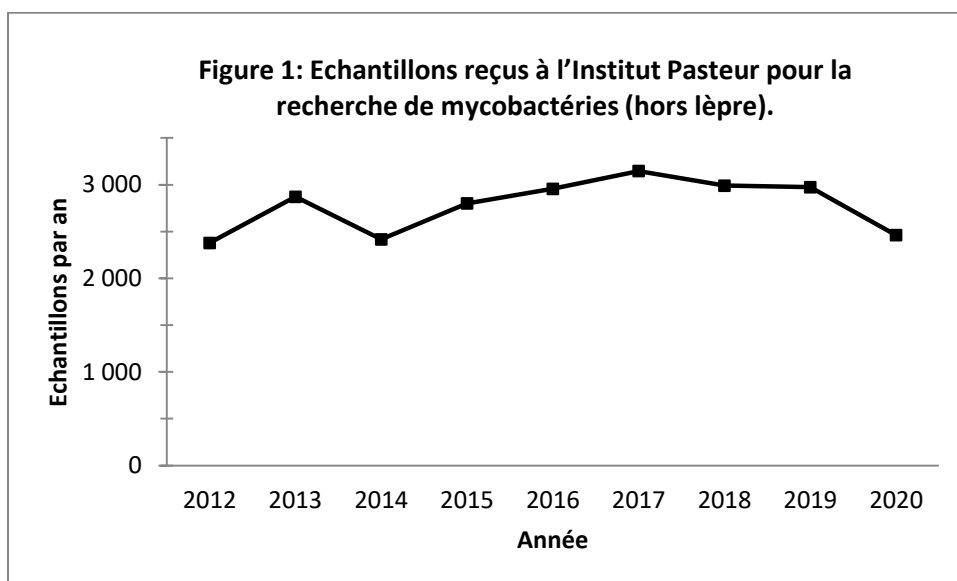
Les identifications de mycobactéries dites atypiques (MPT64-) sont confiées au laboratoire CERBA et réalisées par hybridation moléculaire (Hain-Biocentric).

#### Antibiogramme de seconde ligne:

Les antibiogrammes de seconde ligne pour *M. tuberculosis* et les mycobactéries atypiques sont transmis au CNR à Paris.

## L'activité de diagnostic au laboratoire

Le volume d'activité du laboratoire en 2020 est de 2462 échantillons pour la recherche de mycobactéries (*Mycobacterium tuberculosis* et mycobactéries atypiques) et 35 échantillons pour la recherche de l'agent infectieux responsable de la lèpre, *Mycobacterium leprae*. Le volume d'activité est en diminution par rapport à 2019 ; cette diminution s'explique probablement par la crise sanitaire liée au SARS-CoV2 (Figure 1 et 2).



## Les échantillons reçus au laboratoire en 2020

La majorité (77%) des prélèvements reçus sont d'origine respiratoire (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques des échantillons reçus pour la recherche de mycobactéries.

Type de prélèvement	Echantillons	
	n=	(%)
Expectoration	1491	60.6
Tubage	236	9.6
Urine	262	10.5
Autres Respiratoires	173	7.0
Biopsies	100	4.1
Liquides de ponction (Asc., Pleu., ...)	164	6.7
Moelle	36	1.5
<b>Total</b>	<b>2462</b>	<b>100,0%</b>

En 2020, 256 cultures étaient positives (10.4%). Nous avons identifié 50 nouveaux patients positifs pour la présence de *M. tuberculosis* (identification par MPT64 + sur 69 souches) et dépisté 18 patients positifs pour une mycobactérie atypique (identification par MPT64 – sur 19 souches) (Tableau 3). La souche d'un patient avec un test rapide MPT64 négatif a été identifié comme appartenant au complexe *tuberculosis* par le laboratoire Cerba (PCR). Une altération génétique dans le gène MPT64 (mutation) pourrait être une cause de faux négatifs. Le sexe-ratio est 1.9 avec 33 hommes (66%) pour 17 femmes (34%). L'âge médian est de 34 ans (Tableau 2).

**Tableau 2 : Données démographiques des nouveaux cas de tuberculose**

Année	2018	2019	2020
Age moyen (extrêmes)	43 ans (0*-78)	37 ans (0** -76)	34 ans (21-64)
F (%)	22 (35%)	31 (48%)	17 (34%)
M (%)	40 (65%)	33 (52%)	33 (66%)
<b>Total (n=)</b>	<b>62</b>	<b>64</b>	<b>50</b>

Nous avons réalisé 58 antibiogrammes pour l'année 2020. Quatre patients présentaient une résistance à l'isoniazide (**Tableau 4**). Six patients ont eu deux antibiogrammes et un patient a eu trois antibiogrammes.

**Tableau 3 : Données descriptives du nombre de cas de *M. tuberculosis* détectées (2017 à 2020)**

Analyses effectuées	2017	2018	2019	2020
<b>Nombre de prélèvements</b>	3147	2988	2974	2462
<b>Souches identifiées :</b>				
Mycobactéries atypiques*	42	45	38	20
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (MT)*	<b>74</b>	<b>62</b>	<b>64</b>	<b>69</b>
<b>Phénotype de résistance des souches de MT</b>				
<b>Souches multi-résistantes :</b>				
Résistance INH et RIF	0	0	0	0
Résistance STR et INH	0	1	0	0
<b>Souches mono résistantes :</b>				
Isoniazide	3	2	0	4
Rifampicine	0	1	0	0
Streptomycine	1	0	0	0
Pyrazinamide	0	1	1	0
Ethambutol	ND	0	0	0
<b>Proportion de souches avec au moins une résistance</b>	<b>5.4 %</b> (4/74)	<b>8.1%</b> (5/62)	<b>1.6%</b> (1/64)	<b>5.8%</b> (4/69)

**Tableau 4: Caractéristiques des patients résistants aux antibiotiques en 2020**

Patient (dossier)	DDN	Sexe	Résistance	Prélèvement	Génotype (CNR)
E1015016	19/3/2003	F	Isoniazide	Ponction ganglionnaire	Résultat CNR non reçu
E0130039	12/07/1998	M	Isoniazide	Liquide pleural	katG (W191G), ahpC (c-57t)
E0926006	14/04/1965	M	Isoniazide	Expectoration	fabG (c-15t), gidB (P199A)
E1125242	26/06/1990	M	Isoniazide	Ponction ganglionnaire	FabG (c-15t)

Phénotype : technique d'identification par culture bactérienne en présence d'antibiotique (culture liquide à l'IPG, solide au CNR) ; Génotype : caractérisation génétique des mutations et polymorphismes.

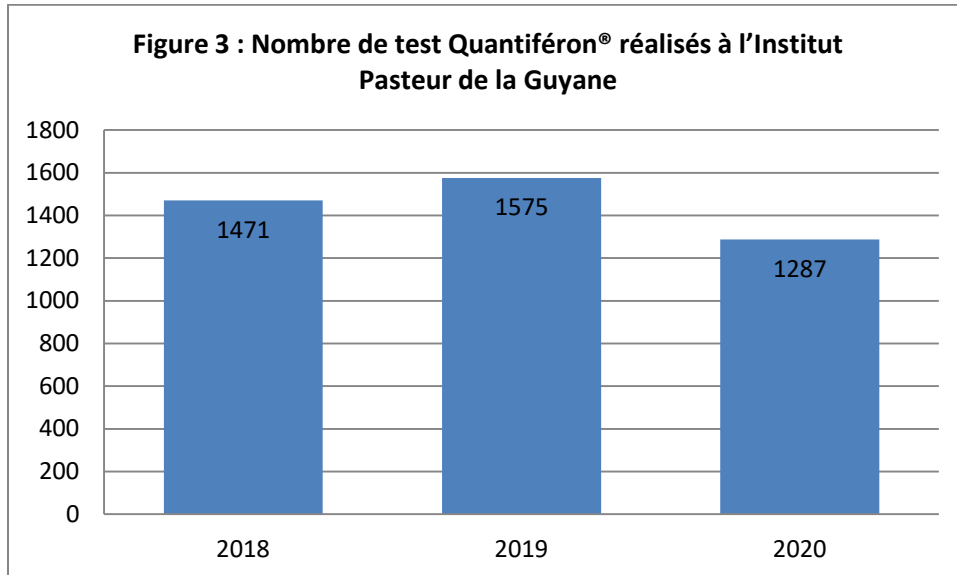
Trois souches de mycobactéries atypiques (*M. fortuitum*, *M. avium* et *M. intracellulare*) représentent plus de la moitié (68%, 13/19) des isolats.

<b>Souches atypiques</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>
<b>Nombre patients</b>	<b>42</b>	<b>31</b>	<b>18</b>
<i>M. intracellulare</i>	7	8	3
<i>M. lente non chrom.</i>	6	7	0
<i>M. abcessus</i>	7	5	1
<i>M. lente chrom.</i>	1	5	
<i>M. fortuitum</i>	3	4	6
<i>M. malmoense/hemophilum</i>	0	3	0
<i>M. avium</i>	7	2	4
<i>M. scrofulaceum</i>	0	2	0
<i>M. interjectum</i>	0	1	0
<i>M. rapide chrom.</i>	0	1	0
<i>M. gordonnae</i>	4	0	2
<i>M. szulgai</i>	1	0	1
<i>M. lentiflavum</i>	1	0	0
<i>M. marinum</i>	1	0	0
<i>M. simiae</i>	1	0	1
<i>M. genavese/triplex</i>	1	0	0
<i>M. ulcérans</i>	0	0	0
<i>M. mucogencium</i>	0	0	1
<i>M. rapide non chrom.</i>	1	0	0
<i>Non identifiées</i>	4	0	0
<b>Total souches</b>	<b>45</b>	<b>38</b>	<b>19</b>

**Tableau 5: Caractéristiques des souches de mycobactéries atypiques identifiées (CERBA, CNR)**

## Tuberculose latente

1287 test Quantiféron® pour la détection de l'infection tuberculeuse latente ont été effectués en 2020 (Erreur ! Source du renvoi introuvable.).



## Faits marquants en 2020

Diminution importante du nombre d'échantillons pour recherche de mycobactérie envoyés à l'Institut Pasteur expliquée par la crise du Covid-19. L'épidémie de SARS-CoV2 aura un impact négatif sur la pandémie de tuberculose d'après l'OMS, l'Organisation mondiale de la santé. En effet, la prolongation du confinement, le rôle et la charge de travail des professionnels de santé, tant en ville qu'à l'hôpital, a perturbé les services de prévention et de prise en charge des patients atteints de tuberculose entraînant une réduction du nombre de cas dépistés.

## Perspectives en 2021

- Poursuite de l'accréditation du laboratoire des Mycobactéries selon la norme ISO15189 :
  - Examen direct et Culture de mycobactéries
- Départ à la retraite de Sylvie BOUCARD (fin 2020) en charge du secteur des Mycobactéries et formation d'un nouveau technicien pour la remplacer, Véronique Thalmensy.
- Changement de fournisseur avec arrêt du contrat de mise à disposition des automates Bactec (Périé Médical) pour réaliser des commandes de réactifs en plus gros volume en direct auprès de Becton-Dickinson en Métropole.
- Arrêt technique programmé d'une semaine du laboratoire P3 des mycobactéries avec envoi des échantillons au laboratoire CERBA en métropole (début 2021).

*Rapport rédigé le 20/10/2021 par le Magali Dodémont, Pharmacien Biologiste, Responsable du laboratoire de des Mycobactéries de l'Institut Pasteur de Guyane depuis le 16/08/21.*