

*Atelier avec la coopération de CEPHEID.  
Modérateur : B. Pangon*

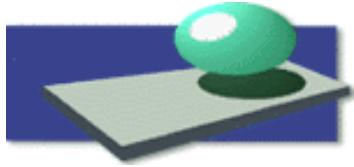
# **Impact clinique et organisationnel du diagnostic rapide de la tuberculose par Xpert MTB-RIF**

Alain Bicart-Sée

Hôpital Joseph-Ducuing, Toulouse

Toulouse, 26 septembre 2012

ACNBH



Agrément FMC  
N° 100 168

41<sup>ème</sup> Colloque National  
des Biologistes des Hôpitaux  
Toulouse, 24-28 septembre 2012



**DECLARATION D'INTERET**  
**DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION**  
**REALISEES POUR L'ACNBH**

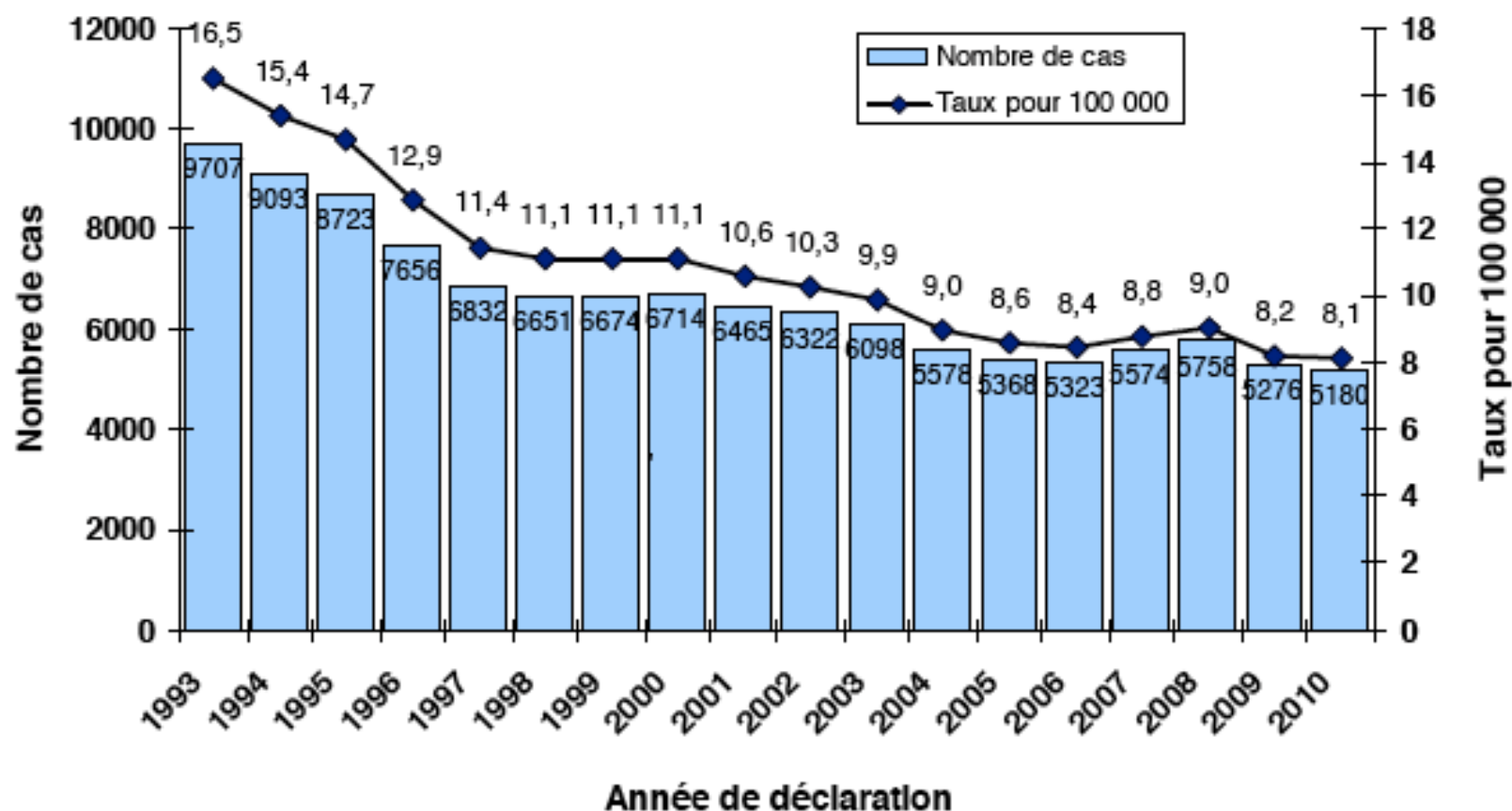
Dr Alain Bicart-Sée

Exerçant au CH Joseph-Ducuing, Toulouse

déclare sur l'honneur

**ne pas avoir d'intérêt**, direct ou indirect (financier) avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'éditions  
**en relation avec le DMDIV et/ou le sujet présenté.**

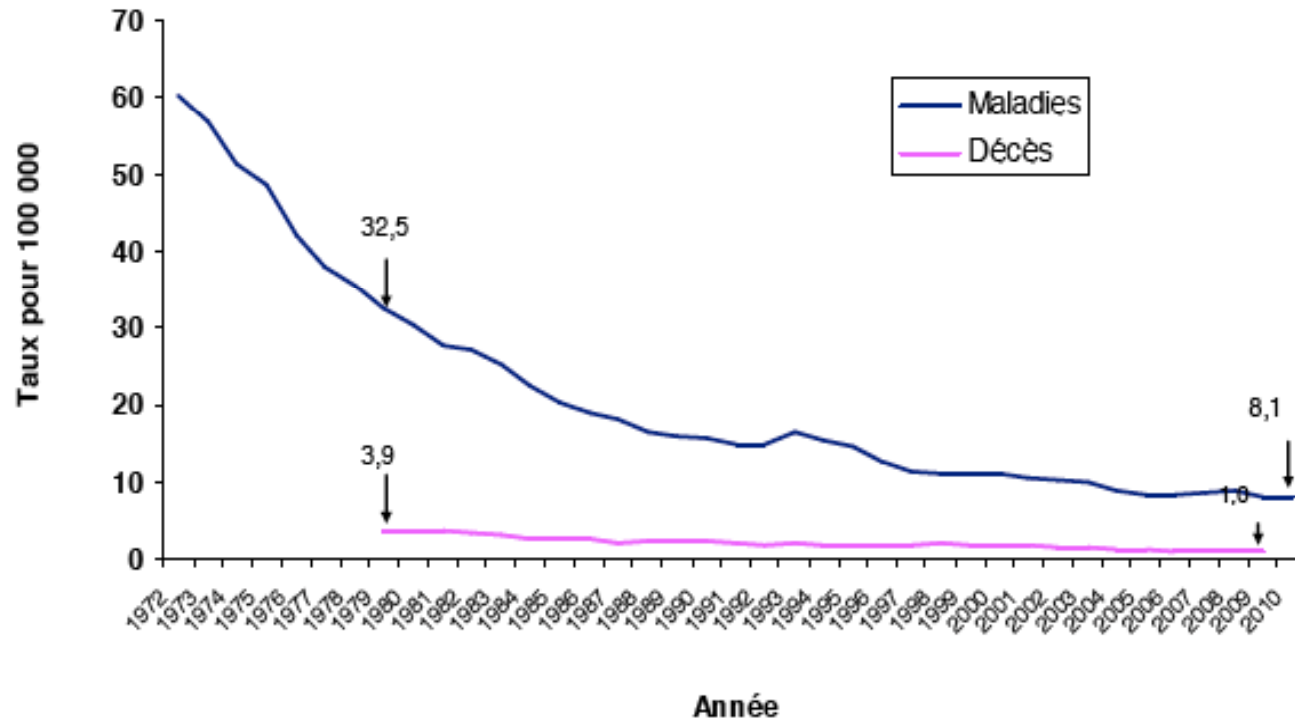
# Cas déclarés de tuberculose maladie (Nombre de cas et taux), France entière, 1993-2010



Source: InVS, déclaration obligatoire de tuberculose, INSEE, Estimations localisées de population

# Tuberculose : maladie grave

## Morbidité et mortalité\* liées à la tuberculose, France métropolitaine, 1972-2010



\* Tuberculose en cause principale de décès

Sources: InVS (déclaration obligatoire), INSERM (CépiDc)

# Tuberculose : diagnostic difficile

Etude du délai diagnostique au cours de la tuberculose en France : 225 patients (DO) entre avril et juin 2010

- Délai 'total' (1ers symptômes – diagnostic) :  
Moyenne 97 jours
- Délai 'patient' (1ers symptômes – 1er recours) :  
Moyenne 47 jours
- Délai 'soignant' (1er recours – diagnostic) :  
Moyenne 48 jours

# Tuberculose : diagnostic difficile

## **BEH 1995** *Dautzenberg B, BEH 1995;10*

Enquête nationale en 1994 (n = 444)

Délai diagnostic : Moyenne 98 jours

## **Revue de la littérature 2008 (58 études)**

*Storla DG et al. BMC Public Health 2008*

- Délai diagnostique = 60-90 jours (moyenne 72 jours)

### **Conséquences du délai diagnostique :**

Tuberculose plus grave

Charge bacillaire augmente avec le délai diagnostique

Transmission : + 8 conversions IDR c/o 'contacts' si > 60 jours

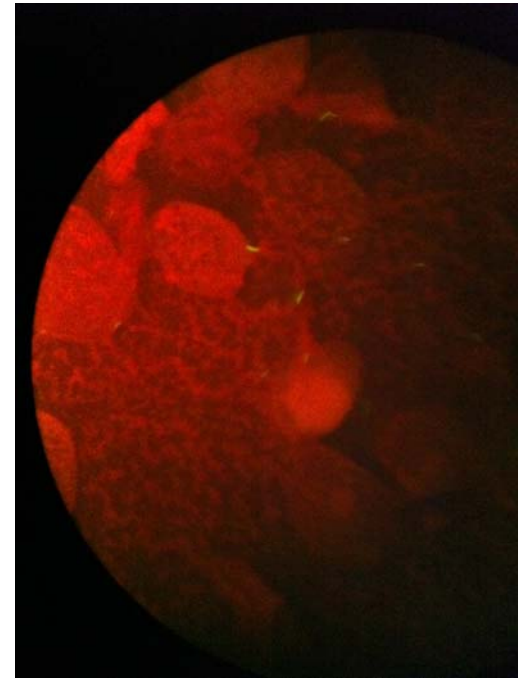
# Nouveaux outils diagnostics nécessaires

- Gold standard : examen direct et culture

Mais

- Complexes
- Longs (préparation et lecture)
- Insuffisants Quand le diagnostic est défini par traitement complet (et non par culture)

Bactério + : environ 70%



# Nouveaux outils diagnostics pour la tuberculose évolutive

- Ag urinaires : LAM (lipoarabinomannane)
- Tests respiratoires
- Mycobactériophages
- Biologie moléculaire : techniques les plus abouties.

Différentes PCR : classique, temps réel, nichée, balises moléculaires



# Différentes PCR BK

- Diagnostic d'espèce par hybridation sur culture
- Recherche des gènes de résistance (INH, rifampicine)
- Sur le prélèvement biologique :
  - Cobas Amplicor MTB (Roche)
  - ProbeTec MTB (BD)
  - Genoquick MTB (Biocentric)
  - Genotype<sup>®</sup> MTBDC (Hain)

Spécificité  $\approx 100\%$ , sensibilité  $\approx 100\%$  ED+, 50 à 66% ED-

- Avantages : différentes espèces de mycobactéries, économique
- Inconvénients : temps, technique (extraction, thermocycleur, ultracentrifugation), contamination, inhibiteurs

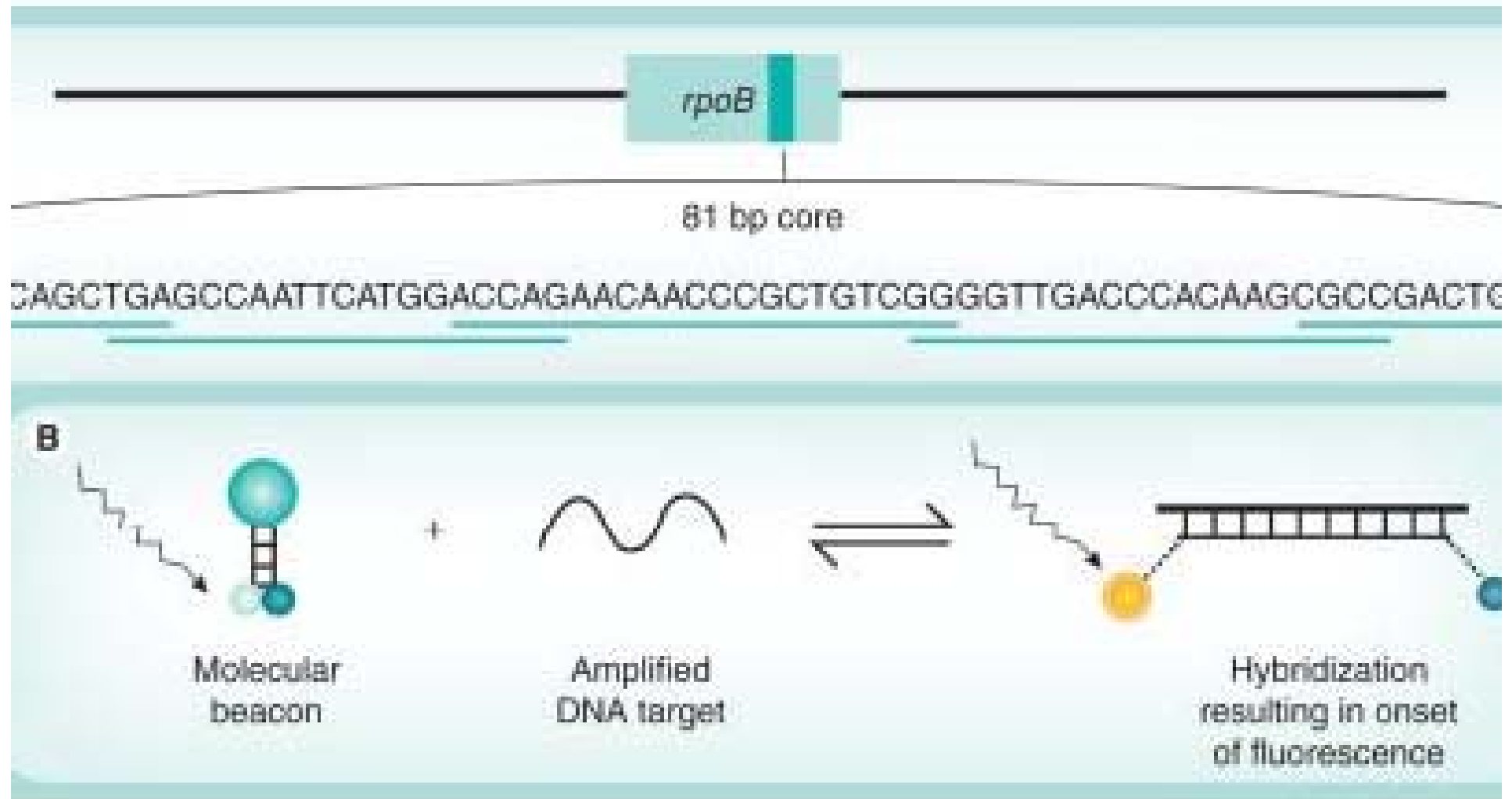
# GeneXpert Cepheid

## PCR pour les nuls !

- C'est un compliment
- Principes de toutes les évolutions (chimie, ELISA, cytométrie...)
- Pas de fascination de l'outil
- Maitriser les indications et interpréter les résultats

ou la fin des laboratoires et des biologistes

# Principe de la balise moléculaire



# Méthode



## Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance

Catharina C. Boehme, M.D., Pamela Nabeta, M.D., Doris Hillemann, Ph.D., Mark P. Nicol, Ph.D., Shubhada Shenai, Ph.D., Fiorella Krapp, M.D., Jenny Allen, B.Tech., Rasim Tahiri, M.D., Robert Blakemore, B.S., Roxana Rustomjee, M.D., Ph.D., Ana Milovic, M.S., Martin Jones, Ph.D., Sean M. O'Brien, Ph.D., David H. Persing, M.D., Ph.D., Sabine Ruesch-Geddes, M.D., Eduardo Gotuzzo, M.D., Camilla Rodrigues, M.D., David Alland, M.D., and Mark D. Perkins, M.D.

### ABSTRACT

#### BACKGROUND

Global control of tuberculosis is hampered by slow, insensitive diagnostic methods, particularly for the detection of drug-resistant forms and in patients with human immunodeficiency virus infection. Early detection is essential to reduce the death rate and interrupt transmission, but the complexity and infrastructure needs of sensitive methods limit their accessibility and effect.

#### METHODS

We assessed the performance of Xpert MTB/RIF, an automated molecular test for *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and resistance to rifampin (RIF), with fully integrated sample processing in 1730 patients with suspected drug-sensitive or multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. Eligible patients in Peru, Azerbaijan, South Africa, and India provided three sputum specimens each. Two specimens were processed with *N*-acetyl-L-cysteine and sodium hydroxide before microscopy, solid and liquid culture, and the MTB/RIF test, and one specimen was used for direct testing with microscopy and the MTB/RIF test.

#### RESULTS

Among culture-positive patients, a single, direct MTB/RIF test identified 551 of 561 patients with smear-positive tuberculosis (98.2%) and 124 of 171 with smear-negative tuberculosis (72.5%). The test was specific in 604 of 609 patients without tuberculosis (99.2%). Among patients with smear-negative, culture-positive tuberculosis, the addition of a second MTB/RIF test increased sensitivity by 12.6 percentage points and a third by 5.1 percentage points, to a total of 90.2%. As compared with phenotypic drug-susceptibility testing, MTB/RIF testing correctly identified 200 of 205 patients (97.6%) with rifampin-resistant bacteria and 504 of 514 (98.1%) with rifampin-sensitive bacteria. Sequencing resolved all but two cases in favor of the MTB/RIF assay.

#### CONCLUSIONS

The MTB/RIF test provided sensitive detection of tuberculosis and rifampin resistance directly from untreated sputum in less than 2 hours with minimal hands-on time. (Funded by the Foundation for Innovative New Diagnostics.)

From the Foundation for Innovative New Diagnostics, Geneva (C.C.B., P.N., M.D.P.); Forschungszentrum Borstel, Borstel, Germany (D.H., S.R.-G.); the Department of Clinical Laboratory Sciences, University of Cape Town, and National Health Laboratory Service, Cape Town (M.P.N., A.M.), and the Unit for Clinical and Biomedical TB Research, South African Medical Research Council, Durban (J.A., R.B.) — all in South Africa; P.D. Hinduja National Hospital and Medical Research Centre (Hinduja), Mumbai, India (S.S., C.R.); Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Peru (E.G.); Special Treatment Institution, Baku, Azerbaijan (R.T.); the Division of Infectious Diseases, New Jersey Medical School, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, Newark (S.B., D.A.); Cepheid, Sunnyvale, CA (M.J., D.H.P.); and the Department of Biostatistics and Bioinformatics, Duke University Medical Center, Durham, NC (S.M.O.). Address reprint requests to Dr. Boehme at the Foundation for Innovative New Diagnostics, Ave. de Bude 16, 1203 Geneva, Switzerland, or at catharina.boehme@indiagnostics.org.

This article (10.1056/NEJMoa0907847) was published on September 1, 2010, at NEJM.org.

N Engl J Med 2010;363:1005-15.  
Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society.

# Principaux résultats

| Δg sur :                                    | Recherche BK<br>n = 1462     | Résultats Cepheid®                               |
|---------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------|
| ED+ et culture+                             | 567 (39%)                    | 566 (99,8%)                                      |
| ED- et culture +                            | 174 (12%)                    | 124 à 157 (de 72,5%<br>à 90,2% quand 3<br>tests) |
| ED- et culture -<br>Faisceau<br>d'arguments | 105 (7%)                     | 30 (29,3%)                                       |
| Total tuberculose +                         | 846 (58% des<br>suspensions) | Spécificité : 99%                                |
| Résistance rifam.                           | 207 (28%)                    | 200 (97%)                                        |

# Xpert MTB/RIF dans les PI

- Sensibilité de 72% (ED-) à 100% (ED+)
- Spécificité  $\approx$  100%
- Résultats équivalents dans les TB extra-pulm.

*Malbruny et al. Int J Tuberc Lung Dis. 2011 Apr;15(4):553-5*

*Belmehdi G. Evaluation des nouvelles techniques de détection et d'identification de M. tuberculosis. Thèse 2011*

*Moure R et al. Clin Microbiol. 2011 Mar;49(3):1137-9*

*Marlowe E. J. Clin. Microbiol. 2011 april ; 49(4) : 1621-3*

Published evidence and commentary on the Xpert MTB/RIF assay

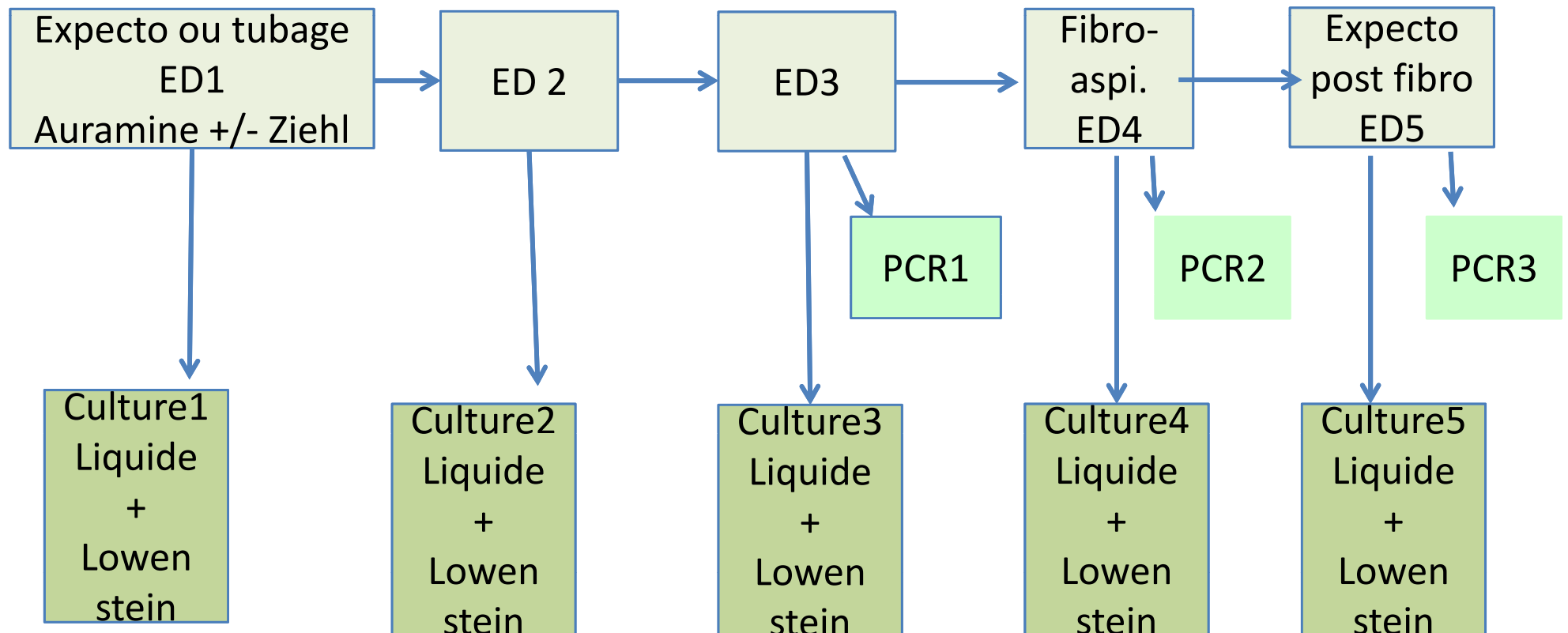
<http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/map/XpertPublications.pdf>



Hôpital Joseph-Ducuing, Toulouse  
Centre de Lutte Anti Tuberculeuse de la Haute-Garonne  
Place de la PCR dans le diagnostic de la tuberculose

800 recherches par an correspondant à 250 patients  
20 à 25 cas diagnostiqués par an

Exemple de démarche diagnostique suspicion de TB pulmonaire :





# Broyage des prélèvements extra-pulmonaires





# Résultats

Période d'étude de 7 mois :

- 145 patients ont eu une recherche de tuberculose
- 40 patients ont eu une PCR :
  - 26 suspicions de tuberculose pulmonaire (à examens directs négatifs)
  - 14 suspicions de tuberculose extra pulmonaire
    - Ganglionnaire : 9
    - Pleurale : 2
    - Urinaire : 2
    - Tissu mou : 1
- 18 patients ont eu un diagnostic de tuberculose, défini par un traitement complet.



## Résultats - 2

| Diagnostic de tuberculose retenu sur<br>N = 18 | PCR +<br>puis<br>culture + | PCR +<br>puis<br>culture - | PCR -<br>puis<br>culture + | PCR -<br>puis culture -<br>Faisceau<br>d'arguments |
|------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------------------------------|
| Tuberculose Pulmonaire<br>N = 13               | 5/13                       | 2/13                       | 2/13                       | 4/13                                               |
| Tuberculose extra pulmonaire<br>N = 5          | 3/5                        | 1/5                        | 0/5                        | 1/5                                                |

Les 13 tuberculoses pulmonaires sont à ED -

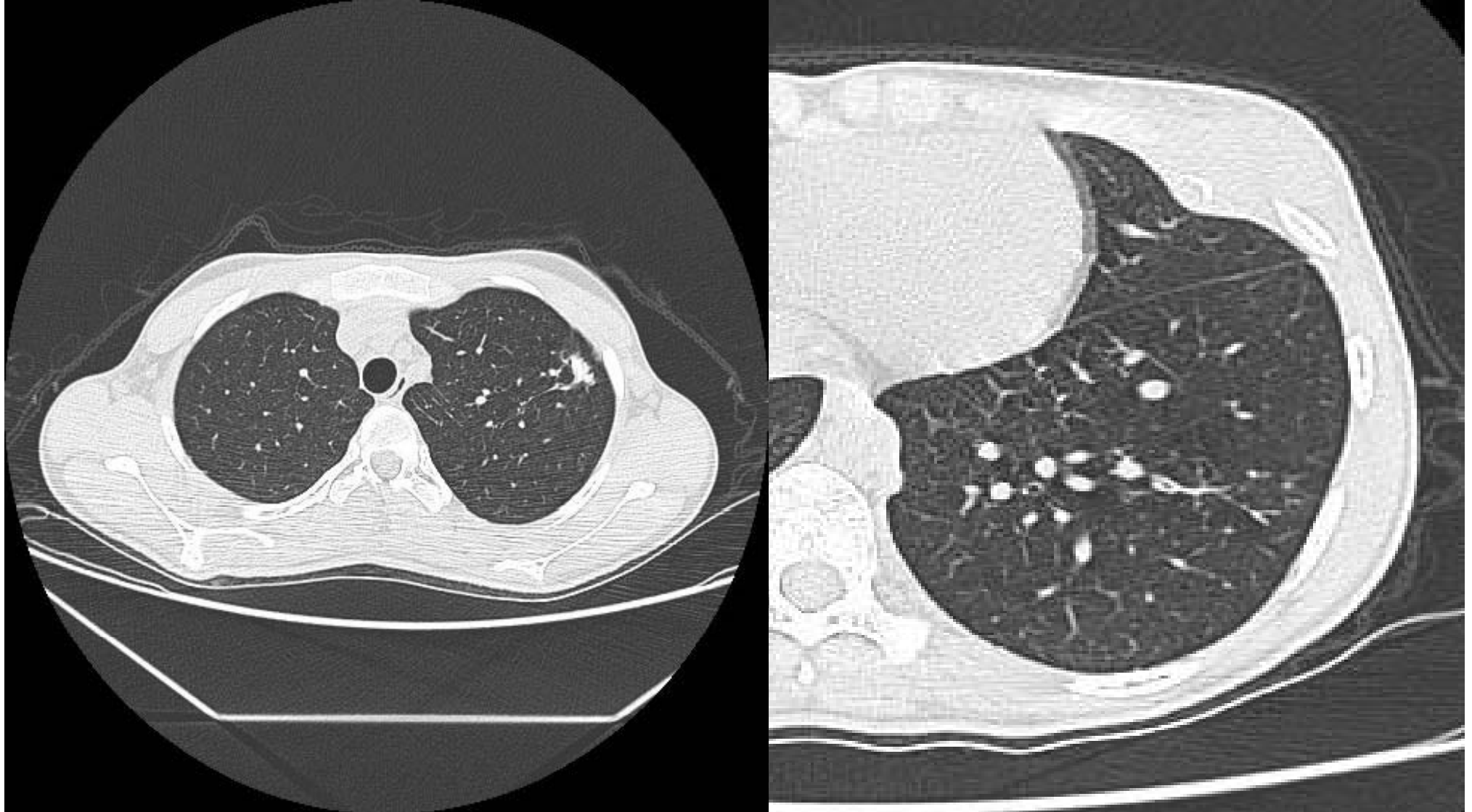
La PCR a été répétée chez 5 patients. Dans 2 cas, elle n'a été positive qu'au 2ème et 3ème prélèvements.



## Résultats - 3

- Gain de temps entre PCR et culture : 9 à 34 jours (moyenne : 18 jours)
- Sensibilité de la PCR (ED- et extrapulm) : 11/18 : 61%
- Sensibilité de la culture : 10/18 : 51%
- Bactériologie négative : 5/18 : 27%
- 3 patients : seulement PCR+ : 3 rechutes.

# Abcès sous-mammaire 2 ans après une tuberculose pulmonaire



# Mais...

**Arrêté du 16 juillet 2007** fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes

Au sens du présent arrêté, on entend par « salles dédiées aux activités techniques » : salles dans lesquelles sont manipulés des échantillons contaminés ou susceptibles d'être contaminés par des agents biologiques pathogènes, ainsi que les salles dans lesquelles sont manipulés, de façon délibérée, des agents biologiques pathogènes.

# Que faire?

« l'évaluation des risques doit permettre de déterminer si la concentration ou la quantité des agents pathogènes incriminés et la nature des activités permettent de renoncer à certaines mesures de confinement spécifiques du niveau 3 »

Pour permettre une bonne corrélation bactériologique-clinique, une réactivité par la proximité :

P2 amélioré et limité aux mycobactéries :  
(PSM entretenu  
Matériel dédié...) :  
ED, PCR\*, mise en culture



Labo de référence P3 pour  
identification et  
antibiogramme

- Etude réalisée avec le test Xpert MTB/RIF : Baisse de 6 à 7 log après 15 minutes dans le réactif, pas d'aérosols. *JCM, oct 2010 ; 3551-57*

# Conclusion 1

- TB : maladie tropicale, orpheline?
- Diagnostic difficile, bactériologie peu sensible.
- PCR : apport majeur.



# Conclusion 2

- PCR GeneXpert, avancée technologique :
  - simple
  - rapide
  - Utilisable au coup par coup
  - Réalisable sur la plupart des prélèvements
  - Adapté aux petits laboratoires
- Place dans un schéma diagnostique associé aux examens directs et la culture :
  - Gain de temps
  - Complémentaire de la culture