



Apport de la technique PCR GeneXpert® dans le diagnostic et le traitement de la tuberculose (Test Xpert MTB/RIF)

Pr Florence Doucet-Populaire
Service de Bactériologie Hygiène
Hôpital Antoine Béclère

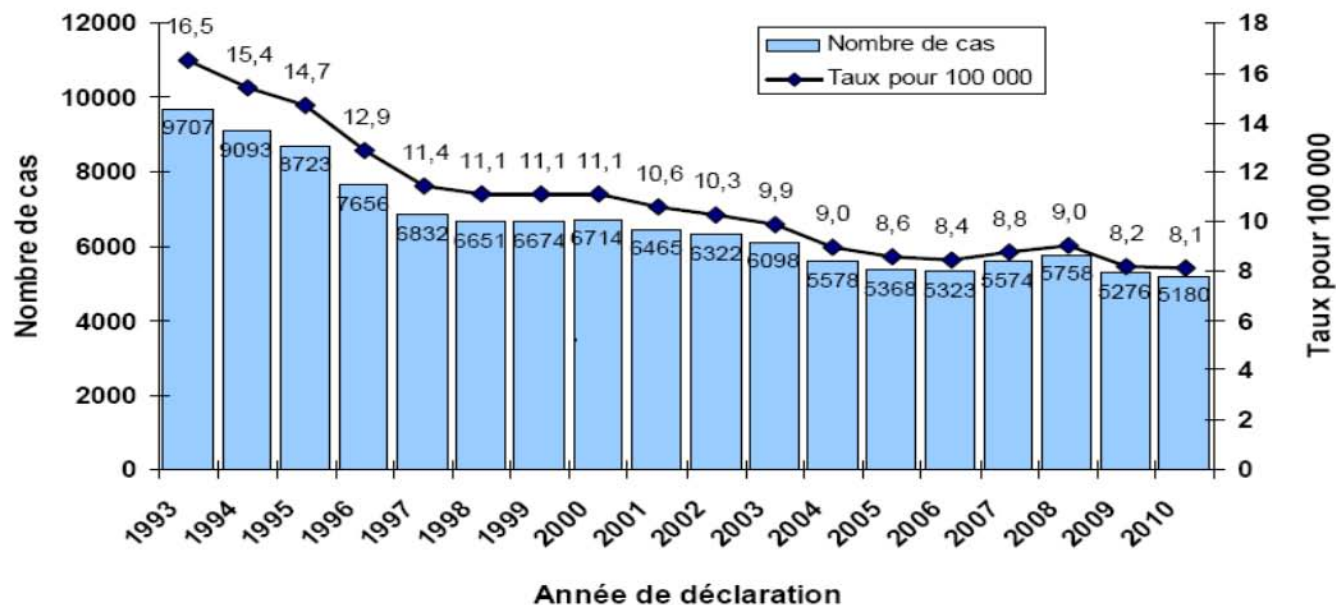
Tuberculose = maladie contagieuse

Mycobactéries du complexe tuberculosis :

M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum

M. microtti, M. canetti, M. pinnipedii, M. caprae

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



Incidence 8,1/100000 ; X 2 en Ile de France

Lutte contre la tuberculose

- Détection précoce des cas de tuberculose
- Mise en place d'un traitement adéquat

➤ Eviter la transmission



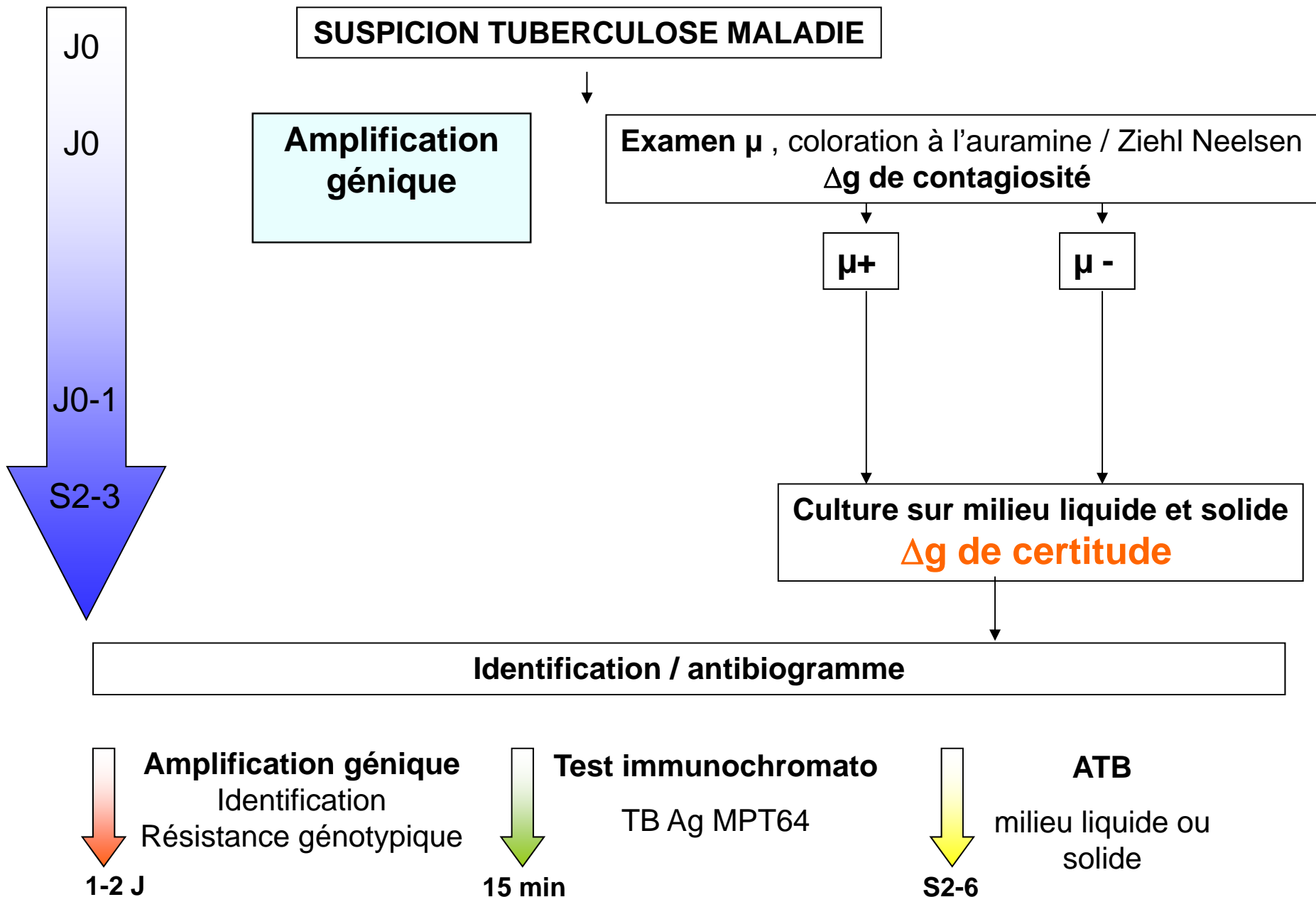
➤ Eviter la sélection de souches résistantes
(MDR environ 50 cas par an, XDR < 5 cas par an)

Rôle du diagnostic biologique

Diagnostic de certitude

- Identification des patients
 - Meilleure prise en charge
 - Traitement ciblé
 - Arrêter la chaîne de transmission

Diagnostic bactériologique précoce et fiable

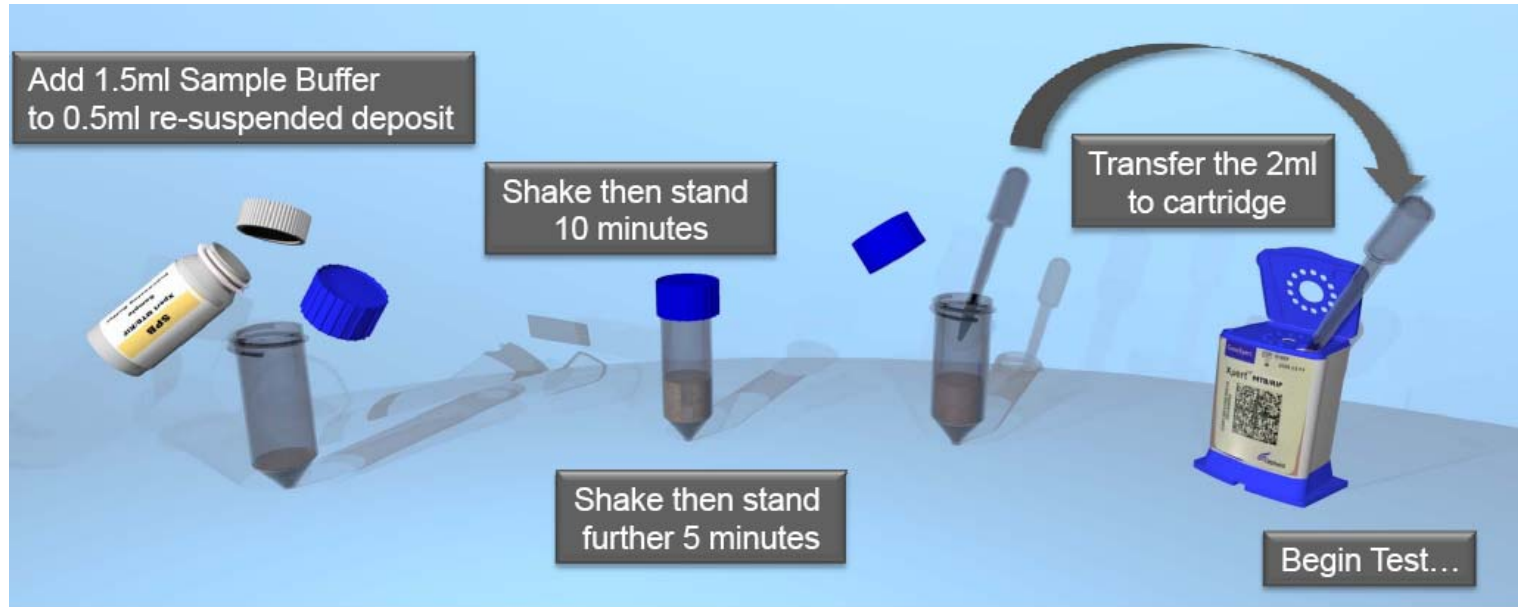


Principe du test Xpert MTB/RIF ®

- PCR temps réel
- Détection des mycobactéries du complexe *tuberculosis*
- Détection de la résistance à la rifampicine
 - Pourquoi ?
 - ATB majeur du traitement
 - Synonyme de Multirésistance
 - Détection moléculaire aisée (gène *rpoB*)

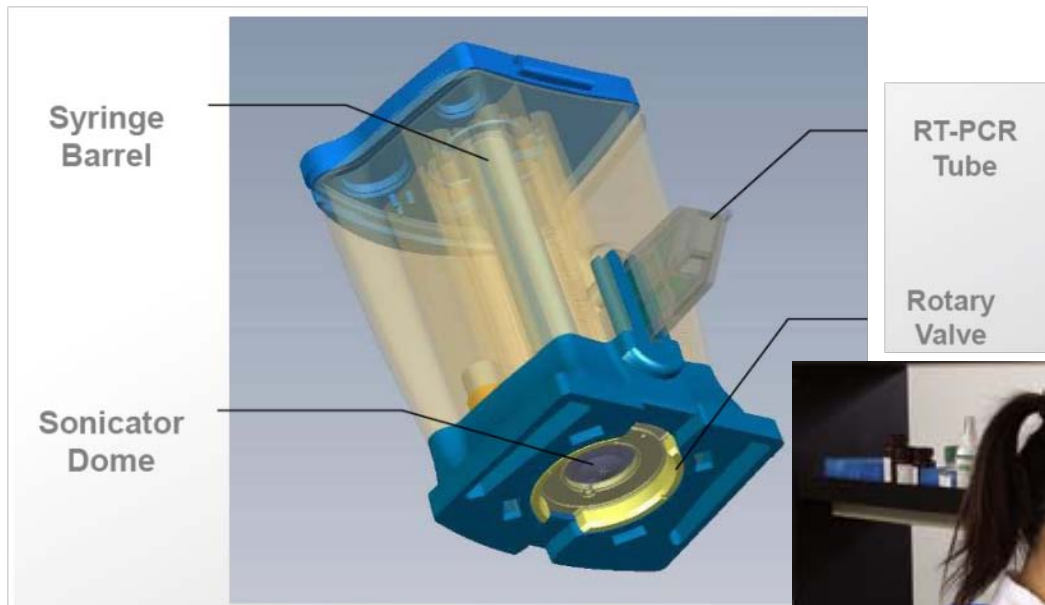


Premières étapes : préparation échantillon



~ **20 minutes**
(après décontamination)

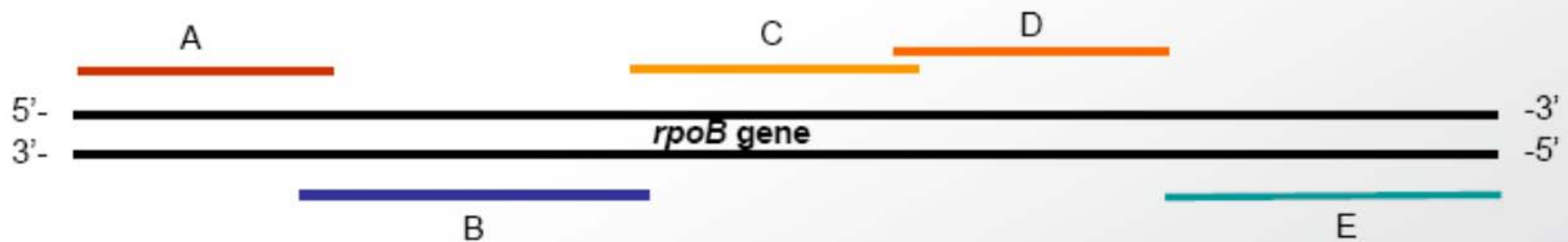
Introduction de la cartouche dans le GeneXpert



Résultat en 2H



The Xpert MTB/RIF Molecular Beacon Assay

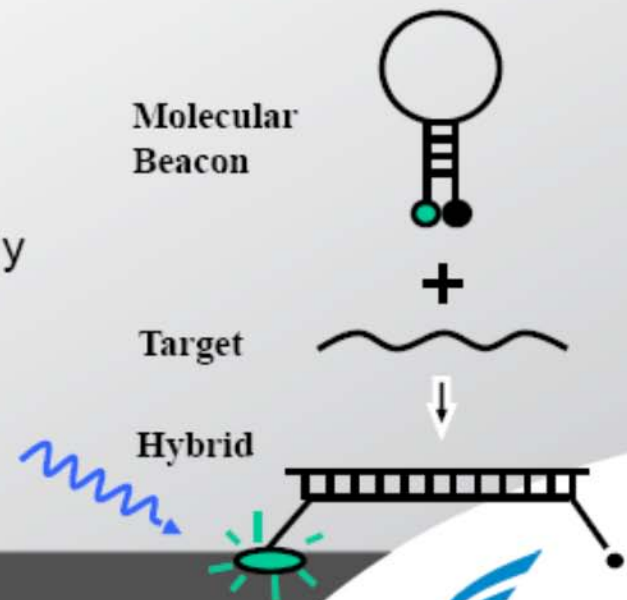


5 Probes bind to wild type

Probes do not bind to mutant sequence

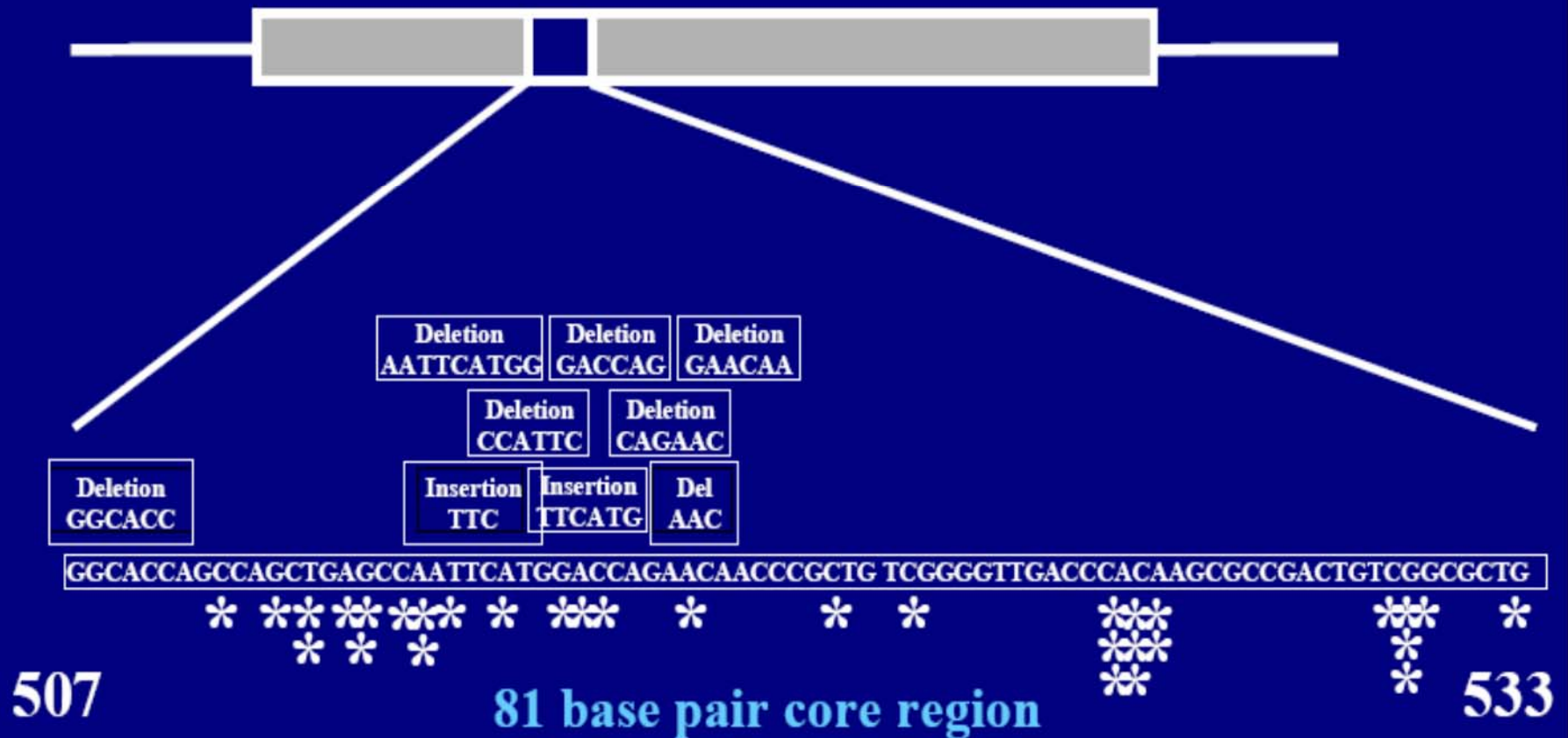
1 Probe for SPC (*B. globigii*)

6 fluorescent dyes detected simultaneously



Genetics of Rifampin Resistance in *M. tuberculosis*

rpoB





Create Test



Check Status



Stop Test



View Results



Define Assays



Define Graphs



Maintenance

Module Name A1

Sample ID Patient 2

Assay Xpert MTB/RIF Assay

Assay Version 3

Assay Type CE-IVD

Reagent Lot ID 00502

Cartridge S/N 0

Expiration Date <None>

Test Type Specimen

Notes

Start Time 5/21/2008 03:18:26

End Time 5/21/2008 04:47:16

Status Done

Error Status OK

User John Smith

SW Version 2.1

Instrument/Module S/N 703622/600663

Views

Result View
Primary Curve

Test and Analyte Result Detail Errors History

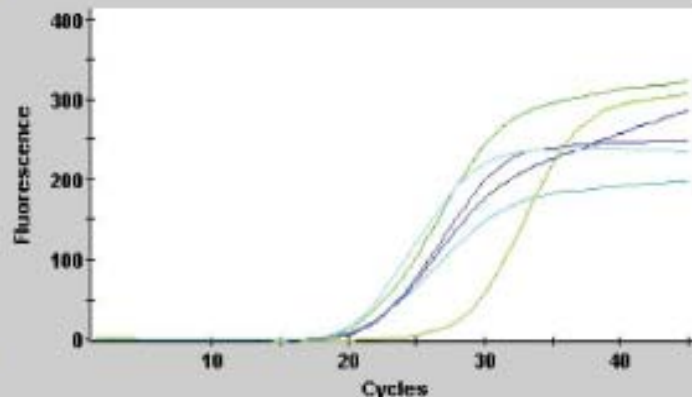
Assay Name Xpert MTB-RIF Assay Version 3

Test Result **MTB DETECTED MEDIUM:**
Rif resistance NOT DETECTED

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
Probe D	21.9	287.0	POS	PASS
Probe C	20.7	324.0	POS	PASS
Probe E	21.6	198.0	POS	PASS
Probe B	21.7	249.0	POS	PASS
SPC	27.7	306.0	NA	PASS
Probe A	20.4	235.0	POS	PASS

Views

Result View
Primary Curve



Legend

- Probe D; Primary
- Probe C; Primary
- Probe E; Primary
- Probe B; Primary
- SPC; Primary
- Probe A; Primary

Save Changes

Export

Report

Select Graphs

View Test

2 types d'Etudes

- Etudes multicentriques de validation clinique et de démonstration (coordonnées par FIND)

Boehme, NEJM, 2010

Boehme, Lancet, 2011



- Etudes monocentriques ou multicentriques d'évaluation (menées par investigateurs)

The NEW ENGLAND
JOURNAL *of* MEDICINE

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 Tahirli, 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-Gerdes, M.D., Eduardo Gotuzzo, M.D., Camilla Rodrigues, M.D.,
David Alland, M.D., and Mark D. Perkins, M.D.

Septembre 2010

Patients



Juillet 2008 à mars 2009

4 sites de géographie et épidémiologie différentes

Patients ≥ 18 ans suspects de tuberculose pulmonaire

3 échantillons $>1,5$ ml chaque

Pas de traitement < 60 jours (sauf suspicion multi-R)

Résultats

Détection de la résistance à la rifampicine
Sensibilité : 98% ; Spécificité : 99%



Table 1: Comparison of the overall sensitivity of a single LJ culture, a single MGIT culture and a single, direct Xpert MTB/Rif test using the results of 3 smears and 4 cultures per patient as a reference standard.

Patient group	Single LJ*	Single MGIT*	Single, direct Xpert †
Smear-positive, Culture-positive	93.0% (1016/1092)	97.7% (1104/1130)	98.2% (551/561)
Smear-negative, Culture-positive	69.3% (205/296)	84.4% (276/327)	72.5% (124/171)
All Culture-positive	88.0% (1221/1388)	94.7% (1380/1457)	92.2% (675/732)

* Calculated as the proportion of individual cultures that agrees with the reference standard of 3 smears and 4 cultures. Contaminated cultures are excluded. Patients with two valid cultures appear in the calculation twice.

† Results are shown for the direct MTB/RIF test performed on unprocessed sputum. For details, see manuscript, table 2.

Diagnosis of tuberculosis and drug resistance : What can new tools bring us ?

The International Journal of Tuberculosis and Lung disease
State of Art de Drobniewski F et al

Performance du test Xpert MTB/RIF dans la tuberculose pulmonaire

pour la détection de *M.tuberculosis* dans les prélèvements cliniques culture +

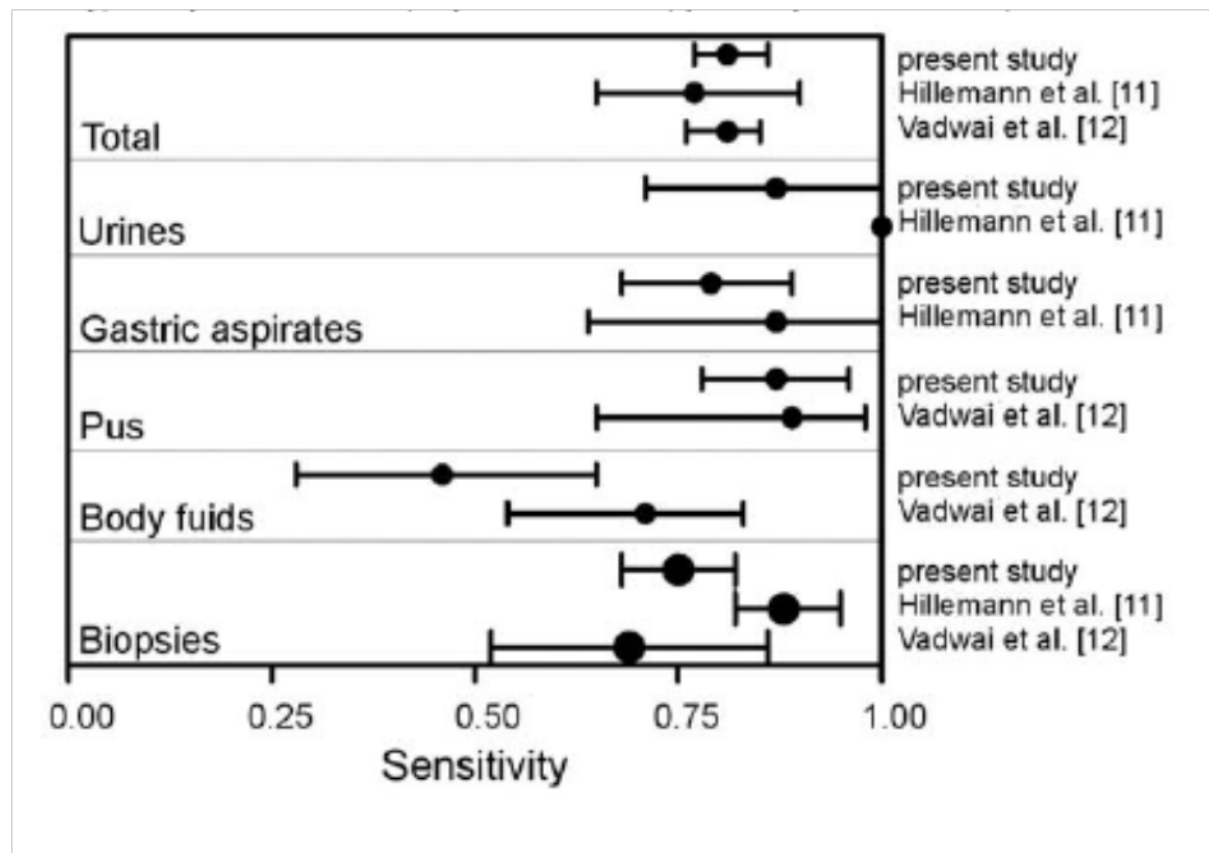
Examen microscopique	Sensibilité	95%IC	Spécificité	95%IC	Nb Etudes	Nb patients
μ+	98 %	98-99	99 %	99-99	7	4896
μ-	75%	72-78	99 %	99-99	7	4466

pour la détection de la résistance à la rifampicine de *M. tuberculosis* dans les prélèvements cliniques culture +

PCR+	98 %	97-99	99 %	98-99	7	2831

Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis Tortoli et al *Eur Respir J sous press2012,*

Sur 1474 prélèvements, gold standard culture +et clinique sensibilité globale de 81%
Mais variable en fonction de l'origine des prélèvements



Hillemann et al, 2011 ; Vadwai et al. 2011

Autres études

- Différents types d'études et différentes populations
 - Très bonne spécificité
 - Sensibilité
 - Echantillons pulmonaires : différence de sensibilité en fonction du résultat de l'examen microscopique
 - Echantillons extrapulmonaires : sensibilité variable en fonction localisation

Conclusions

Le test Xpert MTB/RIF (GeneXpert ®)

- est un test unitaire, sécurisé, automatisé, facile à utiliser, rapide et fiable
- Il permet de confirmer ou infirmer le diagnostic de tuberculose maladie avec une sensibilité variable en fonction de l'origine des prélèvements et de la charge bactérienne
 - conforter ou imposer l'isolement respiratoire
 - ajuster le traitement antituberculeux plus rapidement
- Malgré le cout élevé du test , il existe un intérêt médico-économique

Conclusions

- utilisation du test Xpert® MTB/RIF sur prélèvements $\mu+$ et $\mu-$ associés à une clinique très évocatrice (score clinique à définir)
- Toujours associer au diagnostic classique pour confirmation
- Un résultat négatif n'exclue pas une tuberculose

