

Nouveautés et perspectives thérapeutiques et diagnostiques



Dr Nicolas Veziris,
Laboratoire
de Bactériologie-Hygiène,
Pitié-Salpêtrière
Centre National de Référence
des Mycobactéries

Perspectives diagnostiques

La PCR

- Réaction de polymérisation en chaîne
- PCR mise au point en 1983 par Mullis
- L'amplification génique a pour but d'augmenter le nombre de copies d'un segment cible d'acide nucléique de manière à permettre sa détection
- Permet en théorie de détecter une molécule d'ADN
- Grand espoir pour le diagnostic de la tuberculose à partir des prélèvements

Intérêt amplification génique pour l'identification

- Bon examen si BAAR à l'examen microscopique
 - Si examen microscopique négatif
 - VPP faible si PCR réalisée systématiquement sur tout les prélèvements
 - Intérêt en cas de suspicion clinique de tuberculose
- ⇒ Pas de PCR pêche à la ligne

The NEW ENGLAND JOURNAL *of* MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

SEPTEMBER 9, 2010

VOL. 363 NO. 11

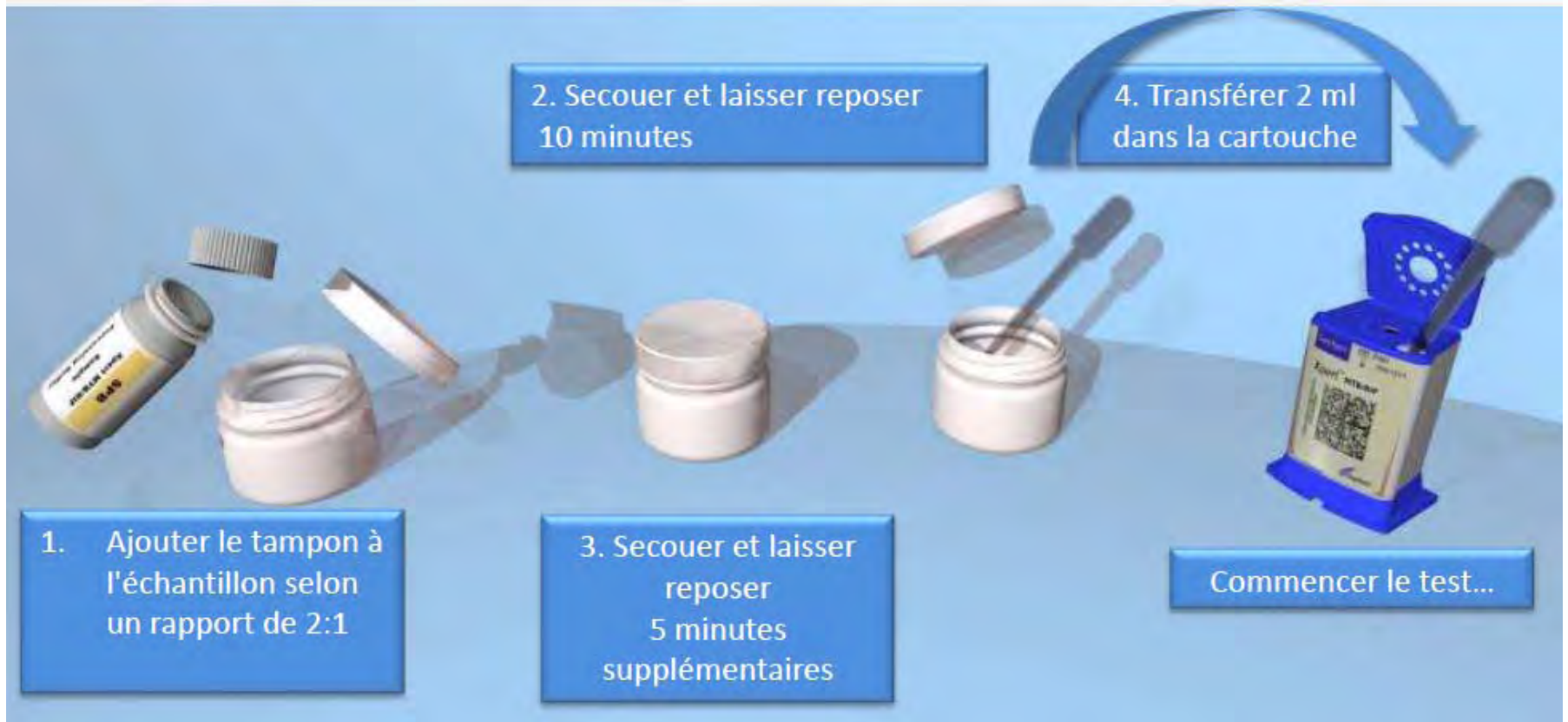
Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance

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.

Un test plus rapide et plus efficace pour diagnostiquer la tuberculose

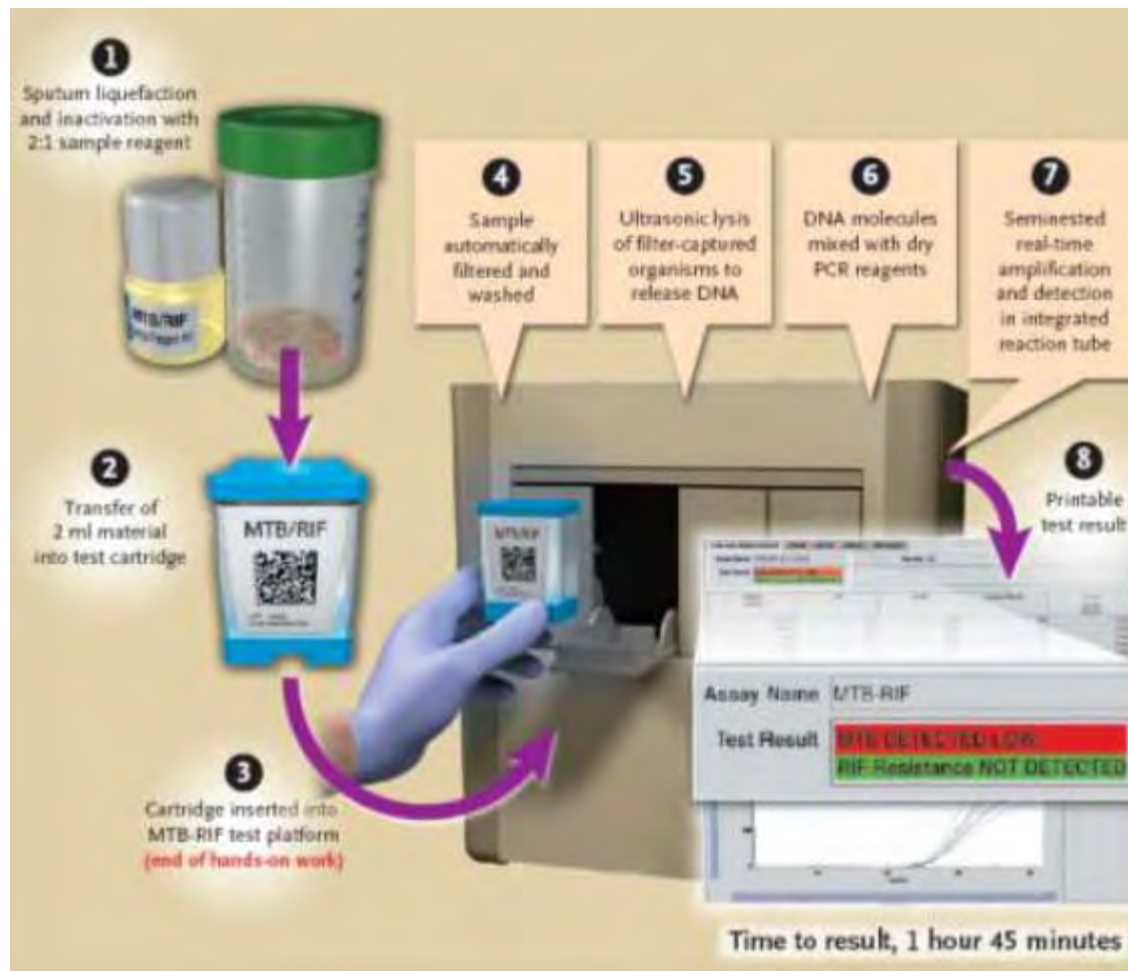
LEMONDE.FR avec AFP | 02.09.10 | 21h47

Méthodologie : Cepheid Xpert MTB/RIF



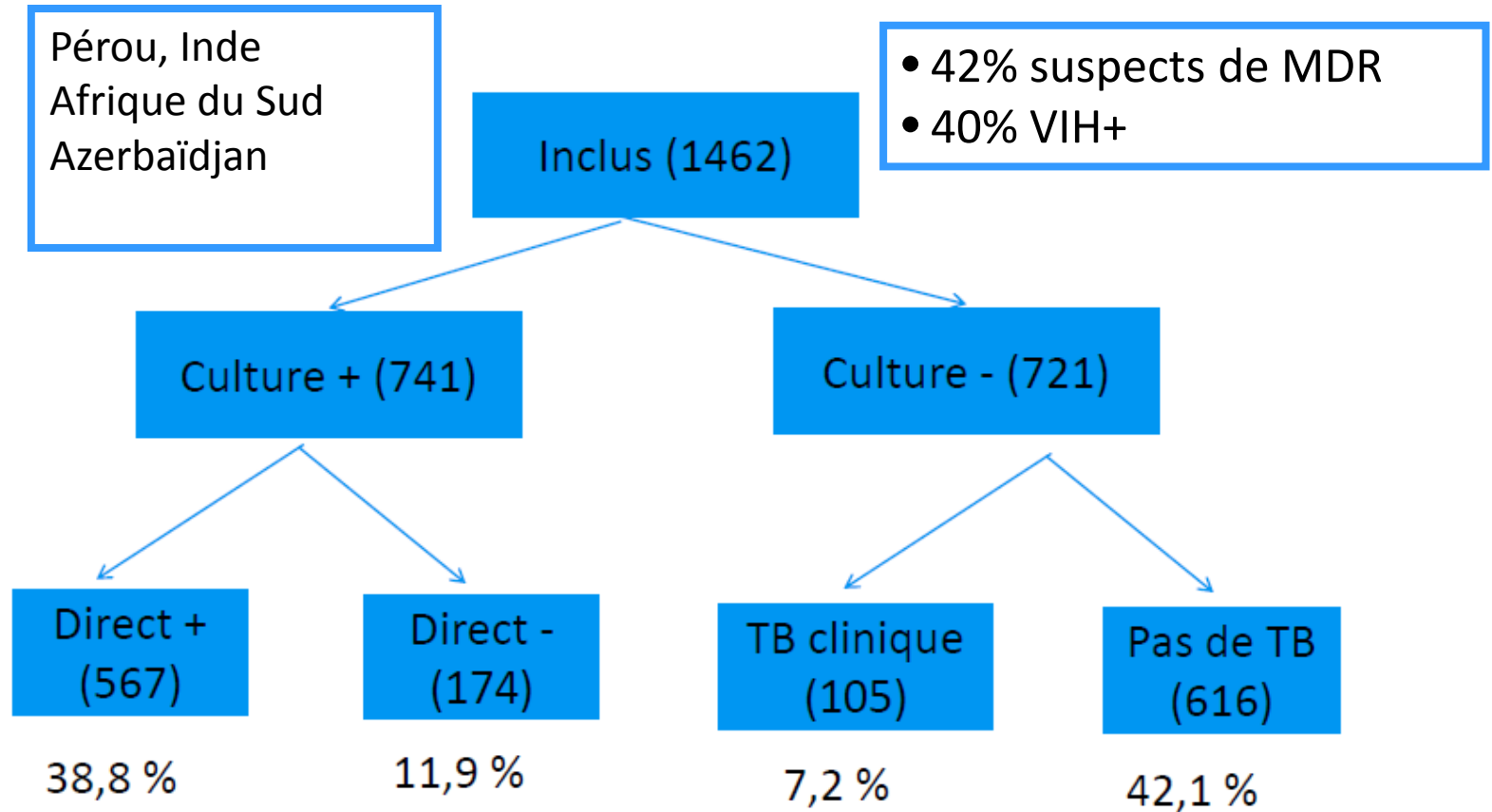
Inactivation : réduction charge bacillaire 6 à 8 log₁₀ UFC (Banada, JCM 2010)

Méthodologie : Cepheid Xpert MTB/RIF



Résultat en 2 heures !

Méthodologie : population étudiée



Résultats : détection de *M. tuberculosis* complex

	Sensibilité			Spécificité
	Toutes les cultures positives	Direct et culture positifs	Direct négatif et culture positive	
Total	<u>97,6 %</u>	<u>99,8 %</u>	<u>90,2 %</u>	<u>98,1 %</u>
Lima	99,1 %	100 %	83,3 %	100 %
Baku	96,6 %	100 %	92,8 %	97,1 %
Le Cap	95,9 %	99 %	90,4 %	98,4 %
Durban	95,6 %	100 %	86,7 %	97,3 %
Bombay	98,4 %	100 %	88,5 %	97,2 %

Excellent
sur les M+/C+

Très bon
sur les M-C/
pour 3 tests

Performances sur les M-/C+ selon le nombre de prélèvements testés

- Test MTB/RIF :

N prélèvements testés	Sensibilité	Spécificité
1	72,5%	99,2%
2	85,1%	98,6%
3	90,2%	98,1%

- Méta-analyse Palomino 2003
- Prélèvements respiratoires M-/C+
 - Sensibilité 72%
 - Spécificité 96%

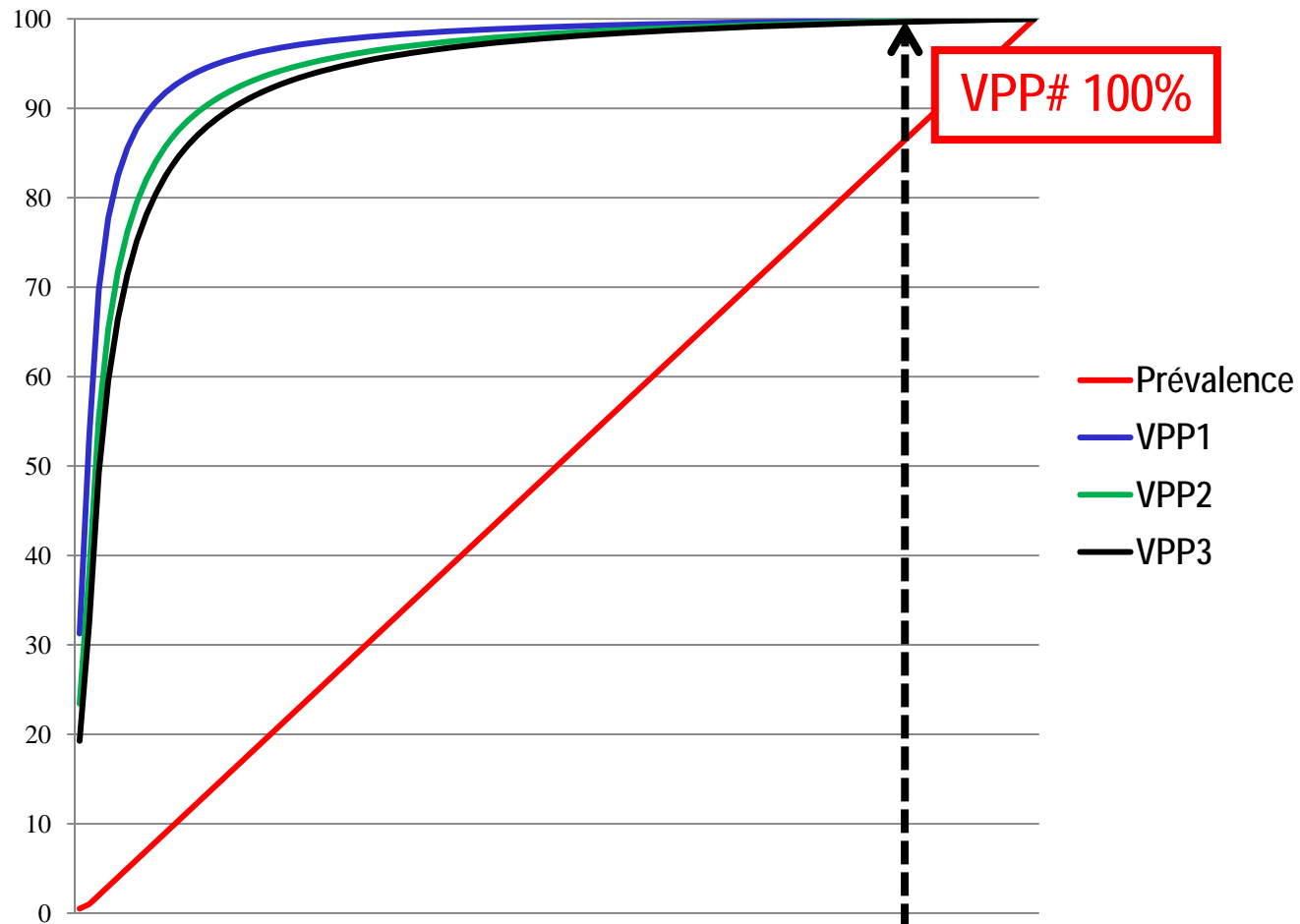
⇒ Gain en spécificité, sensibilité identique à valeurs de la littérature

Intérêt pour les pays en voie de développement

- Bonnes performances intrinsèques
- Grande simplicité d'utilisation
- Permet d'envisager la mise en place effective de la biologie moléculaire en dehors des centres de référence
- Permet d'envisager un diagnostic de la résistance à la rifampicine rapide chez les malades suspects de multirésistance
- Pour peu
 - Que quelqu'un paie le test
 - Qu'il y ait du courant électrique
 - Qu'il y ait quelqu'un pour réparer la machine quand elle est en panne

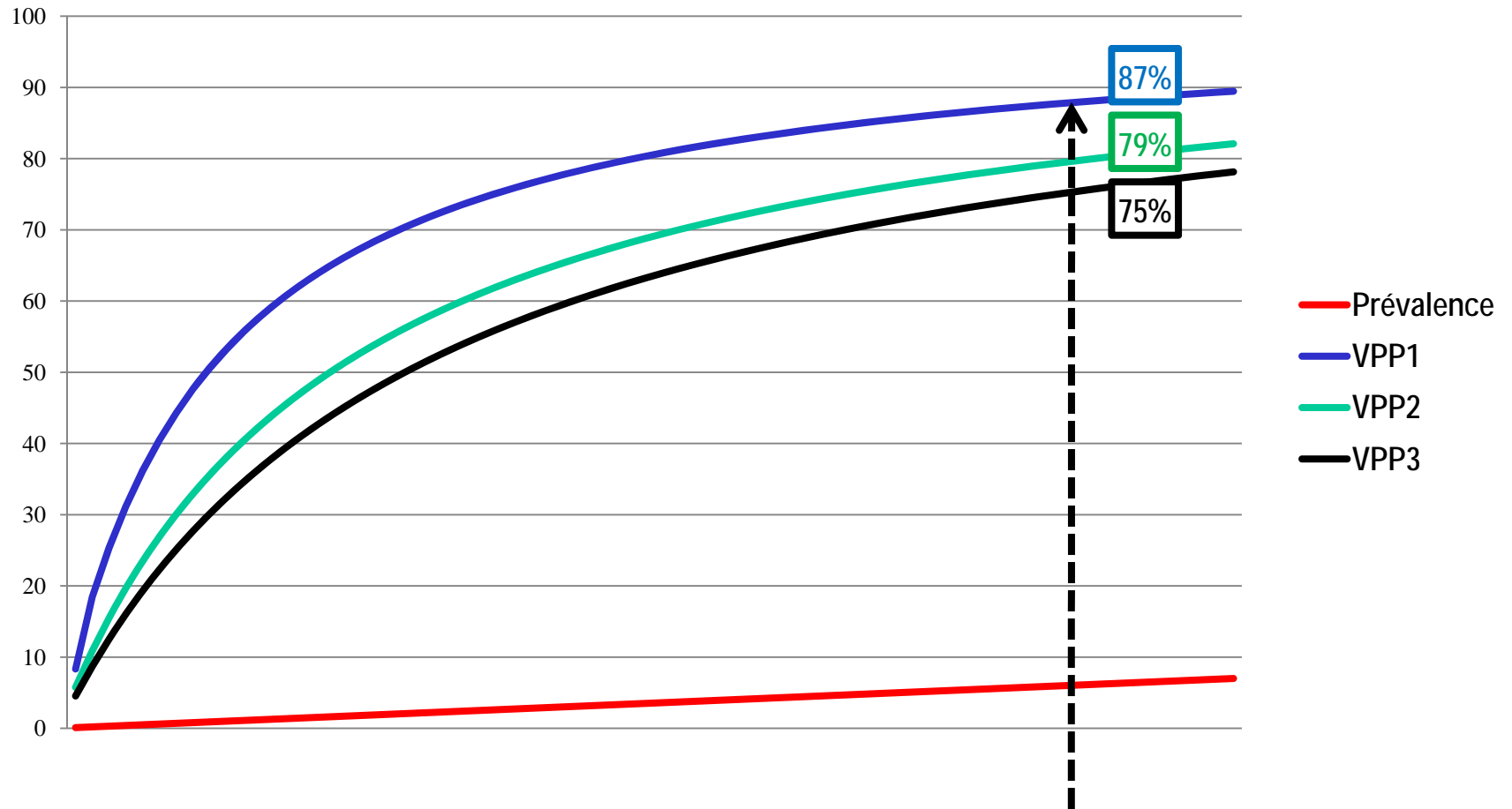
Performances attendues en France

Valeur prédictive positive selon le type de prélèvement (1)



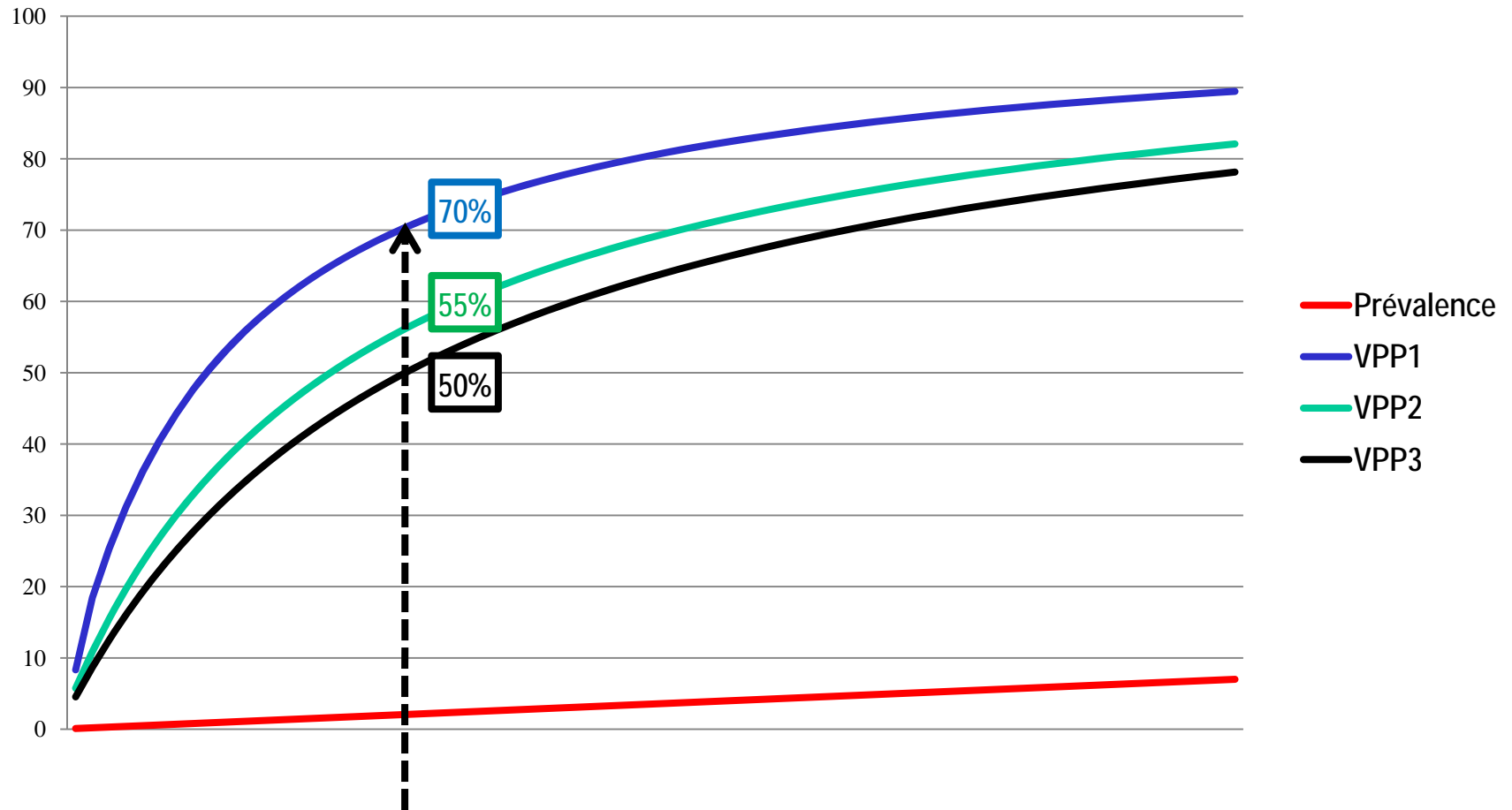
Expectoration Pneumologie/SMIT M+ = 86% C+

Valeur prédictive positive selon le type de prélèvement (2)



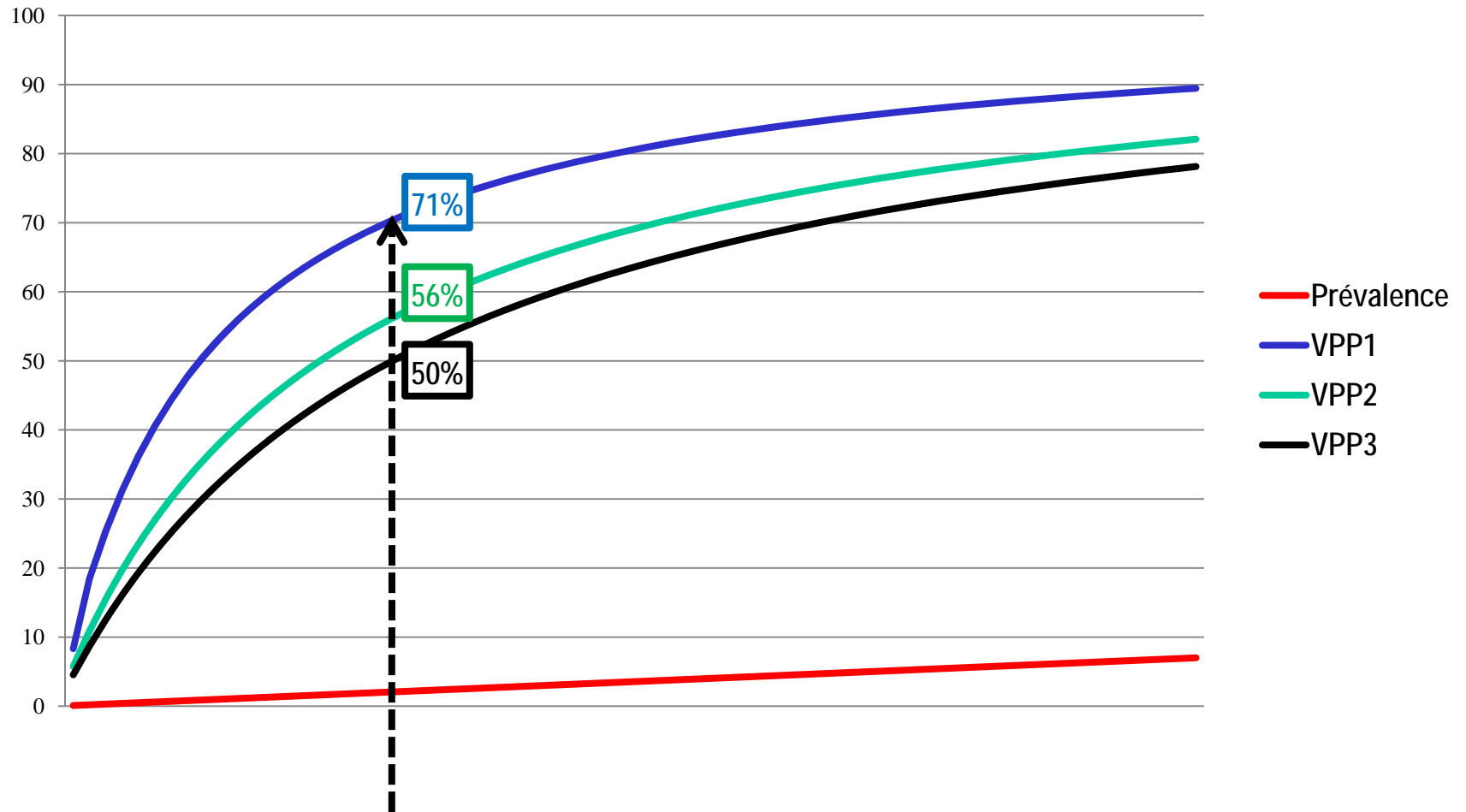
Expectoration Pneumologie/SMIT M- = 6% C+

Valeur prédictive positive selon le type de prélèvement (3)



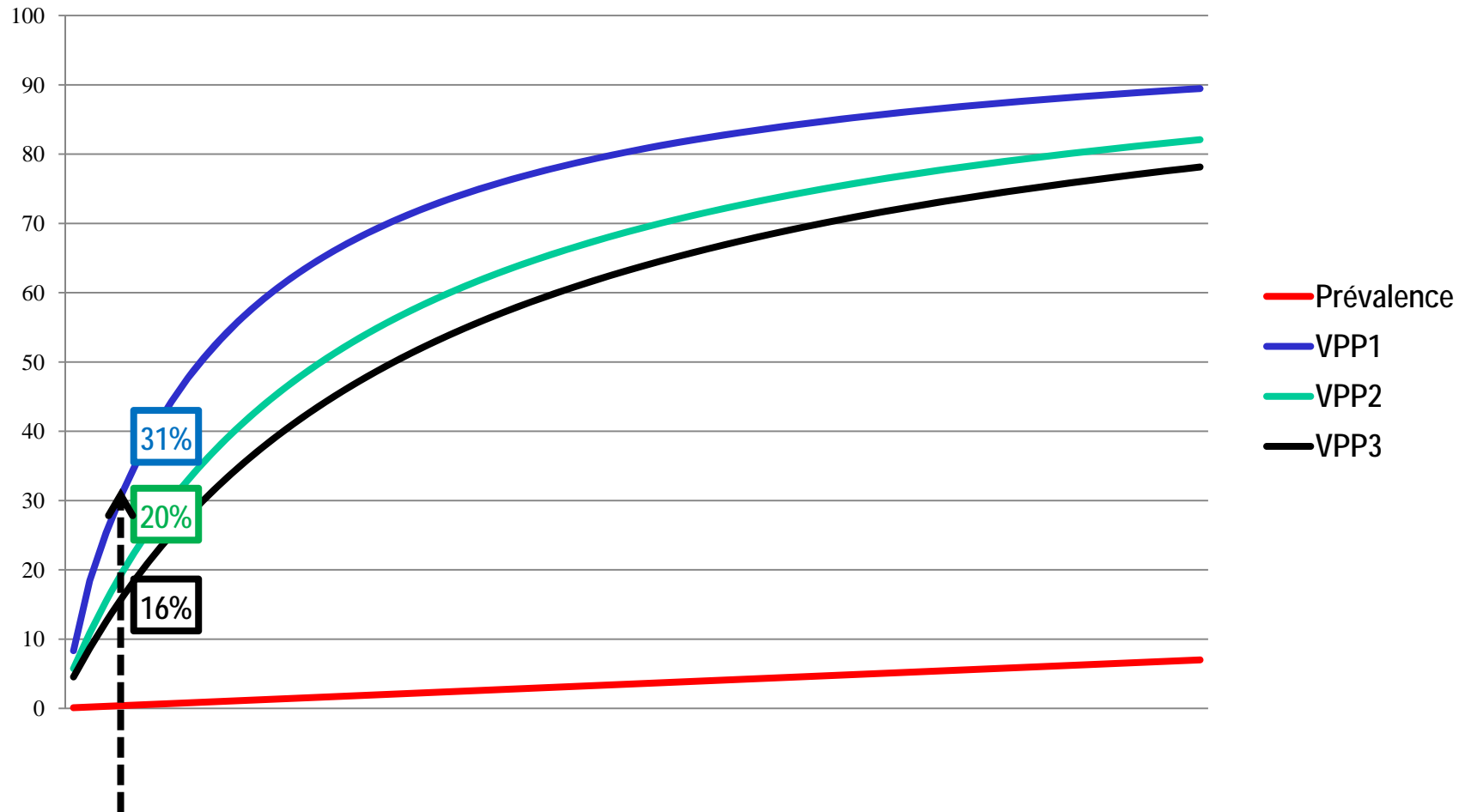
Expectoration Médecine Interne M- = 2% C+

Valeur prédictive positive selon le type de prélèvement (4)



Prélèvements Pneumologie/SMIT
extra-respiratoires ganglions exclus : M- = 2,1% C+

Valeur prédictive positive selon le type de prélèvement (5)



Prélèvements Médecine Interne

extra-respiratoires ganglions exclus : M- = 0,4% C+

Conclusion Cepheid Xpert MTB/RIF

- Révolutionnaire par sa simplicité
- Très prometteur pour les pays en voie de développement
- Intérêt d'une évaluation en France
 - ⇒ Projet STIC déposé

Perspectives thérapeutiques

Antituberculeux disponibles :

liste OMS

GROUPE	MÉDICAMENTS
Groupe 1 – Antituberculeux oraux de première intention	isoniazide (H); rifampicine (R); éthambutol (E); pyrazinamide (Z); rifabutine (Rfb) ^a
Groupe 2 – Antituberculeux injectables	kanamycine (Km); amikacine (Am); capréomycine (Cm); streptomycine (S)
Groupe 3 – Fluoroquinolones	moxifloxacine (Mfx); lévofloxacine (Lfx); ofloxacine (Ofx)
Groupe 4 – Antituberculeux bactériostatiques oraux de seconde intention	éthionamide (Eto); protionamide (Pto); cyclosérine (Cs); térizidone (Trd); acide <i>p</i> -aminosalicylique (PAS)
Groupe 5 – Antituberculeux dont l'efficacité n'est pas sûre (non recommandés par l'OMS pour un usage systématique chez les patients atteints de TB-MR)	clofazimine (Cfz); linézolide (Lzd); amoxicilline/clavulanate (Amx/Clv); thioacétazone (Thz); imipénème/cilastatine (Ipm/Cln); isoniazide à forte dose (H à forte dose); ^b clarithromycine (Clr)

Antituberculeux disponibles : XDR

GROUPE	MÉDICAMENTS
Groupe 1 – Antituberculeux oraux de première intention	isoniazide (H); rifampicine (R); éthambutol (E); pyrazinamide (Z); rifabutine (Rfb)^a
Groupe 2 – Antituberculeux injectables	kanamycine (Km), amikacine (Am), capréomycine (Cm); streptomycine (S)
Groupe 3 Fluoroquinolones	moxifloxacine (Mfx); lévofloxacine (Lfx); ofloxacine (Ofx)
Groupe 4 – Antituberculeux bactériostatiques oraux de seconde intention	éthionamide (Eto); protionamide (Pto); cyclosérine (Cs); térizidone (Trd); acide <i>p</i> -aminosalicylique (PAS)
Groupe 5 – Antituberculeux dont l'efficacité n'est pas sûre (non recommandés par l'OMS pour un usage systématique chez les patients atteints de TB-MR)	clofazimine (Cfz); linézolide (Lzd); amoxicilline/clavulanate (Amx/Clv); thioacétazone (Thz); imipénème/cilastatine (Ipm/Cln); isoniazide à forte dose (H à forte dose); ^b clarithromycine (Clr)

Beta-lactamines et *M. tuberculosis* : notions classiques

- Beta-lactamines classiquement considérées inactives sur *M.tuberculosis* du fait de :
 - Imperméabilité de la paroi riche en lipides
 - Inactivation par une beta-lactamase de large spectre

Beta-lactamines et *M. tuberculosis* : notions récentes

- Perméabilité équivalente à *P. aeruginosa* (Chambers, AAC 1995)
- Peptidoglycane de *M. tuberculosis* est synthétisé principalement par des L,D-transpeptidases inhibées par les carbapénèmes (Lavollay J Bacteriol 2008, Gupta Nat Med 2010)
- Les carbapénèmes sont de mauvais substrats pour la beta-lactamase BlaC de *M. tuberculosis* (Hugonnet, Biochemistry 2007)
- Beta-lactamase BlaC de *M. tuberculosis* inhibée par clavulanate (Hugonnet, Biochemistry 2007)
- In vitro l'adjonction de clavulanate permet de réduire les CMI de 10 à 0,6 pour imipénème et de 5 à 0,6 pour méropénème (Hugonnet, Science 2009)

⇒ Activité in vivo d'une combinaison Carbapénème + Clavulanate ?

Combinaison Carbapénème + Clavulanate : schéma expérimental dans le modèle murine

- Souris infectées par voie IV par *M. tuberculosis* H37Rv

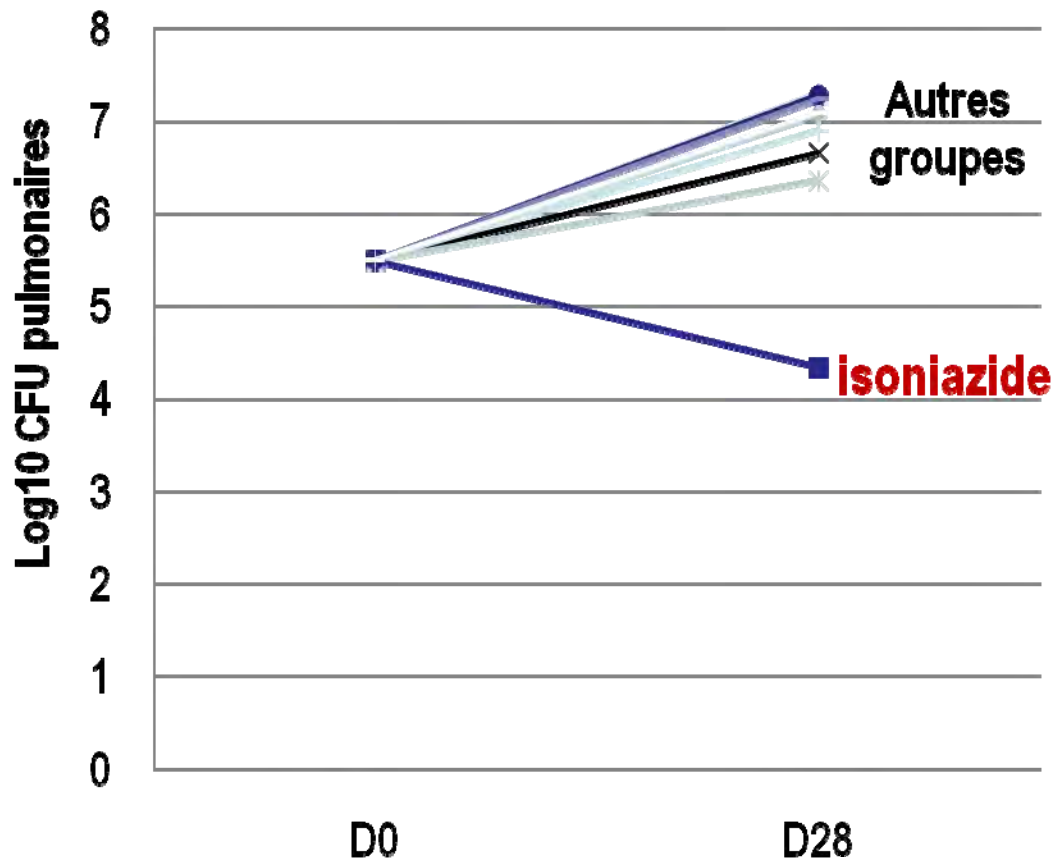
Traitement	J0	J28
témoins non traités	10	10
isoniazide 25 mg/kg		10
clavulanate 100 mg/kg		10
imipénème 100 mg/kg		10
<u>imipénème</u> 100 mg/kg+ clavulanate 100 mg/kg		10
méropénème 100 mg/kg		10
<u>méropénème</u> 100 mg/kg+ clavulanate 100 mg/kg		10
ertapénème 100 mg/kg		10
<u>ertapénème</u> 100 mg/kg+ clavulanate 100 mg/kg		10
Total	10	70

Combinaison Carbapénème + Clavulanate: Résultats (1) Survie

Antibiotique	% survivantes à 1 mois
Aucun	40
Isoniazide	100
Clavulanate	70
Imipénème	90
Imipénème + Clavulanate	100
Méropénème	70
Méropénème + Clavulanate	100
Ertapénème	70
Ertapénème + Clavulanate	90

Amélioration significative de la survie pour les combinaisons à base d'imipénème et méropénème : Quid des UFC ?

Combinaison Carbapénème + Clavulanate: Résultats (2) UFC pulmonaires



Les combinaisons Carbapénèmes + Clavulanate
n'ont pas d'effet bactéricide

Combinaison Carbapénème + Clavulanate: Discussion

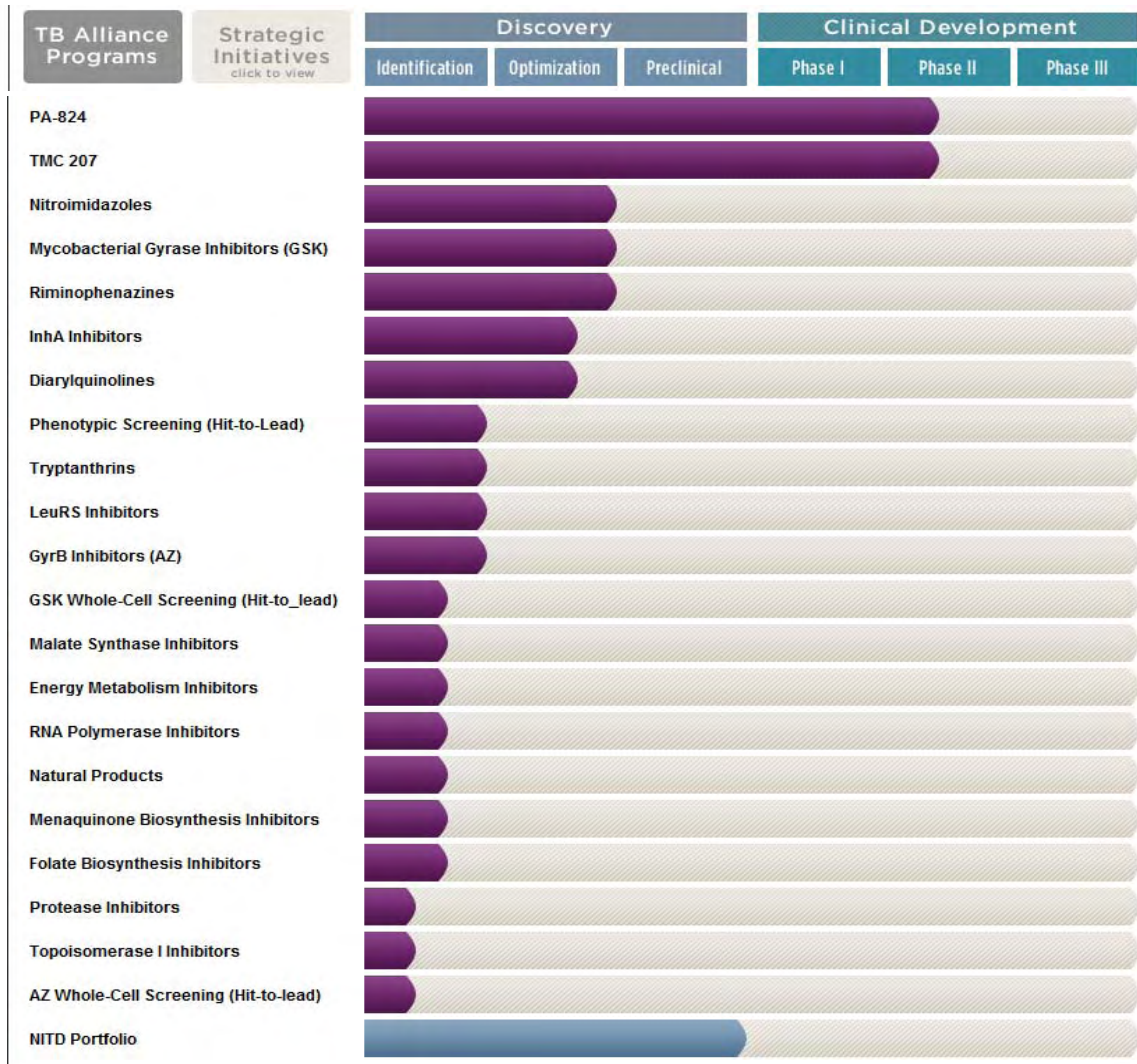
- Activité de l'imipénème seul équivalente à celle du méropénème
- Adjonction du Clavulanate :
 - Améliore la survie à 1 mois
 - N'est pas bactéricide et pas même bactériostatique
- **Mais** posologie de pénèmes choisie dans ce modèle génère des paramètres PK défavorables par rapport à l'homme
- Résultats peuvent donc être considérés comme pessimistes par rapport à ce que l'on peut espérer obtenir chez l'homme

Combinaison Carbapénème + Clavulanate: Perspectives chez l'homme

- Données chez l'homme
 - Payen, ICAAC 2010
 - 4 patients XDR traités avec combinaison d'antibiotiques dont méropénème + clavulanate
 - 3 s'améliorent
 - 1 décède : le seul ayant une souche résistante au linezolide
 - Dauby, Pediatr Inf Dis 2011
 - 1 patient amélioré par méropénème + clavulanate + linezolide
- Difficile de conclure sur données cliniques
- Néanmoins, compte tenu de ces données préliminaires, indication à l'utilisation de combinaisons Carbapénèmes + Clavulanate pour le traitement des TB XDR les plus compliquées

Antituberculeux en développement

Antituberculeux en développement : portfolio global alliance against TB



TMC 207

Diarylquinoline : TMC207

Inhibition de
l'ATP synthase

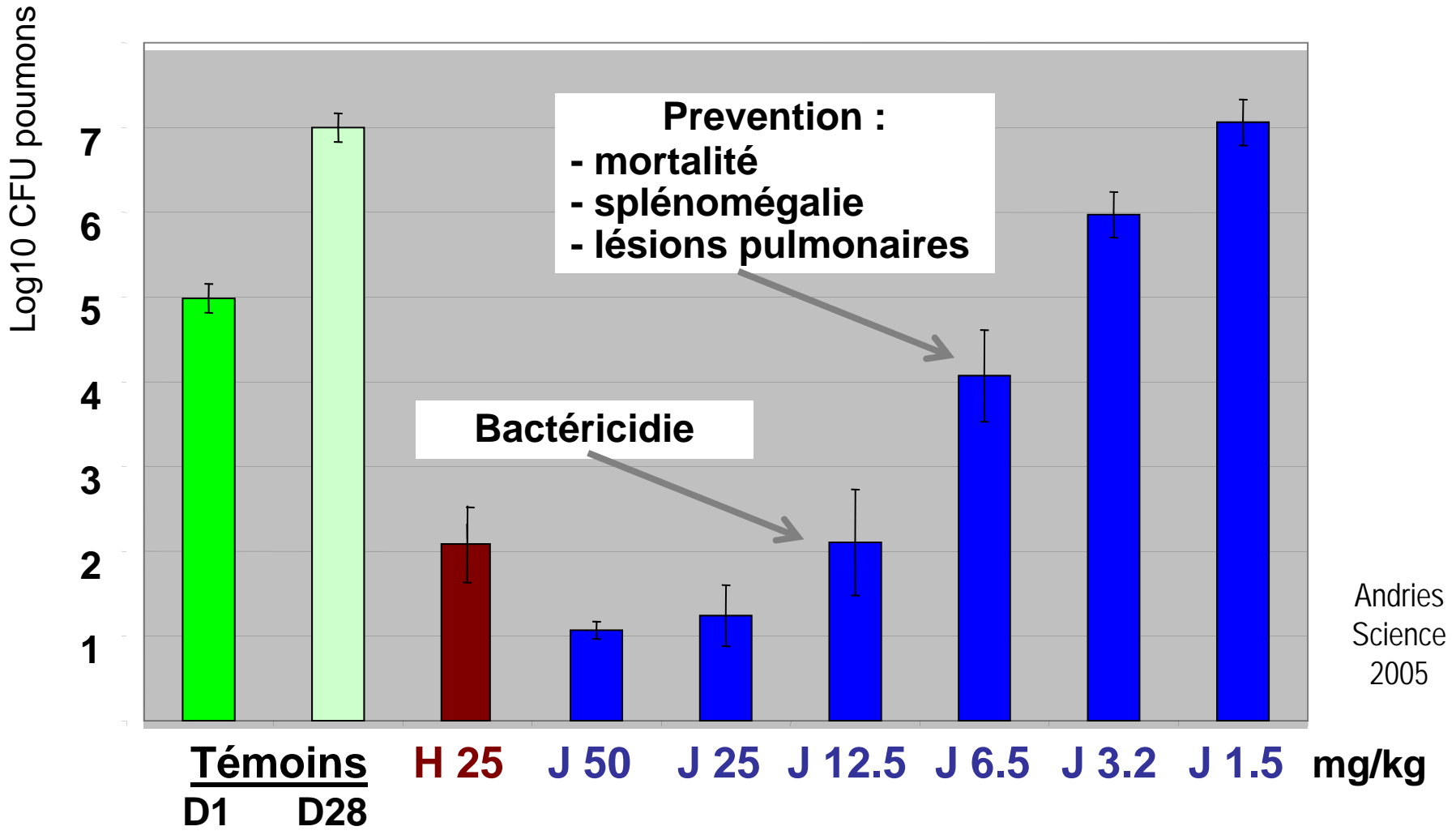
Sous-unité c
(*atpE*)



Andries et al.,
Science 2005

CMI = 0,06 mg/l

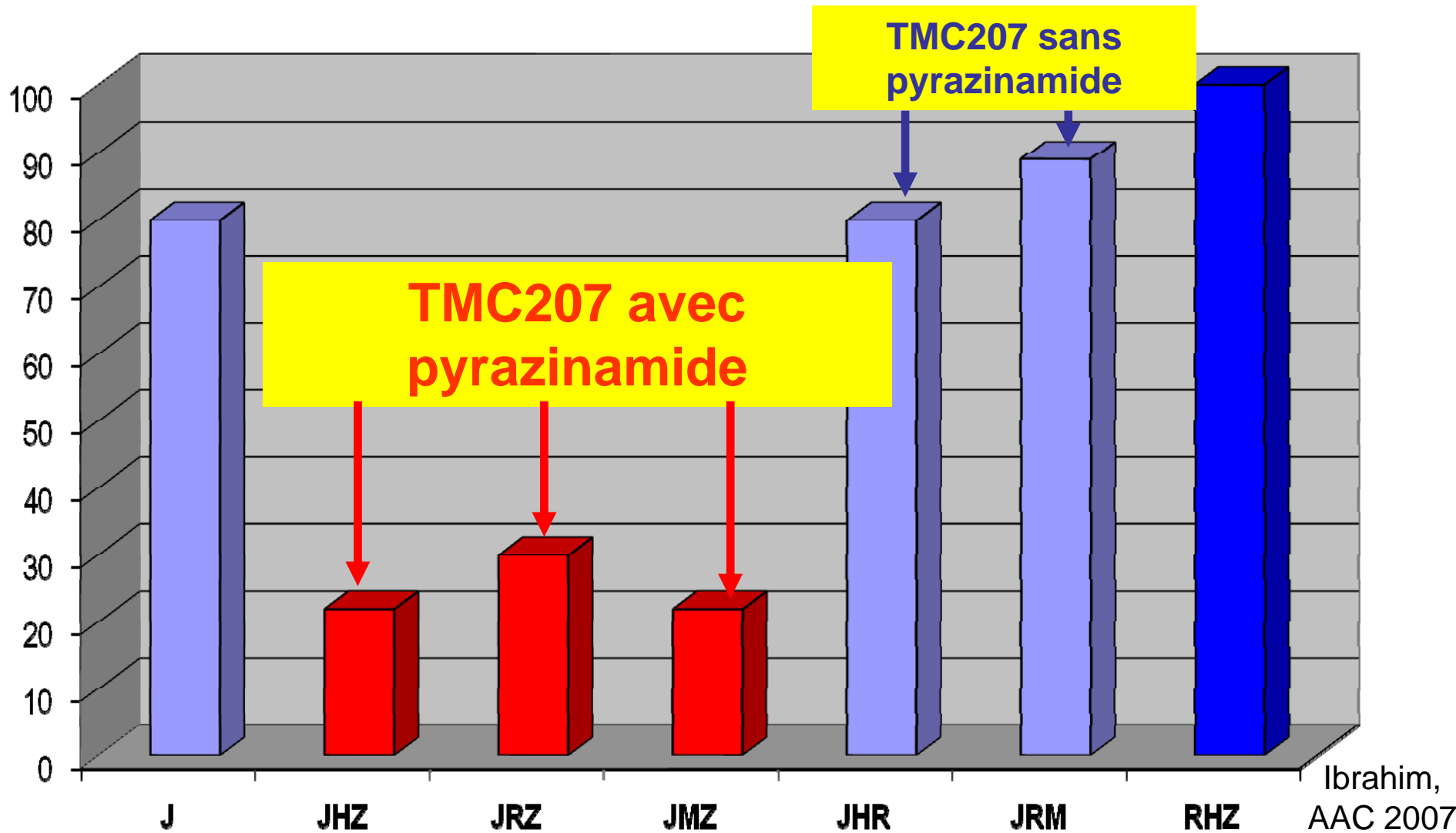
Activité du TMC207 dans le modèle murin de tuberculose : évaluation de la dose minimale efficace



Andries
Science
2005

⇒ Activité bactéricide du R207910 supérieure à celle de l'isoniazide

Synergie entre TMC207 et pyrazinamide



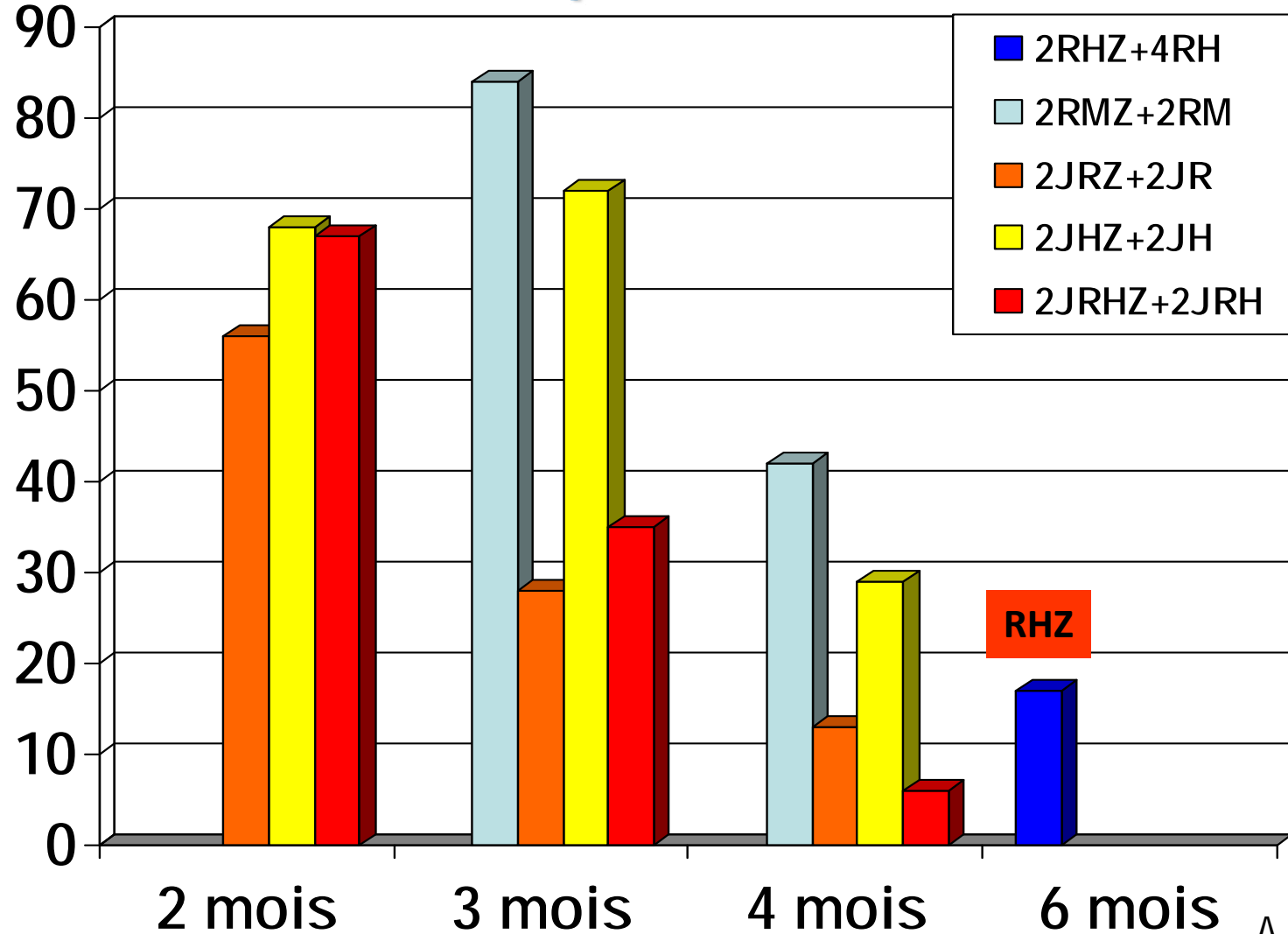
Ibrahim,
AAC 2007

⇒ Ces combinaisons peuvent-elles stériliser les organes ?

Raccourcissement durée du traitement avec TMC207:

rechutes 3 mois après l'arrêt du traitement

%
rechutes

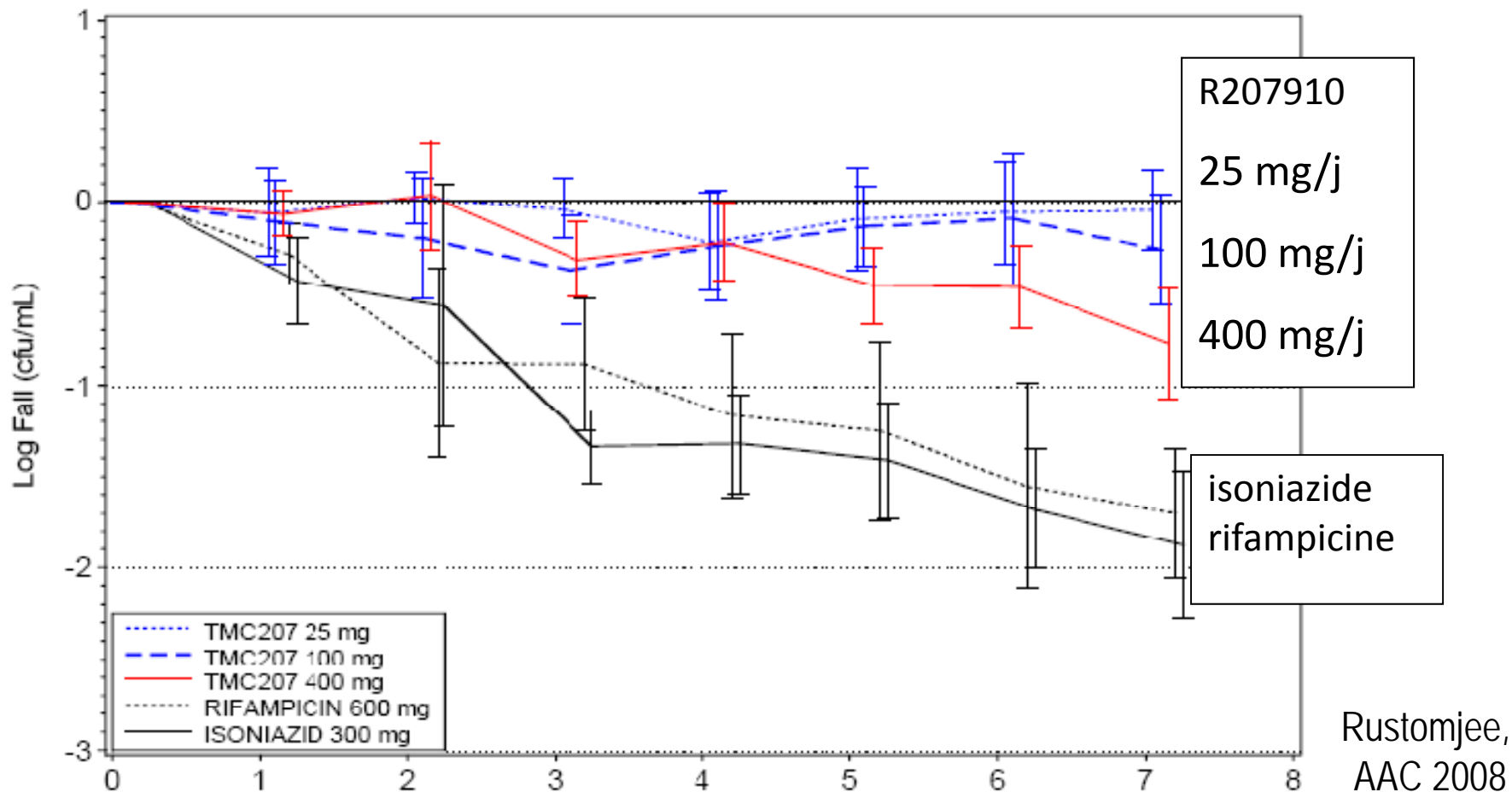


Ibrahim,
AJRCCM 2009

⇒ TMC207 permet de réduire de 6 à 4 mois la durée du traitement

TMC 207 chez l'homme

TMC207 chez l'homme : EBA

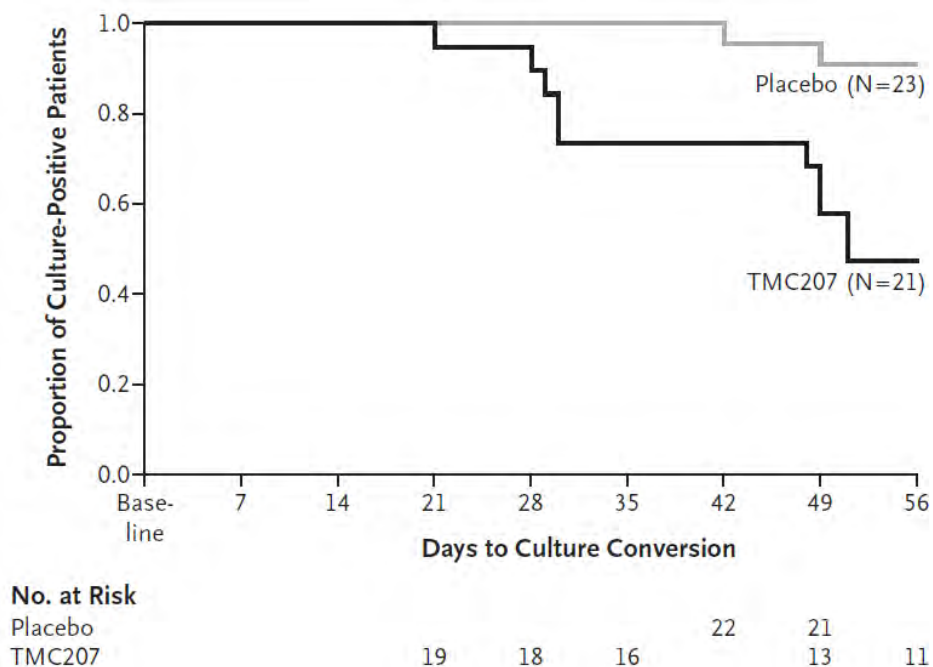


Rustomjee,
AAC 2008

Résultats décevants, mais problème de la longue demi-vie

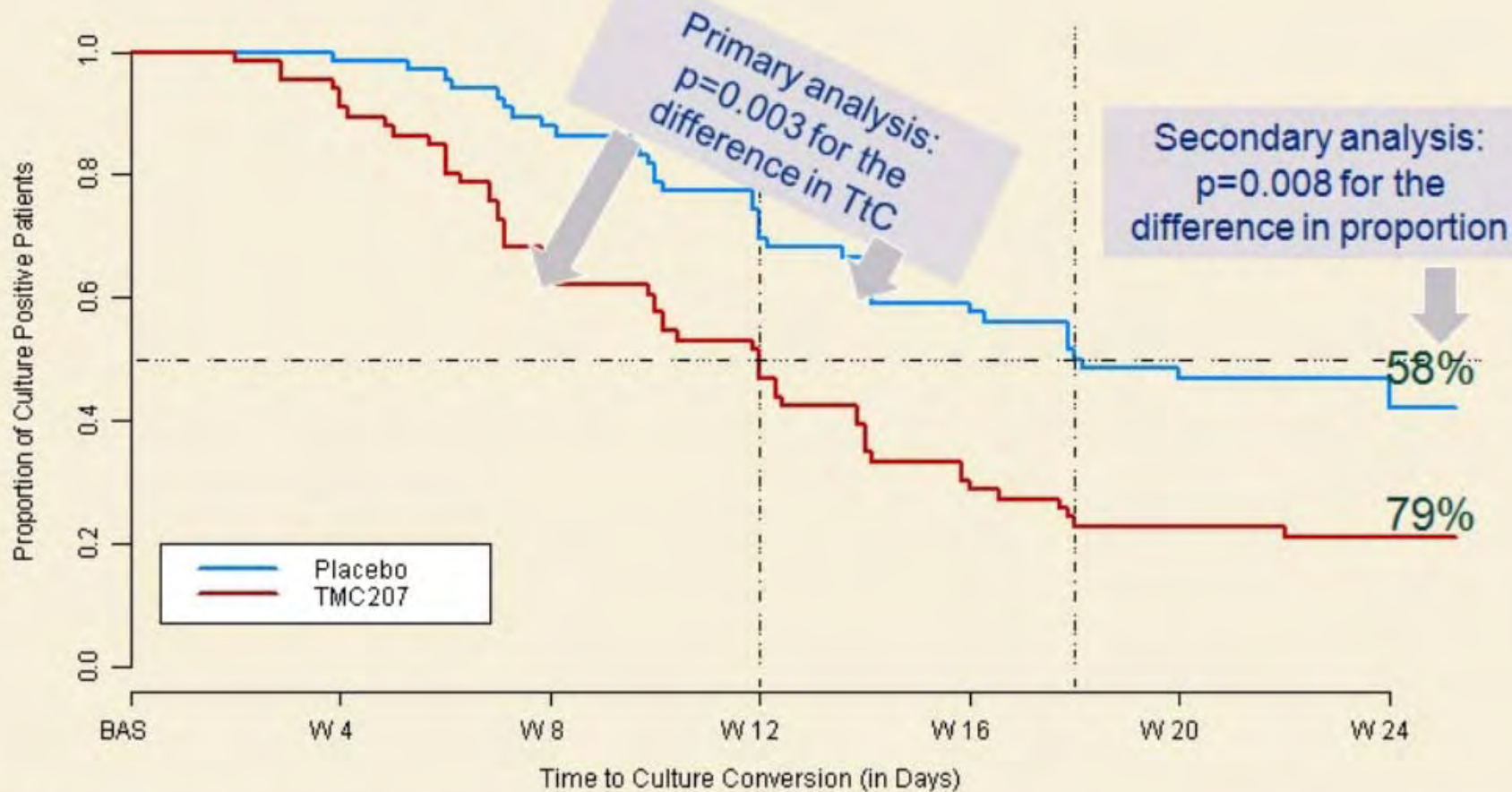
Essai TB MDR

- Afrique du Sud, 47 patients MDR (Diacon, NEJM 2009)
- Randomisation kanamycine + ofloxacine + ethionamide + terizidone + pyrazinamide + TMC207 ou placebo
- A 2 mois, négativation culture expectoration
 - 48% avec TMC207
 - 9% avec placebo
 - $p = 0,003$



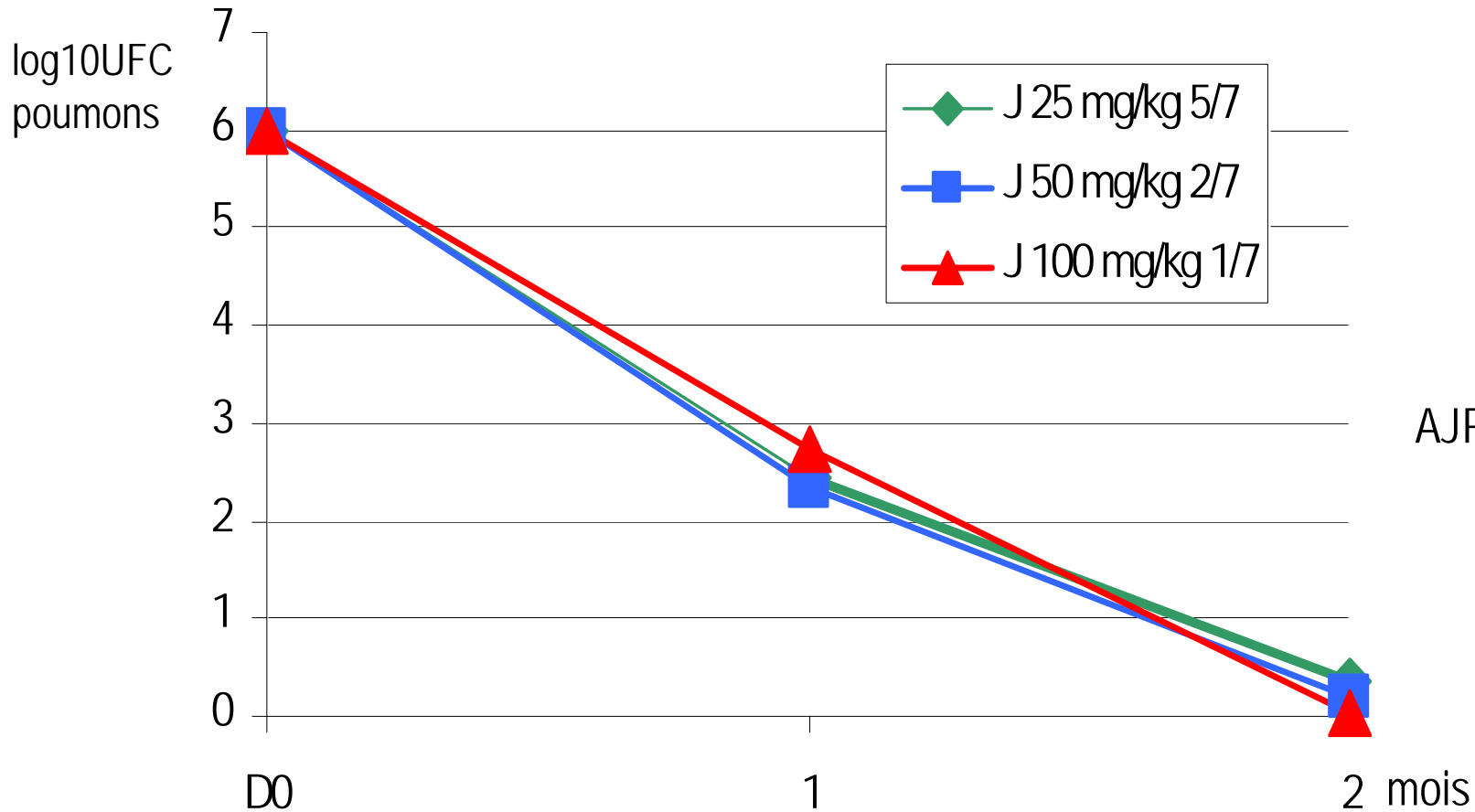
Activité antituberculeuse du TMC207 confirmée

Essai TB MDR : la suite



Time to 50% culture conversion: 12 weeks in the TMC207 group
Time to 50% culture conversion 18 weeks in the placebo group

TMC207 et traitement intermittent



Vezeris,
AJRCCM 2009

⇒ L'activité est la même quelle que soit la fréquence d'administration si la dose totale hebdomadaire est la même: perspective d'un traitement hebdomadaire

Conclusion Antituberculeux

- Nombreux antituberculeux en développement

et

- Activité antituberculeuse des molécules existantes encore à explorer, en particulier pour les souches les plus résistantes (XDR)

Conclusion Générale

- Beaucoup de développement
- Nouvelles techniques diagnostiques visant à la simplification et la diffusion dans les pays les plus pauvres
- Nouveaux antituberculeux, actifs sur les souches résistantes et permettant de simplifier le traitement des tuberculoses à bacilles sensibles