



Détection rapide du bacille tuberculeux et de sa résistance

Dr Nicolas Veziris

CNR des Mycobactéries, Bactériologie, Pitié-Salpêtrière, APHP

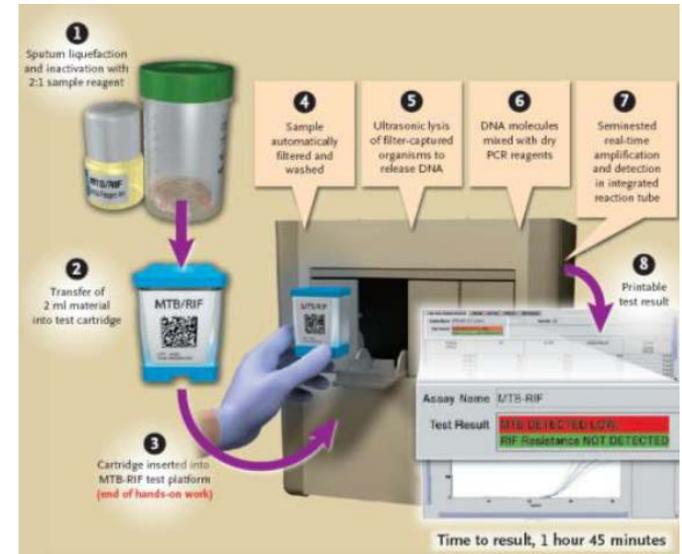
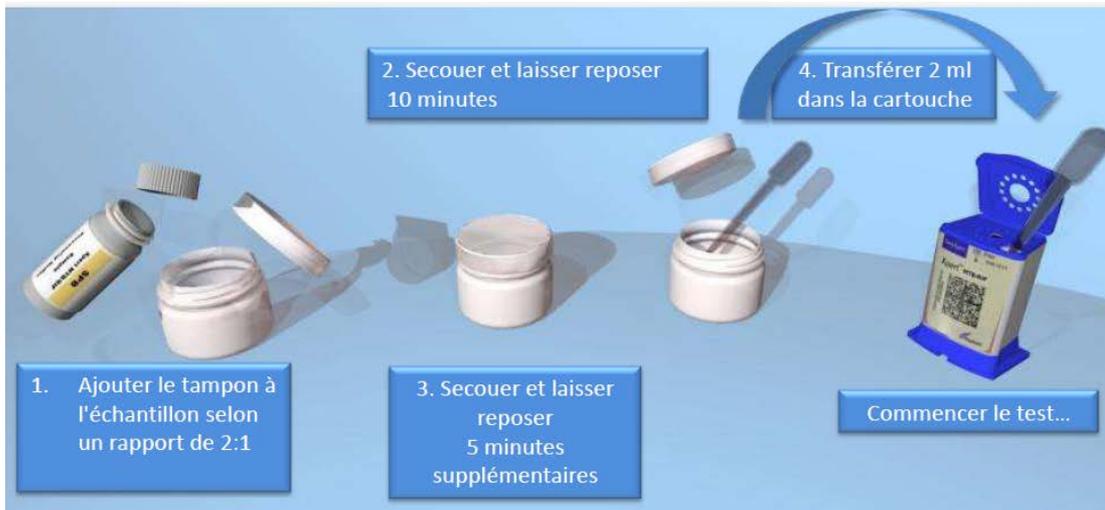
CiMi, INSERM, UPMC

Déclaration d'intérêts de 2012 à 2014

- Intérêts financiers : NON
- Liens durables ou permanents : NON
- Interventions ponctuelles : NON
- Intérêts indirects : NON

Diagnostic génotypique de la tuberculose

Cepheid Xpert MTB/RIF



Résultat en 2 heures !

Feasibility, accuracy, and clinical effect of point-of-care Xpert MTB/RIF testing for tuberculosis in primary-care settings in Africa: a multicentre, randomised, controlled trial

*Grant Theron, Lynn Zijenah, Duncan Chanda, Petra Clowes, Andrea Rachow, Maia Lesosky, Wilbert Bara, Stanley Mungofa, Madhukar Pai, Michael Hoelscher, David Dowdy, Alex Pym, Peter Mwaba, Peter Mason, Jonny Peter, Keertan Dheda, for the TB-NEAT team**

- Essai randomisé, patients suspects de tuberculose
- Afrique du Sud, Zimbabwe, Zambie, Tanzanie
- Diagnostic par microscopie (758 patients) ou Xpert MTB/RIF par infirmière (744 patients)
- Critère de jugement principal = morbidité liée à TB à 2 et 6 mois
 - mesurée par TB score ou indice de Karnofsky chez les patients mis sous traitement antituberculeux

Population

- 60% VIH+
- Culture +
 - Bras microscopie = 182/758 (24%)
 - Bras Xpert MTB/RIF 185/744 (25%)
- Rifampicine mono-R = 5%
- Isoniazide mono-R = 4%
- MDR = 2%

Résultats : sensibilité/spécificité

		Sensibilité	Spécificité
Microscopie		50%	97%
Xpert MTB/RIF	Infirmière	83%	95%
	Laboratoire*	83%	92%

*en fin d'étude

Xpert MTB/RIF vs microscopie

- plus sensible ($p=0,0001$)
- aussi spécifique ($p=0,25$)

Xpert MTB/RIF infirmière vs laboratoire

- plus spécifique ($p=0,0173$)

- ! Spécificité bien inférieure à celle de l'article initial du NEJM (97 à 100%)

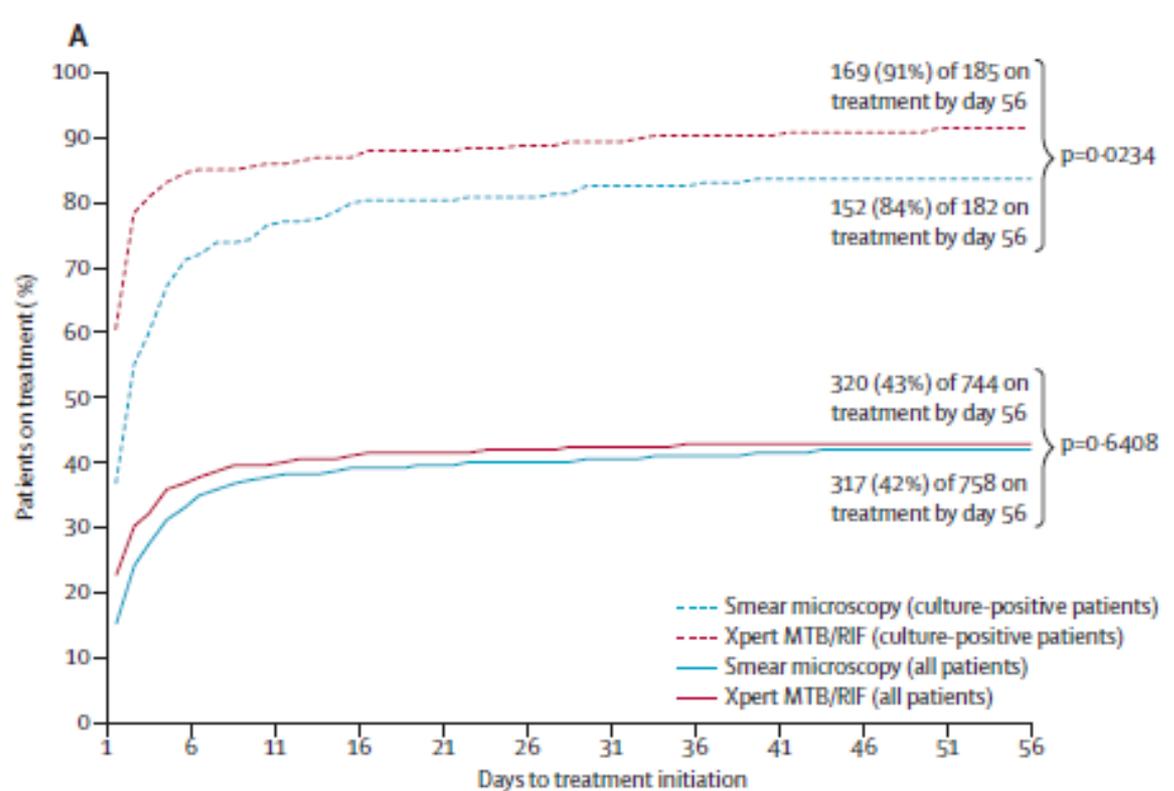
Résultats : Délai du diagnostic

	Smear microscopy (N=758)	Xpert MTB/RIF (N=744)	p value
All patients with a positive result (by any means)*			
By day 1	99/758 (13%)	178/744 (24%)	<0.0001
By day 2	107/758 (14%)	183/744 (25%)	<0.0001
By day 3	109/758 (14%)	185/744 (25%)	<0.0001
By day 14	165/758 (22%)	196/744 (26%)	0.0380
By day 28	199/758 (26%)	212/744 (29%)	0.33
By day 56	204/758 (27%)	215/744 (29%)	0.39
Culture-positive patients with a positive result (by any means)*			
By day 1	79/182 (43%)	150/185 (81%)	<0.0001
By day 2	86/182 (47%)	153/185 (83%)	<0.0001
By day 3	87/182 (48%)	153/185 (83%)	<0.0001
By day 14	142/182 (78%)	166/185 (90%)	0.0023
By day 28	176/182 (97%)	182/185 (98%)	0.30
By day 56	181/182 (99%)	185/185 (100%)	0.31
Days to first positive result	0 (0-6)	0 (0-0)	0.0055
Days to culture result	10 (6-14)	9 (6-15)	0.86
Data are n/N (%) or median (IQR). *Positive results could be from smear microscopy or culture in the smear microscopy group, or by Xpert MTB/RIF or culture in the Xpert MTB/RIF group.			
Table 4: Patients with a positive smear microscopy, Xpert MTB/RIF, or culture result, and days to result, per allocation group			

Xpert MTB/RIF vs microscopie

- Diagnostic plus précoce
- Plus de différence à 2 mois

Résultats : Délai du traitement



Xpert MTB/RIF vs microscopie

- Initiation traitement plus précoce
- Petite différence à 2 mois en faveur de Xpert

Impact sur morbidité

	TBscore			Karnofsky performance score		
	Smear microscopy (N=758)	Xpert MTB/RIF (N=744)	p value	Smear microscopy (N=758)	Xpert MTB/RIF (N=744)	p value
Baseline						
Score in patients given treatment	5 (4-7)	5 (4-7)	0.12	70 (50-80)	70 (50-80)	0.62
Culture-positive (153 patients in smear microscopy group and 168 in Xpert MTB/RIF group with complete morbidity data)	5 (4-7)	5 (4-7)	0.56	70 (60-80)	70 (57.5-90)	0.89
Culture-negative or contaminated (170 patients in smear microscopy group and 151 in Xpert MTB/RIF group with complete morbidity data)	5 (4-6)	5 (4-7)	0.08	60 (50-80)	70 (50-80)	0.59
2 months						
Score in patients given treatment	1 (0-3)	2 (0-3)	0.39	90 (80-90)	90 (80-90)	0.91
Culture-positive*	2 (0-3)	2 (0.25-3)	0.85	80 (70-90)	90 (80-90)	0.23
Culture-negative†	1 (0-7)	1 (0-3)	0.37	80 (70-90)	90 (80-90)	0.23
Per-patient change in score since recruitment in patients given treatment	3 (2-4)	4 (2-5)	0.17	20 (10-30)	10 (10-30)	0.87
Culture-positive	3 (2-4)	3 (2-5)	0.20	10 (0-22.5)	10 (10-30)	0.59
Culture-negative or contaminated	3 (2-4)	4 (2.5-5)	0.28	20 (10-30)	20 (10-30)	0.96
Patients with a >25% decrease (for TBscore) or increase (for KPS) in score from baseline	150/183 (82%)	168/197 (85%)	0.38	83/183 (45%)	93/197 (47%)	0.72
Culture-positive	66/87 (76%)	89/108 (82%)	0.26	32/87 (37%)	46/108 (43%)	0.41
Culture-negative or contaminated	84/96 (88%)	79/88 (90%)	0.63	51/96 (53%)	47/88 (53%)	0.97
6 months						
Score in patients given treatment	1 (0-3)	0 (0-3)	0.20	100 (90-100)	100 (90-100)	0.81
Culture-positive‡	1 (0-3)	1 (0-3)	0.35	100 (90-100)	100 (90-100)	0.85
Culture-negative§	0 (0-2)	0 (0-3)	0.80	100 (90-100)	100 (90-100)	0.87
Per-patient change in score since recruitment in patients given treatment	4 (3-5)	4 (2-5)	0.16	30 (10-40)	30 (10-40)	0.92
Culture-positive	4 (3-5)	4 (2.25-5)	0.35	20 (10-40)	30 (10-40)	0.44
Culture-negative or contaminated	4 (3-5)	4 (3-5-5)	0.38	30 (20-40)	40 (17.5-50)	0.53
Patients with a >25% decrease (for TBscore) or increase (for KPS) in score from baseline	146/167 (87%)	148/168 (88%)	0.85	76/167 (56%)	82/168 (59%)	0.55
Culture-positive	70/81 (86%)	85/97 (88%)	0.81	32/81 (39%)	42/97 (43%)	0.61
Culture-negative or contaminated	76/86 (88%)	62/71 (87%)	0.84	44/86 (51%)	40/71 (56%)	0.52

Aucune différence entre les 2 groupes

Xpert MTB/RIF et méningite tuberculeuse

- Patel, PLOS Med 2013
- Afrique du Sud, 235 patients suspects de méningite tuberculeuse
- 59 méningites certaines (=culture ou Amplicor +), tous VIH+
- LCR non centrifugé (>1 ml) ou centrifugé (3 ml)

	Se	Sp
Xpert non centrifugé	51%	94%
Xpert centrifugé	82%	95%

Intérêt de la centrifugation (3 ml!), spécificité reste limitée

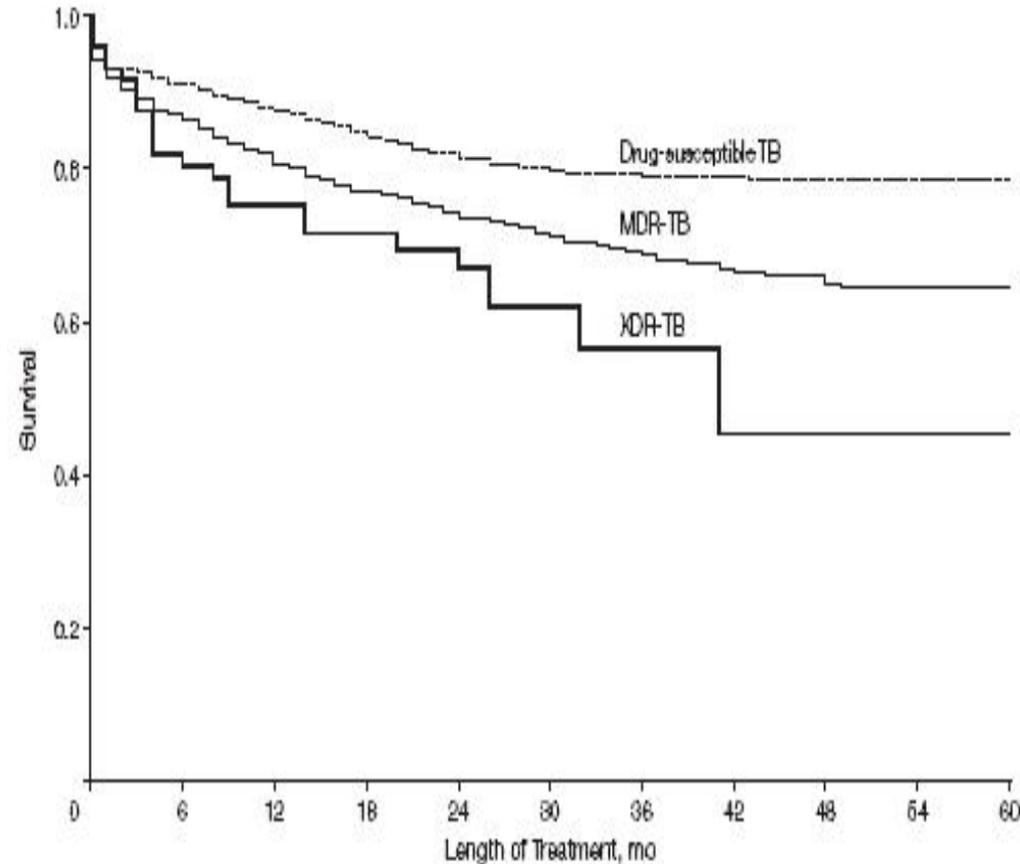
Diagnostic génotypique de la tuberculose :

conclusion études de terrain

- En cas de forte prévalence de la TB
 - Xpert MTB/RIF permet une mise au traitement plus précoce sans impact sur morbidité à 2 et 6 mois
- Compte-tenu de la spécificité (92-95%) et de la faible prévalence de la tuberculose en France
 - Il faut continuer à réserver ces tests aux patients fortement suspects de tuberculose
- Centrifugation intéressante pour LCR (>3 ml)

Diagnostic génotypique de la résistance aux antituberculeux

Définitions et enjeux



Tuberculose à bacilles sensibles

TB à bacilles multi-résistants (TB MDR)

= résistance rifampicine et isoniazide

TB à bacilles ultra-résistants (TB XDR)

= TB MDR + résistance aminosides et fluoroquinolones

Shah JAMA, 2008

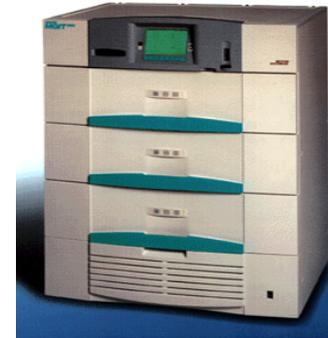
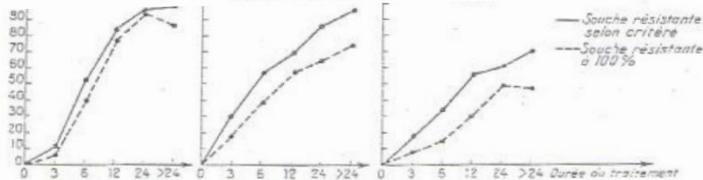
Diagnostic phénotypique des résistances

Revue de Tuberculose et de Pneumologie. T. 27, 1963, n° 2-3 (pp. 217-272).

MESURE DE LA SENSIBILITÉ DU BACILLE TUBERCULEUX
AUX DROGUES ANTIBACILLAIRES
PAR LA MÉTHODE DES PROPORTIONS.
MÉTHODOLOGIE, CRITÈRES DE RÉSISTANCE,
RÉSULTATS, INTERPRÉTATION

par

G. CANETTI, N. RIST et J. GROSSET
(Institut Pasteur, Paris).



Délai de rendu de

Milieux	Culture	Antibiogramme
---------	---------	---------------

Solides	14 - 42 jours	30 - 60 jours
---------	---------------	---------------

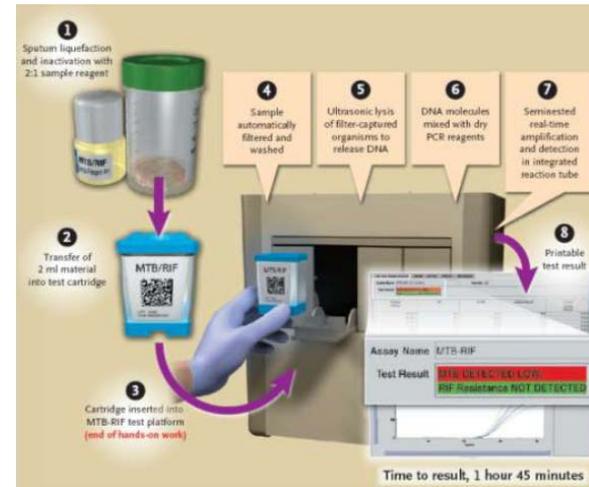
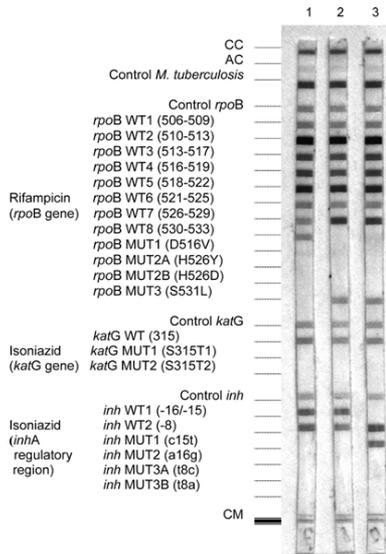
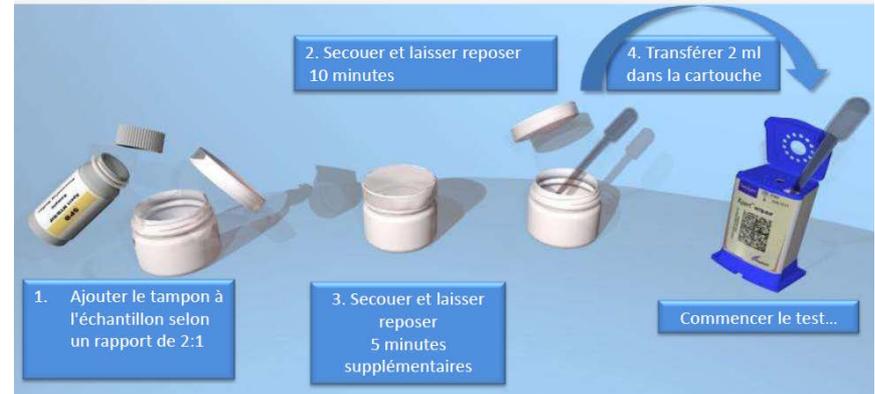
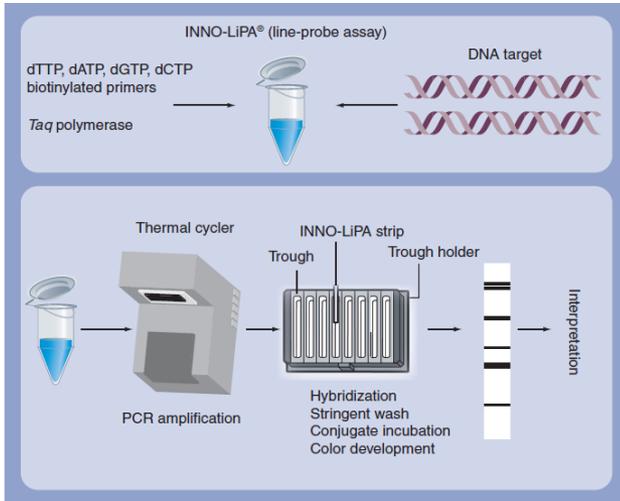
Liquides	5 - 28 jours	15 - 45 jours
----------	--------------	---------------

Lenteur des tests phénotypiques \Rightarrow Intérêt des tests génotypiques

Diagnostic génotypique

- Mise en évidence de mutations sur les gènes qui confèrent la résistance à l'antibiotique
 - Amplification du gène et étude des mutations sur les amplifiats
- Permettent d'accélérer le diagnostic des résistances mais
 - Dépendent de la connaissance des mécanismes de résistance et de l'impact des mutations sur le phénotype de résistance
- Plusieurs tests :
 - INNOLIPA RifTB
 - MTBDR*plus*
 - Xpert MTB/RIF
 - MTBDR*sl*

Technologies MTBDR, Xpert MTB/RIF



Gènes étudiés

		Gène étudié
Rifampicine	MTBDRplus	<i>rpoB</i>
	Xpert MTB/RIF	
Isoniazide	MTBDRplus	<i>katG</i> 315, région régulatrice <i>inhA</i>
Fluoroquinolones	MTBDRsl	<i>gyrA</i>
Amikacine		
Kanamycine		<i>rrs</i>
Capréomycine		
Ethambutol		<i>embB</i> 306

Performances : méta-analyses

		sensibilité	spécificité
Rifampicine	MTBDRplus	98%	99%
	Xpert MTB/RIF	94%	98%
Isoniazide	MTBDRplus	84%	99%
Fluoroquinolones	MTBDRsl	87%	97%
Amikacine		83%	99%
Kanamycine		44%	99%
Capréomycine		82%	97%
Ethambutol		68%	80%

Steingart 2013
Feng 2013
Ling 2008

Performances

- excellentes pour rifampicine
- bonnes pour fluoroquinolones, amikacine, capréomycine
- médiocres pour kanamycine et éthambutol

Un exemple récent

	Phénotype	Génotype
Isoniazide	R	<i>katG</i> S315T
Rifampicine	R	<i>rpoB</i> S531L
Ethambutol	R	<i>embB</i> M306V
Pyrazinamide	R	<i>pncA</i> L116R
Streptomycine	R	
Amikacine	R	
Kanamycine	R	<i>rrs</i> A1401G
Capréomycine	R	
Ofloxacine	R	<i>gyrA</i> A90V
Ethionamide	R	<i>ethA</i> G385D
PAS	S	
Cyclosérine	S	
Linezolide	S	

Le diagnostic génotypique permet d'accélérer la mise en route du traitement

Les limites du génotype

Un test *rpoB* « muté » est-il toujours synonyme de résistance?

En admettant une sensibilité de 100% pour la détection de la résistance à la rifampicine et une spécificité de 98%, quel est la valeur prédictive positive d'un test moléculaire « *rpoB* »?

		France Antécédents de traitement	Pas d'antécédents de traitement
Prévalence de la résistance	30%	9%	2%
N souches-R pour 1000 patients	300	90	20
N faux positifs pour 1000 tests (pour une Sp=98%)	20	20	20
VPP	94%	82%	50%

Les performances dépendent de la prévalence de la résistance



Diagnostic génotypique et niveaux de résistance

Mutation in ^a :		MIC (μg/ml) ^b			
<i>gyrA</i>	<i>gyrB</i>	GAT	MOX	LVX	OFX
No mutation	No mutation	0.25	0.5	0.5	1
No mutation	No mutation	0.25	0.25	0.25	0.25
No mutation	No mutation				
A90V	No mutation	1	2	4	8
D94G	No mutation	1-4	1-8	2-8	16-16
D94H	No mutation	2-4	2	8	16
A90V + D94G	No mutation	ND	ND	ND	>160
A90V	D472H	ND	ND	ND	>160
No mutation	N510D	≥1	2	2	4
T80A + A90G	No mutation	0.12	<0.12	0.5	0.5
T80A + A90G	No mutation	0.25	0.25	1	1
T80A + A90G	No mutation	0.5	0.25	0.5	0.5
T80A + A90G	No mutation	0.12	0.12	0.25	0.25
T80A	No mutation	0.5	1	4	>4
T80A	No mutation	0.5	1	2	2

Différents niveaux de résistance

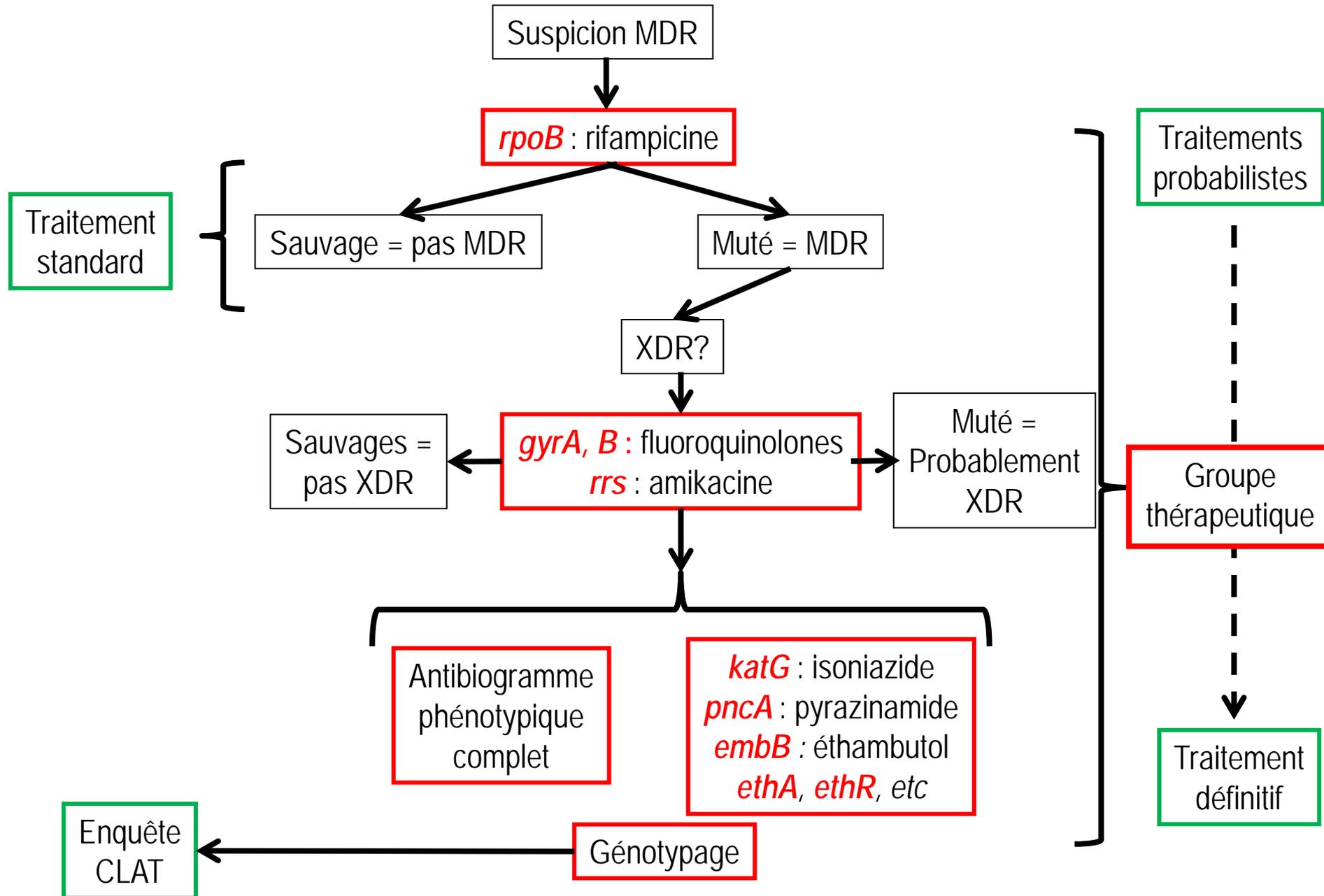
Certaines mutations ne confèrent pas la résistance

Aubry AAC 2006

⇒ mutation ≠ résistance

⇒ niveaux de résistance différent selon les mutations

Intégration des interventions du CNR dans la gestion d'un cas MDR / XDR



Conclusion résistances

- Les techniques génotypiques accélèrent le diagnostic des résistances
et
 - Éclairent la complexité de la résistance :
 - Nouveaux mécanismes de résistance
 - Mutations ne conférant pas la résistance
 - Bas et hauts niveaux de résistance
 - Il reste à faire un gros travail de cartographie des mutations avec leur impact in vitro et in vivo
- ! Performances restent limitées en cas de faible prévalence de la résistance

Conclusion générale

- Les techniques génotypiques permettant d'accélérer diagnostic et prise en charge de la tuberculose dans le cadre d'une stratégie réfléchie incluant une probabilité clinique