

GeneXpert MTB/RIF dans un pays à faible revenu: expérience du service de Pneumo-phtisiologie du CHU de Fianarantsoa, Madagascar

*GeneXpert MTB/RIF in a low income country: Pneumology department of Fianarantsoa
University Hospital Madagascar experience*

J.L. Rakotoson (1)*, H. Raherimandimby (2), J. Rajaoarifetra (3),
A. Zafimahita (1), L. Rakotoson (1), L. Raharimbohitra (1),
L. Raholiarisoa (1), G.D. Solofomalala (4), M. Rabarijaona (5),
R. Raharimanana (6), A. Ralison (6)

(1) Service de Pneumo-phtisiologie, CHU de Fianarantsoa, Madagascar

(2) Service de Biologie, CHU de Fianarantsoa, Madagascar

(3) Service de Cardiologie, CHU de Fianarantsoa, Madagascar

(4) Service de Traumatologie-Orthopédie, CHU de Fianarantsoa, Madagascar

(5) Service de Neuro-Chirurgie, CHU de Fianarantsoa, Madagascar

(6) Service de Pneumo-phtisiologie, CHU de Mahajanga, Madagascar

Résumé

Introduction. Montrer les intérêts de GeneXpert MTB/RIF en matière de tuberculose dans un pays à faible revenu.

Matériels et méthodes. Etude prospective descriptive pendant 7 mois (juillet 2012 à janvier 2013) dans le service de Pneumo-phtisiologie du Centre Hospitalier Universitaire de Fianarantsoa Madagascar, des prélèvements pulmonaires et extra pulmonaires suspects de tuberculose, avec l'appareil GeneXpert MTB/RIF. Tous les prélèvements ont été analysés à l'examen direct avec la coloration de Ziehl Neelsen et par GeneXpert MTB/RIF.

Résultats. Les prélèvements analysés étaient des expectorations dans 94,7 % des cas (n= 561), des liquides pleuraux dans 4,05% des cas (n=24), du liquide d'ascite dans 0,5 % des cas (n= 3), du pus dans 0,6 % des cas (n=4). Parmi les 592 prélèvements analysés, 72 (12,1%) étaient de la tuberculose dont 72 (100%) étaient détectés avec le GeneXpert MTB/RIF et 40 (55,5%) à la bacilloscopie. Les prélèvements positifs à la bacilloscopie (n= 40) étaient tous contrôlés positifs avec le GeneXpert MTB/RIF (100 %) et parmi les 552 prélèvements négatifs, 32 (5,8 %) étaient retrouvés positifs avec l'appareil GeneXpert MTB/RIF. Un cas de résistance à la Rifampicine (0,1%) a été détecté.

Conclusion. L'arrivée de l'appareil GeneXpert MTB/RIF constitue une avancée importante dans le domaine de la tuberculose du fait de sa facilité de manipulation, de sa bonne sensibilité et spécificité et de sa rapidité. Mais son coût relativement cher et les exigences techniques demandées par cet appareil limiteront son utilisation dans les pays à faible revenu et à forte endémicité tuberculeuse.

Mots clés: tuberculose, tuberculose multirésistante, GeneXpert MTB/RIF, pays à faible revenu, Fianarantsoa, Madagascar

Abstract

Introduction. Description of GeneXpert MTB/RIF assay role for the management of tuberculosis in low burden country.

Materials and methods. Pulmonary and extra pulmonary specimens obtained from possible TB patient were collected and examined both through GeneXpert MTB/RIF assay and directed smear microscopy Ziehl Neelsen staining during 7 months period (from July 2012 to January 2013) for a descriptive and prospective study in a pneumological department of Fianarantsoa university hospital.

Results. Were collected 592 specimens including sputum samples in 94.7% (n=561), a pleural fluid samples in 4.05% (n = 24), ascetic fluid samples in 0.5%(n= 3), pus in 0,6 % (n = 4). We were accounted 72 tuberculosis cases. GeneXpert MTB/RIF had identified all the 72 (100%) patients with TB, only 27 (55%) of whom were TB directed smear positive. There was 1 case of Rifampicin resistance.

Conclusion. The GeneXpert MTB/RIF assay, a highly sensitive, specific and rapid method for diagnosing TB is an important advance. However, strict technical requirements and high cost are limiting its implementation in low income country.

Key words: tuberculosis, multiresistant drug tuberculosis, GeneXpert MTB/RIF, low income country, Fianarantsoa, Madagascar

Introduction

Comme dans la plupart des pays d'Afrique, la tuberculose reste encore un problème majeur de santé publique à Madagascar. L'émergence des souches multi-résistantes en plus de l'association fréquente avec l'infection VIH viennent compliquer sa prise en charge et malgré les campagnes internationales déployées depuis des décennies, cette infection est loin d'être éradiquée. En 2011, environ 630 000 cas de tuberculose multirésistante ont été recensés dans le monde [1] et que près de 9% des cas étaient des cas de tuberculose ultrarésistante [1]. L'OMS a approuvé en décembre 2010, le test GeneXpert MTB/RIF (*Mycobacterium tuberculosis*/Rifampicine) qui permet de détecter par polymérase chain reaction (PCR) en temps réel *M. tuberculosis* et également la résistance à la Rifampicine avec obtention des résultats au bout de 2 heures [2]. Doté de cet appareil depuis juillet 2012, le Laboratoire Régionale de Référence du service de Pneumophtisiologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Fianarantsoa Madagascar essaie de montrer les intérêts de son utilisation dans le dépistage de la tuberculose et de la résistance à la Rifampicine.

Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude prospective descriptive pendant 7 mois d'utilisation de l'appareil GeneXpert MTB/RIF dans le service de Pneumo-phtisiologie du CHU de Fianarantsoa, allant de juillet 2012 à janvier 2013. L'appareil utilisé était le GeneXpert MTB/RIF (Cepheid Sunnyvale, CA, USA).

Ont été inclus dans cette étude les patients ayant envoyés des prélèvements pour l'examen direct et pour GeneXpert tels les expectorations et les différents types de prélèvement pour une suspicion de tuberculoses extra pulmonaires à savoir les liquides pleuraux, les liquides d'ascite et des pus.

Tous les prélèvements ont bénéficié d'un examen direct par la coloration classique de Ziehl Neelsen et d'un examen avec l'appareil GeneXpert MTB/RIF. Avec ce dernier, les échantillons cliniques ont été traités avec de l'hydroxyde et l'isopropanol de sodium contenant le réactif témoin (SR) [3]. Le SR est ajouté à l'échantillon au rapport de 2:1 et incubé à la température ambiante pendant 15 minutes [4]. L'échantillon traité manuellement est alors transféré à la cartouche qui est chargée dans l'instrument de GeneXpert MTB/RIF. Le

traitement suivant est entièrement automatisé [3] et au bout de 2 heures, on a le résultat. Les paramètres analysés étaient l'âge, le genre, les différents types de prélèvement (expectoration, liquide pleural, liquide d'ascite, pus), les résultats fournis par l'examen direct (positif ou négatif) et par GeneXpert MTB/RIF (MTB positif ou négatif, RIF positif ou négatif).

Résultats

Durant la période d'étude, 592 prélèvements ont été analysés par la méthode classique de coloration de Ziehl Neelsen et par l'appareil GeneXpert MTB/RIF. Ces prélèvements provenaient de 359 hommes (60,6%) et 233 femmes (39,3%) avec un sex ratio de 1,54. L'âge moyen des patients était de 41,4 ans avec des âges extrêmes de 4 ans et 91 ans. Dans le cadre de dépistage de *M. tuberculosis*, les différents types de prélèvement analysés étaient des expectorations dans 94,7% des cas (n=561), des liquides pleuraux dans 4,05% des cas (n=24), d'ascite dans 0,5% des cas (n=3), et du pus dans 0,6% des cas (n=4). Le tableau 1 représente les résultats d'analyse de ces prélèvements avec GeneXpert MTB/RIF et l'examen direct. L'examen GeneXpert MTB/RIF était positif dans 12,1% des cas (n=72/592), et l'examen direct dans 6,7% des cas (n=40/592). Tous les prélèvements positifs à l'examen direct (n= 40) étaient contrôlés positifs avec GeneXpert MTB/RIF (100%). Par contre, parmi les 552 prélèvements négatifs à l'examen direct, l'examen GeneXpert MTB/RIF a retrouvé 32 cas (5,8%) positifs. Dans le cadre de la détection de *M. tuberculosis* résistante à la rifampicine, un cas (0,1%) a été retrouvé. L'antibiogramme avait montré une résistance à la rifampicine, isoniazide et éthambutol de la souche après le test de Hain réalisés à l'Institut Pasteur de Madagascar.

Discussion

Après dix-huit mois de test en 2010, l'OMS a annoncé son soutien à l'utilisation de l'appareil GeneXpert. Les avantages de cette technique est sa manipulation facile et surtout l'obtention rapide des résultats au bout de 2 heures contre jusqu' à 2 à 3 mois pour le diagnostic par la culture [2] permettant ainsi de débiter précocement le traitement. Mais l'examen au microscope des expectorations par la méthode de coloration classique de Ziehl Neelsen, est encore fortement employée dans la plupart des pays à faible revenu et à

Tableau 1. Résultats des prélèvements analysés par GeneXpert MTB/RIF et l'examen direct dans le service de Pneumo-phtisiologie du CHU de Fianarantsoa du juillet 2012 à janvier 2013 (n= 592).

Prélèvements analysés	GeneXpert MTB/RIF		Total	Examen direct		Total
	Positif	Négatif		Positif	Négatif	
Tous types	72 (12,1%)	520 (87,8%)	592			
Expectorations	69 (12,3%)	492 (87,7%)	561	40 (6,7%)	552 (93,2%)	592
Liquide pleural	2 (8,3%)	22 (91,6%)	24			
Pus	0	4 (100%)	4			
Liquide d'ascite	1 (33,3%)	2 (66,6%)	3			

forte endémicité tuberculeuse dont Madagascar bien qu'elle ne fournit pas la sensibilité et la spécificité exigées et ne puissent pas différencier *M. tuberculosis* et les autres mycobactéries non-tuberculeuses [3]. Après avoir analysé tous les prélèvements à la fois avec cette technique et avec l'appareil GeneXpert MTB/RIF, nous avons constaté dans notre étude seulement 40 cas positifs à la bacilloscopie contre 72 avec le GeneXpert MTB/RIF qui d'après plusieurs études, possède une sensibilité élevée (même si elle est légèrement inférieure à celle de la culture sur milieu spécifique) : elle est de 99% lorsqu'on retrouve du bacille tuberculeux à l'examen direct des crachats et de plus de 70% lorsque la recherche est négative. La spécificité dans le diagnostic de tuberculose pulmonaire s'est avérée très haute (97% à 100%) dans les échantillons pulmonaires [4]. D'où l'intérêt et l'avantage de l'utilisation de cette technique dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie négative (TPM -) permettant ainsi de débiter précocement le traitement antituberculeux sans attendre les 15 jours d'antibiothérapie non spécifique nécessaire au diagnostic de cette forme. Et devant tout suspicion de TPM (-), GeneXpert MTB/RIF doit être réalisé de façon systématique. La limite analytique de la détection de l'analyse de GeneXpert MTB/RIF est rapportée pour être 131 Unités Formant Colonies (UFC) par ml d'échantillon tandis que la culture peut détecter les concentrations aussi basses que 10 à 100 UFC/mL [5].

Le seul cas de résistance à la rifampicine retrouvé par GeneXpert MTB/RIF dans notre étude a été confirmé par l'antibiogramme. Ce cas a été retrouvé parmi les patients présentant un échec thérapeutique.

En effet, beaucoup d'auteurs ont montré une très bonne sensibilité (89 à 98 %) et une excellente spécificité (99 à 100 %) de GeneXpert MTB/RIF [2]. Dans les tuberculoses extra-pulmonaires, GeneXpert MTB/RIF a une sensibilité de 77,3% à 95% et une spécificité de 98,2% à 100% [6, 7]. Pour la tuberculose pleurale, Causse et al. [8] ont retrouvé 4 résultats positifs pour le GeneXpert sur 34 liquides pleuraux testés (11,8%), tous confirmés par la culture. Sur 25 liquides pleuraux chez les patients suspectés cliniquement par Sven et al. [9] d'avoir une tuberculose pleurale, 5 seulement avaient un résultat positif avec GeneXpert. Ils ont retrouvé des sensibilités de la culture et de l'analyse de GeneXpert respectivement à 45% et à 25% [9]. Tous les cas avec GeneXpert positif étaient également positifs après la culture [9]. Les localisations extra-pulmonaires sont les formes pauci-bacillaires de la maladie expliquant ainsi la faible sensibilité du test GeneXpert [9,10]. Nous avons retrouvé dans notre travail 2 cas positifs sur les 24 liquides pleuraux et 1 cas positif sur les 2 liquides d'ascite analysés. Grâce à l'utilisation de GeneXpert MTB/RIF sur les différents prélèvements analysés, nous avons pu mettre en route le traitement des 32 cas (5,8%) de tuberculose qui étaient négatifs à l'examen direct.

Conclusion

L'arrivée de l'appareil GeneXpert constitue une avancée importante dans le domaine de la tuberculose car il nous a permis d'améliorer le diagnostic de la tuberculose pulmonaire surtout les TPM (-) et des TEP permettant non seulement la mise en route précoce du traitement mais aussi la détection des formes multirésistantes. Mais son coût relativement cher et les exigences techniques demandées par cet appareil (effets de la chaleur, de l'humidité, de la poussière, problèmes d'électricité, installation ou non de la climatisation dans certains laboratoires, stockage des cartouches, gestion des déchets, entretien annuel et calibrage de l'appareil) limiteront son utilisation dans les pays à faible ressource et à forte endémicité tuberculeuse.

Références

1. World Health Organisation. Rapport OMS 2012 sur la lutte contre la tuberculose dans le monde. WHO Geneva Switzerland 2012.
2. Dubrous P, Alaoui H, N'Dounga Mikolo B, *et al.* Diagnostic biologique de la tuberculose dans les pays à faibles ressources: perspectives nouvelles. *Med Trop* 2009; 69 : 618-28.
3. Sharma SK, Mohan A. Extra pulmonary tuberculosis. *Indian J Med Res* 2004; 120 (4): 316-53.
4. Nicol MP, Workman L, Isaacs W, *et al.* Accuracy of the Xpert MTB/RIF test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children admitted to hospital in Cape Town, South Africa: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11 (11): 819-24.
5. Marlowe EM, Novak-Weekley SM, Cumpio J, *et al.* Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (4): 1621-3.
6. Vadwai V, Boehme C, Nabeta P *et al.* Xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis? *J Clin Microbiol* 2011; 49 (7): 2540-5.
7. Hillemann D, Rüscher-Gerdes S, Boehme C, *et al.* Rapid molecular detection of extra pulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (4): 1202-5.
8. Causse M, Ruiz P, Gutiérrez-Aroca JB, *et al.* Comparison of two molecular methods for rapid diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (8): 3065-7.
9. Sven O, Friedrich, Von Groote-Bidlingmaier F *et al.* Diacon Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pleural tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (12): 4341-2.
10. Hillemann D, Rüscher-Gerdes S, Boehme C *et al.* Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (4): 1202-5.