

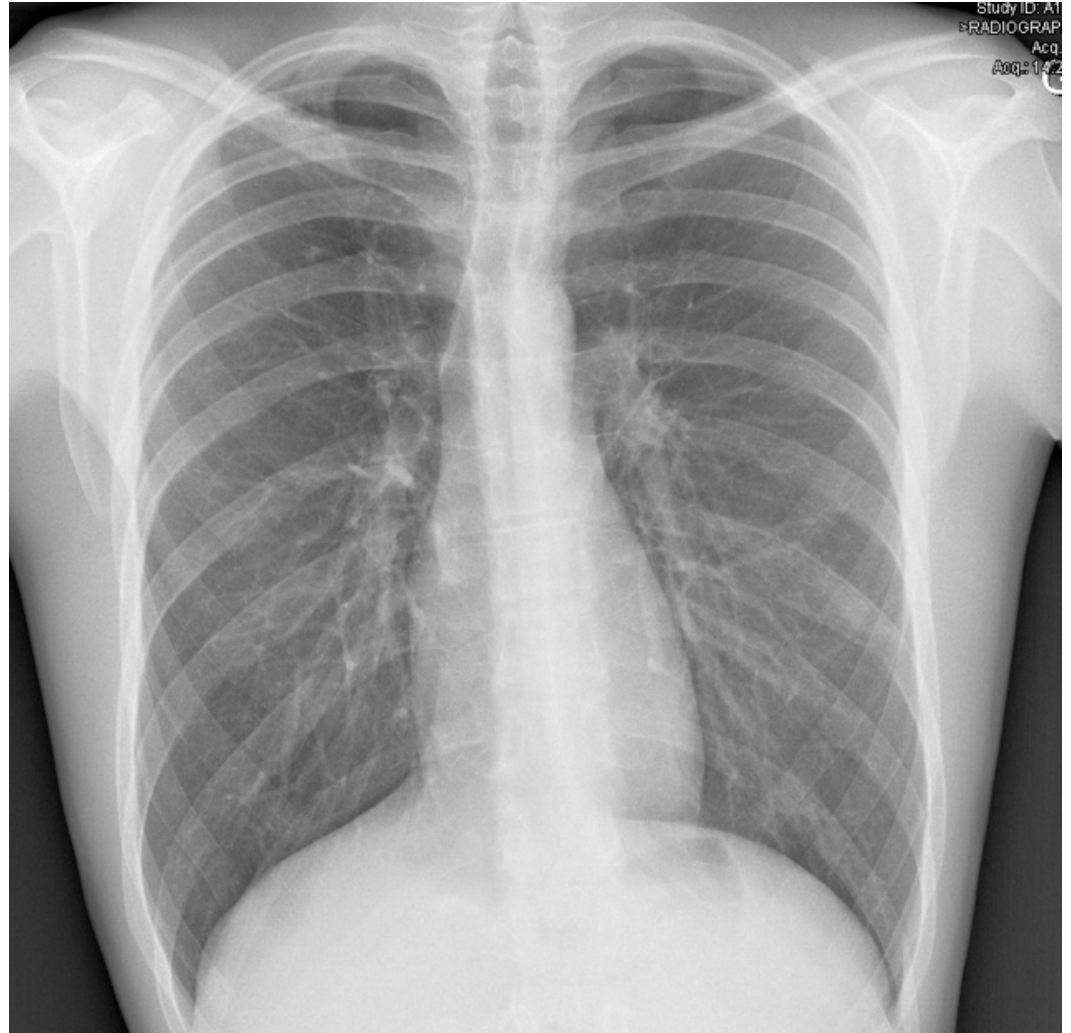


# Mise au point sur les nouveaux tests dans la Tuberculose: **PCR et IGRA**

Dr. D Adler, Service de Pneumologie, HUG

# Cas Clinique 1

- ▶ Homme, 28 ans, non fumeur, Kosovo
- ▶ Toux chronique (8 semaines) persistante après un traitement empirique d'Augmentin
- ▶ Pas d'altération de l'état général
- ▶ Pas de plaintes respiratoires en dehors de la toux





	Direct (Auramine/Ziehl)	Culture
Expectoration (2x)	ABS	Mycobacterium tuberculosis
Aspiration bronchique	ABS	Mycobacterium tuberculosis
LBA	ABS GeneXpert +/- Absence de mutation rpoB	Mycobacterium tuberculosis

---



# Cas confirmé de tuberculose pulmonaire

---

Tableau 4.1 Classification des cas selon des critères diagnostiques (selon l'OMS)

Cas confirmé	Présence démontrée de mycobactéries du complexe MTB dans les prélèvements; ou présence démontrée de BAAR (bacilles acido-alcoolo-résistants) à l'examen microscopique avec simultanément mise en évidence de la présence de séquences d'acides nucléiques spécifiques au MTB dans les prélèvements.
Cas vraisemblable (diagnostic sans preuve bactériologique)	L'examen clinique est compatible avec une tuberculose et il existe d'autres indices de la maladie (par exemple des indices radiologiques et/ou la mise en évidence de la présence de BAAR ou d'une PCR positive).

- ▶ Quadrithérapie antituberculeuse: INH, RIF, EMB, PYR
- 



# Gene Xpert

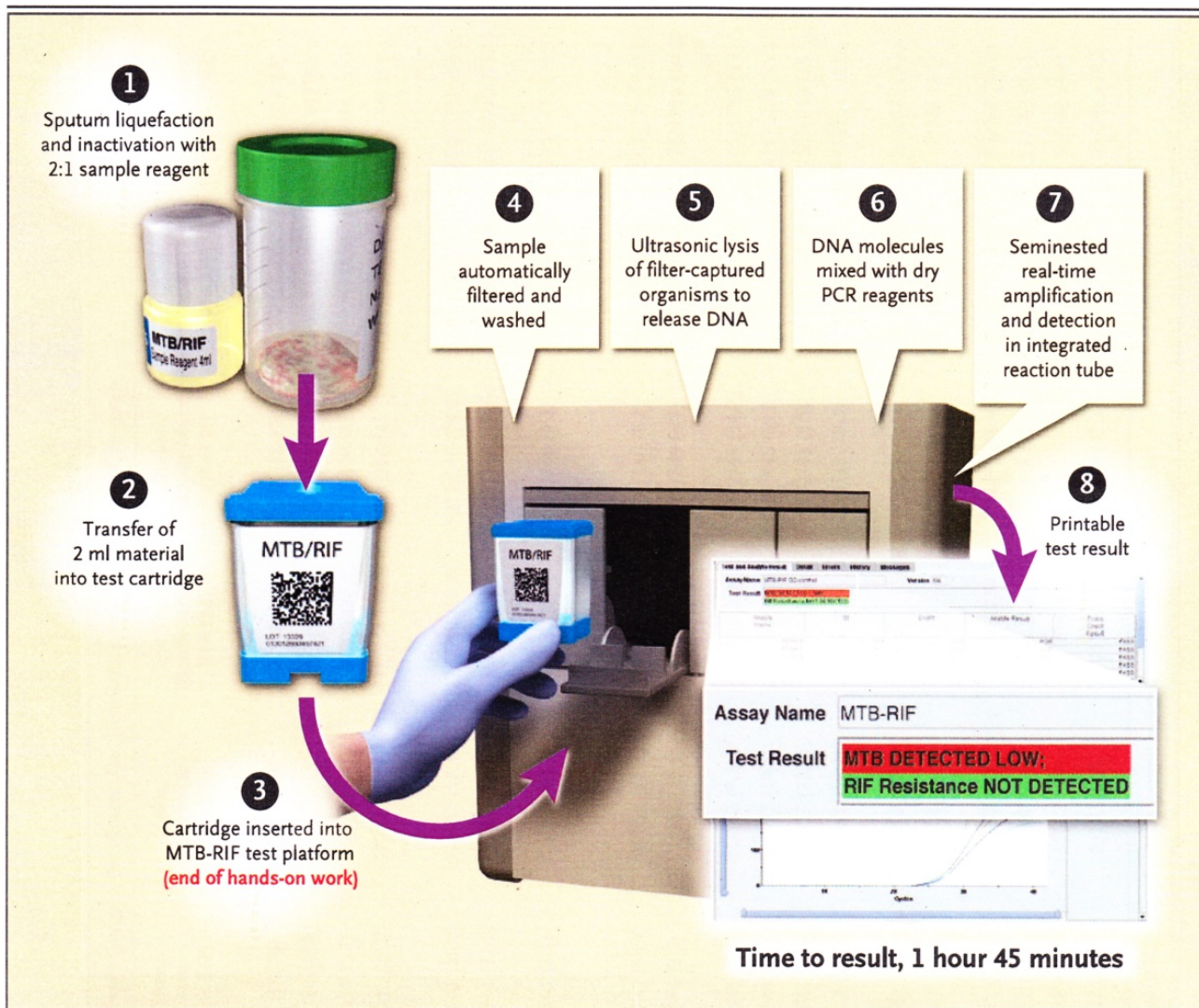
---

## *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.





**Figure 2. Assay Procedure for the MTB/RIF Test.**

Two volumes of sample treatment reagent are added to each volume of sputum. The mixture is shaken, incubated at room temperature for 15 minutes, and shaken again. Next, a sample of 2 to 3 ml is transferred to the test cartridge, which is then loaded into the instrument. All subsequent steps occur automatically. The user is provided with a printable test result, such as “MTB detected; RIF resistance not detected.” PCR denotes polymerase chain reaction.

# GeneXpert (2h)

---

- ▶ Sensibilité du test chez le patient S-/C+(pour des cultures qui poussent à deux mois)

Prélèvement respiratoire	Sn
1	72.5%
2	85.1%
3	90.2%

- ▶ Sensibilité du test chez le patient S+/C+: 99.8%



## Etude Xpert MTB/RIF test

---

- ▶ *Rapidité d'utilisation*: 15 minutes de manipulations + 1h30 d'analyse automatisée
- ▶ Pas d'aérosols infectieux
- ▶ Attention: technique validée initialement sur des expectorations spontanées lors d'atteinte pulmonaire

# Xpert MTB/RIF pour tuberculose extrapulmonaire

- ▶ Méta-analyse de 18 études
- ▶ 4461 prélèvements extra-pulmonaires
- ▶ Sn 97% quand Ziehl +
- ▶ Si Ziehl nég:

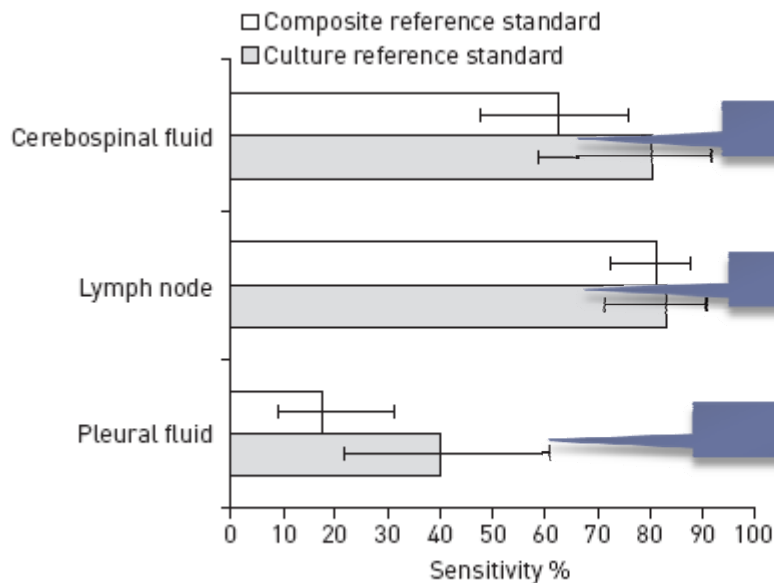
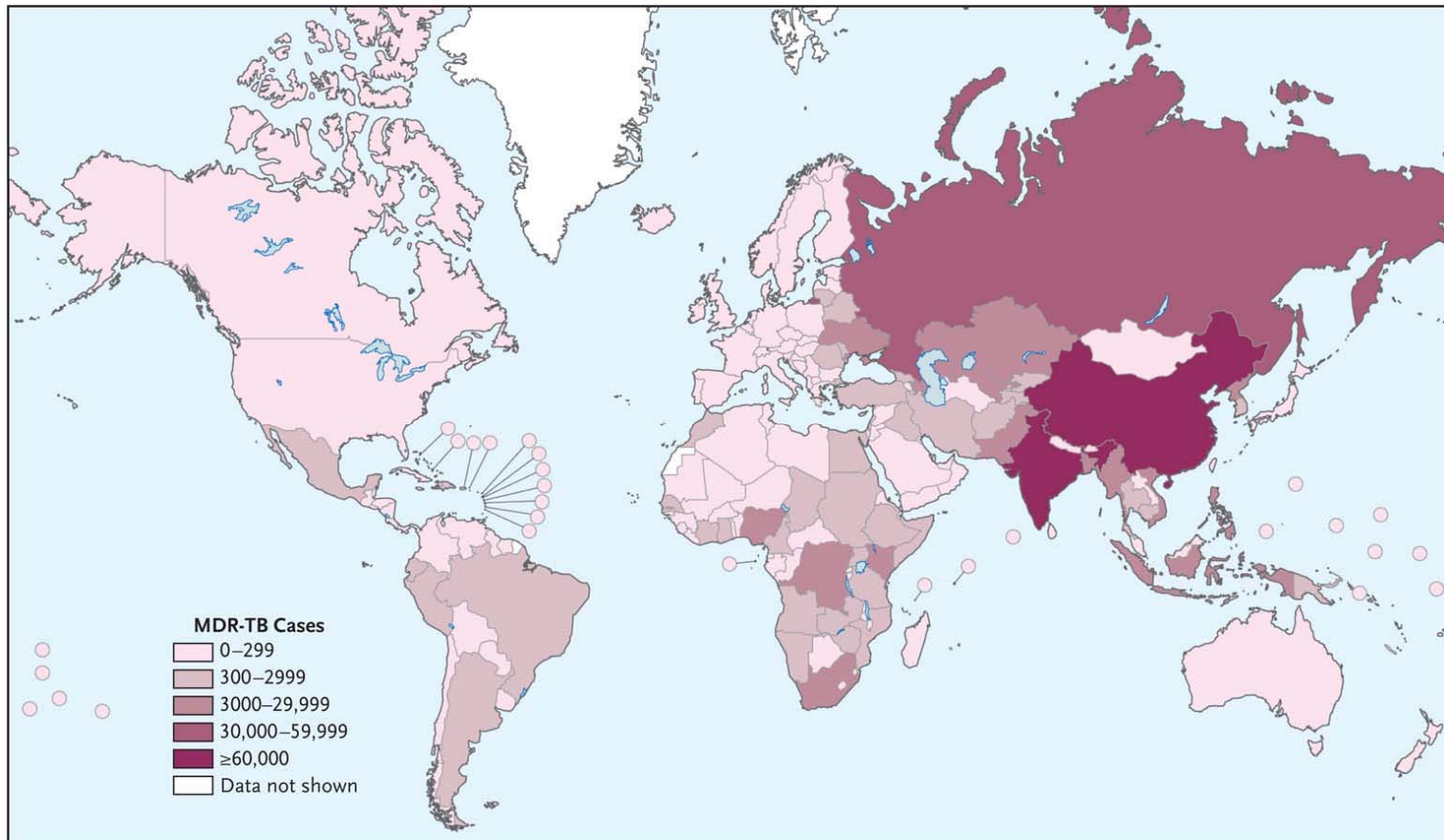


FIGURE 6 Pooled sensitivity estimates across sample types.

# Mutation rpoB= résistance à la Rifampicine= proxy MDR

---



> 65% des TBC MDR dans « BRICS ». 300000-500000 nx cas/an

---



Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance:

Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children

NEW DIAGNOSTIC TESTS  
POLICY UPDATE  
TUBERCULOSIS  
DIAGNOSIS  
RESISTANCE  
RIFAMPICIN  
PULMONARY TB  
TB  
DRUG-RESISTANCE  
TB/HIV  
RAPID TB TEST  
PERFORMANCE  
ACCURACY  
RECOMMENDATIONS  
MYCOBACTERIUM  
MOLECULAR DIAGNOSTICS



- ▶ Xpert MTB/RIF recommandé pour le diagnostic de tuberculose pulmonaire quand MDR ou TBC-HIV sont suspectés
- ▶ Xpert MTB/RIF proposé en première intention pour les adultes et enfants suspects de tuberculose pulmonaire (ressources et politique de santé locale)
- ▶ **Xpert MTB/RIF recommandé après l'examen direct spécialement quand la culture ne peut être faite**

Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance:

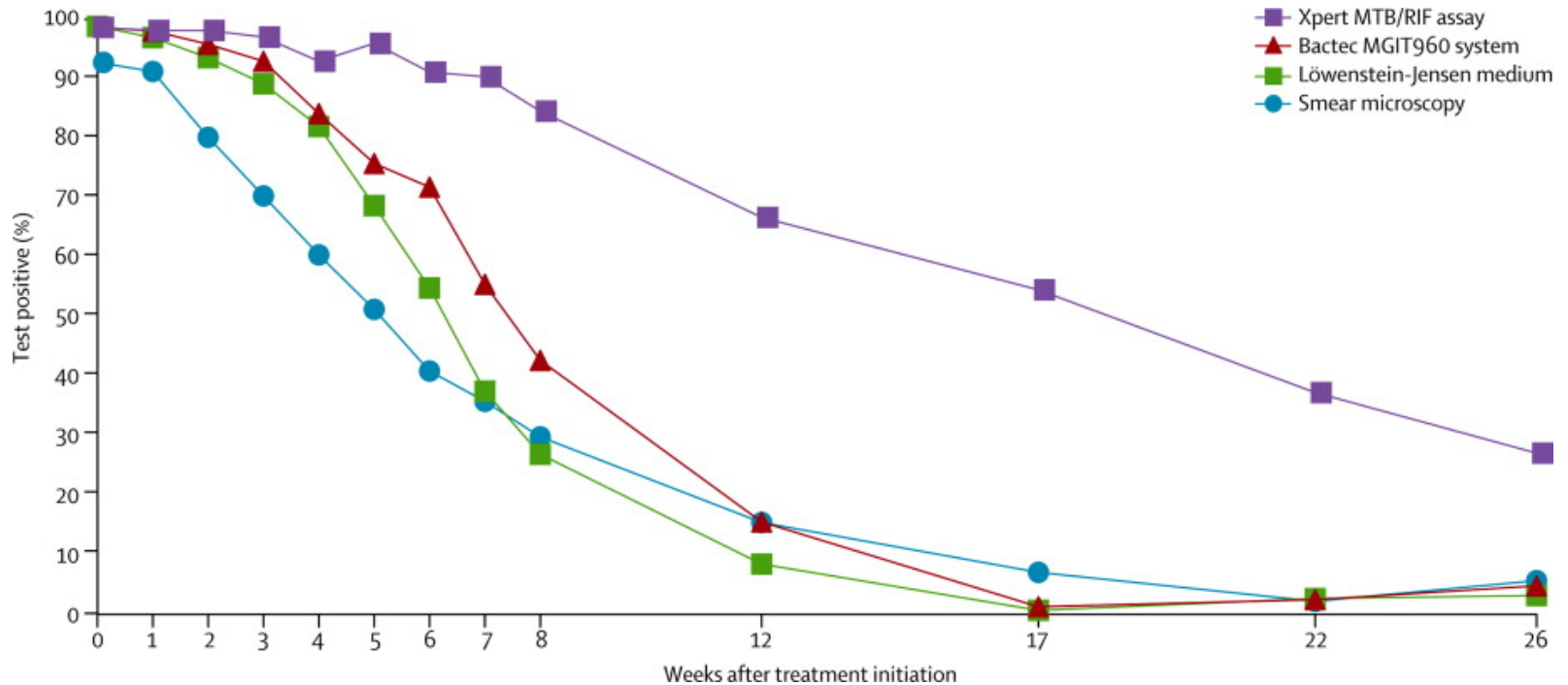
Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children

NEW DIAGNOSTIC TESTS  
PULMONARY TB  
RIFAMPICIN  
DIAGNOSIS  
RESISTANCE  
**POLICY UPDATE**  
DRUG-RESISTANCE  
TB/HIV  
TUBERCULOSIS  
ACCURACY  
RECOMMENDATIONS  
RAPID TB TEST  
PERFORMANCE  
ACCURACY  
MYCOBACTERIUM  
MOLECULAR DIAGNOSTICS



- ▶ Xpert MTB/RIF recommandé en première intention pour le diagnostic de la méningite tuberculeuse (recommandation forte compte tenu de l'urgence du traitement)
- ▶ Xpert MTB/RIF peut être utilisé pour les tissus et prélèvements non respiratoires (ganglions en particulier)

# ...ce qu'il ne faut pas faire

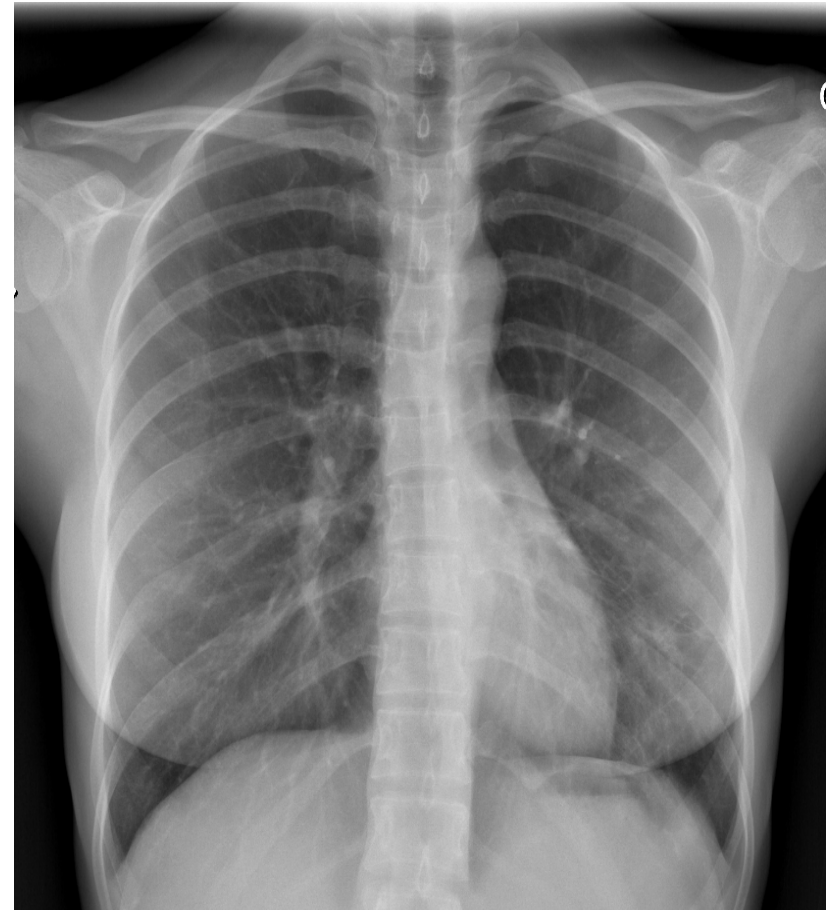


[http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(13\)70119-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(13)70119-X)

## Cas Clinique 2

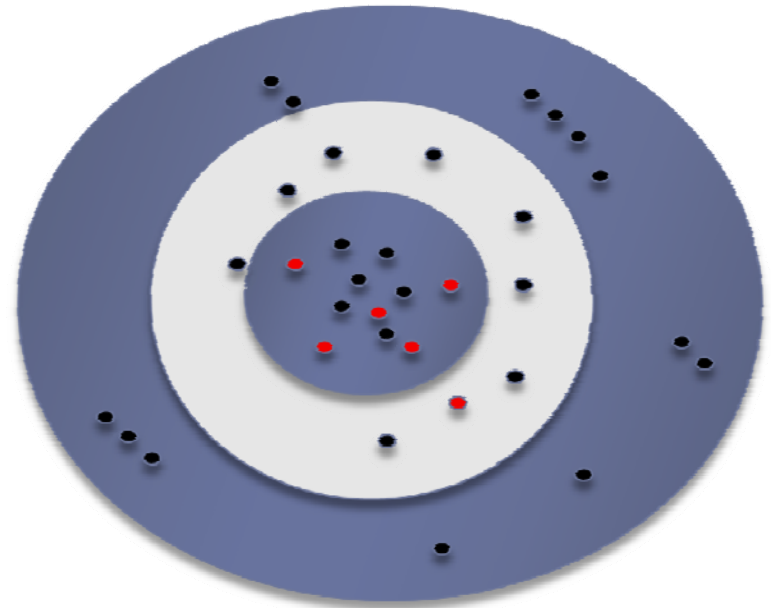
---

- ▶ Un contrôle d'entourage restreint est organisé pour le patient 1
- ▶ Pas d'enfants < 5ans
- ▶ Pas d'immunosupprimés
- ▶ Vit avec son épouse de 26 ans, vaccinée BCG
- ▶ Aucune plainte générale ou respiratoire
- ▶ Pas de FR HIV
- ▶ 8 semaines: Mantoux +, Quantiféron+



## Indications à la mise en route d'une enquête d'entourage

- Cas index atteint d'une tuberculose pulmonaire dont l'expectoration ou le LBA est positif à l'examen microscopique direct (S+)
- Cas index atteint d'une tuberculose pulmonaire dont l'expectoration ou le LBA est positif uniquement à la culture (C+) ou dans un test d'amplification génétique (enquête d'entourage limitée aux proches contacts et aux enfants en bas âge)

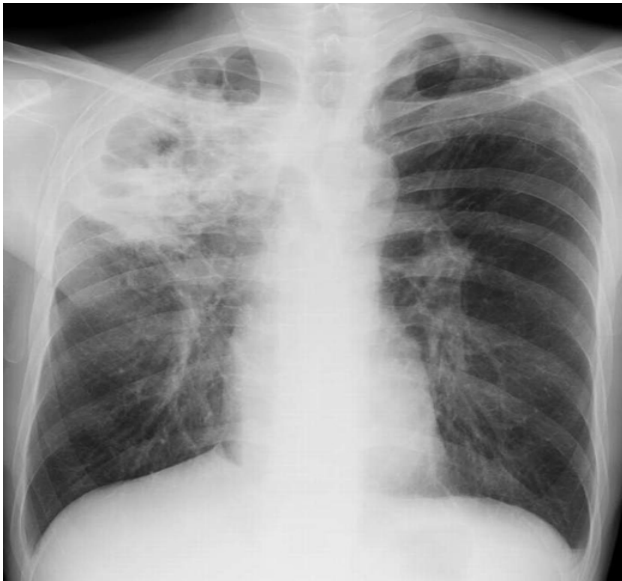




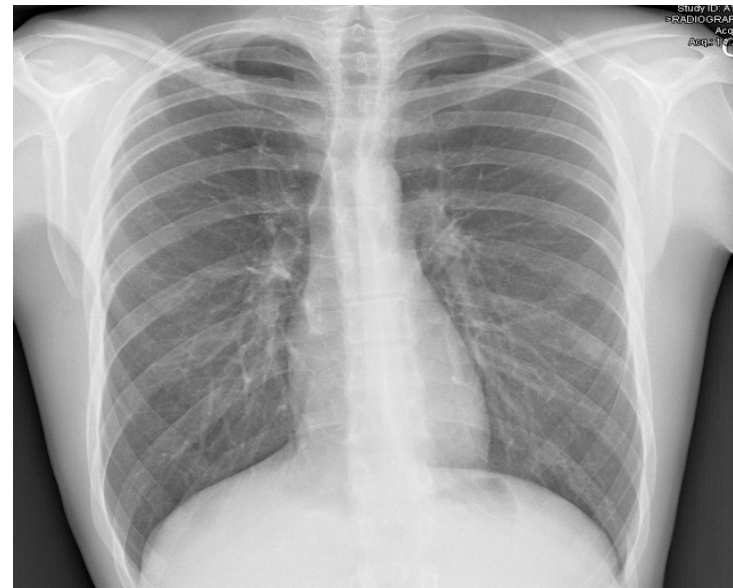
# Contagiosité du cas source dépend...

---

## Smear+ avec toux



## Smear – sans toux



Envir. 15% des transmissions par S-/C+



# ...du volume d'air et de la ventilation

---



Contamination des personnes sous le même toit et plus particulièrement dans la même chambre +++

---



# ... du temps d'exposition

---



Le risque est significatif après 8 heures de contact étroit avec une personne tuberculose dont les expectorations sont positives au direct (40h pour S-/C+)

---



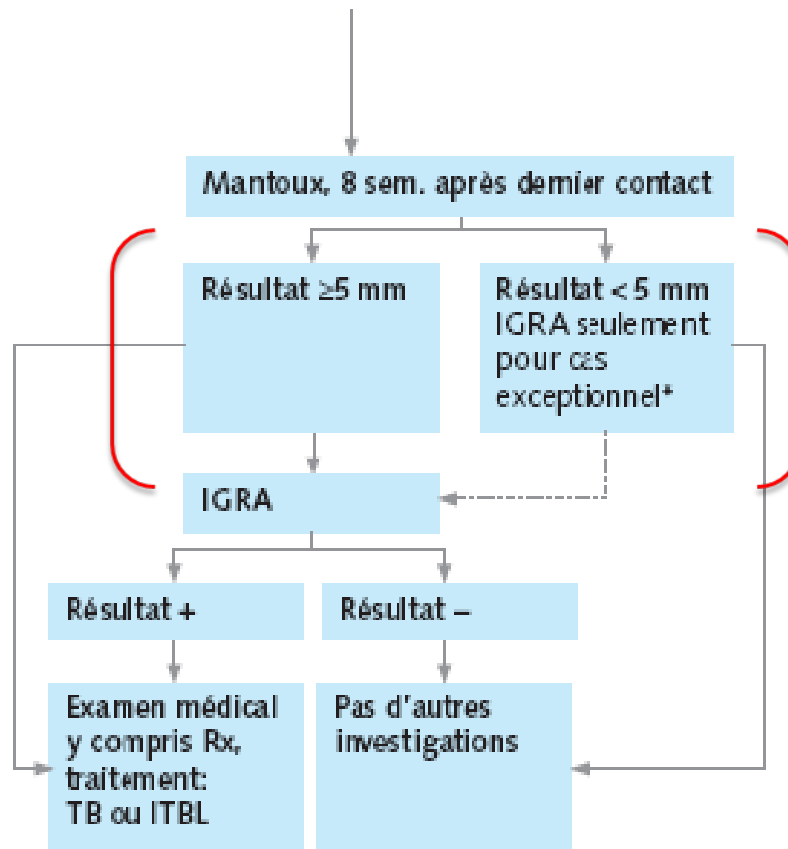
# Risque de progression vers une tuberculose

Tableau 2.1 Facteurs de risque accru de développer une tuberculose [30]  
(OR = Odds Ratio [ou rapport des chances], RR = risque relatif)

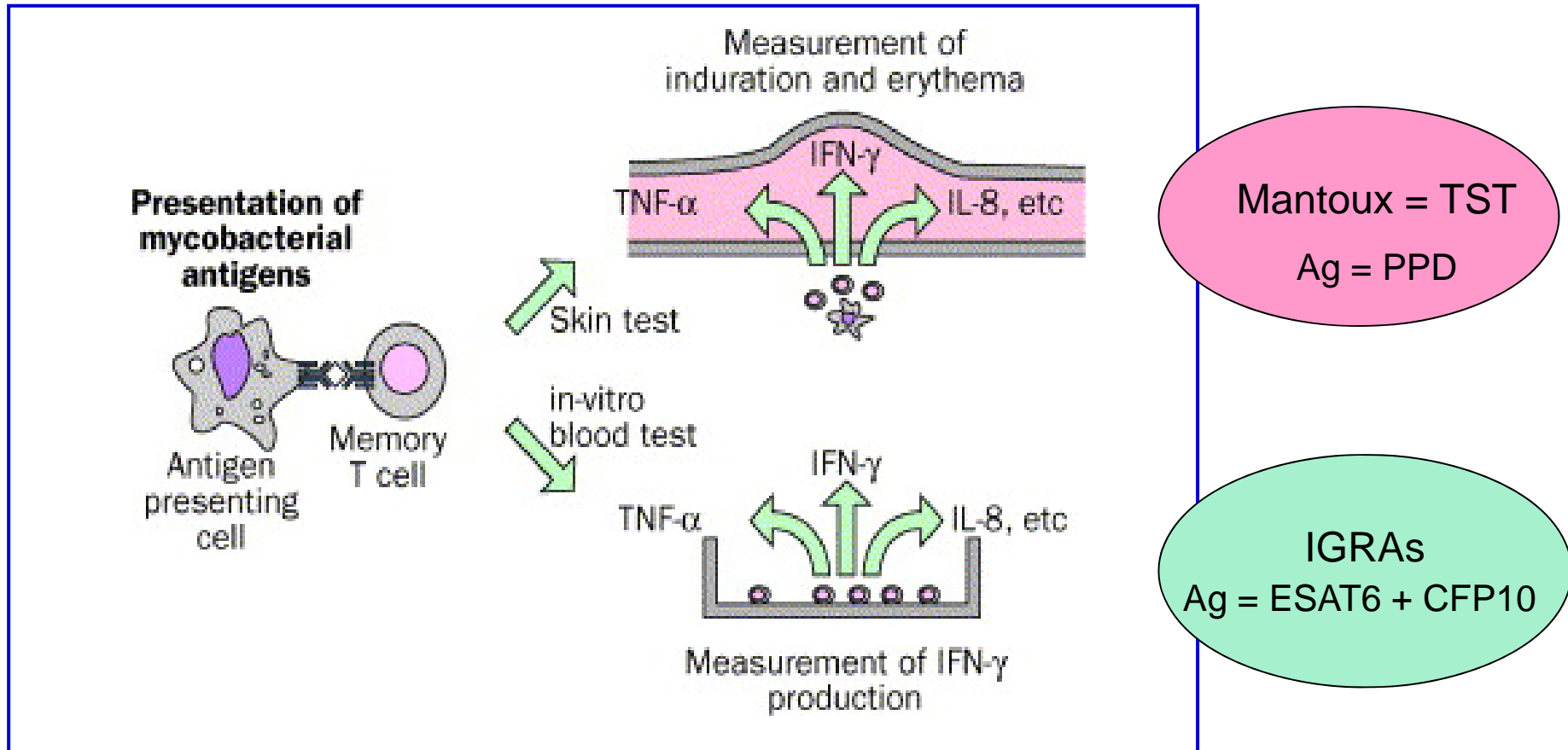
Cas/pathologie		OR ou RR
Immunosuppression	VIH positif et TST positif	50–110
	Sida	110–170
	Transplantation d'organe	20–74
	Traitement anti-TNF- $\alpha$	1,5–17
	Stéroïdes (>15 mg de prednisolone par jour sur >2 à 4 semaines)	4,9
Tumeur maligne	Hématologique (leucémie, lymphome)	4–8
	Carcinome ORL ou pulmonaire	16
Gastrectomie		2,5–6,3
Bypass jéjunal		2,5
Silicose		27–63
Insuffisance rénale chronique/dialyse		30
Diabète		10–25
Tabagisme		2–3,6
Abus d'alcool		2–3
Poids en dessous de la norme		3
Age <5 ans		2–2,6
		2–5

# Contact identifié

---



# IGRAs: comment ça marche?



# Identification de la LTBI: PPD/IGRA



5mm (moins de vaccination,  
+ d'immunodéprimés)

(b)

QuantIFERON®-TB Gold

Whole blood

Incubate in the presence of  
*M. tuberculosis* antigens

Effector T-cells produce IFN- $\gamma$

Supernatant removed, and  
IFN- $\gamma$  measured by ELISA

Absorbance measured in  
ELISA reader  
Results as IU/ml

ESAT6 CFP10

16-24 hours



## IGRAs : 2 tests disponibles

---

- ▶ T-SPOT TB™ (Oxford Immunotec, UK)
- ▶ QuantiFERON-Gold-in tube™ (Cellestis; Sydney, Australia)





# Species specificity of ESAT-6 and CFP-10

Tuberculosis complex	Antigens		Environmental strains	Antigens	
	ESAT	CFP		ESAT	CFP
M tuberculosis	+	+	M abcessus	-	-
M africanum	+	+	M avium	-	-
M bovis	+	+	M branderi	-	-
BCG substrain			M celatum	-	-
gothenburg	-	-	M chelonae	-	-
moreau	-	-	M fortuitum	-	-
tice	-	-	M gordonii	-	-
tokyo	-	-	M intracellulare	-	-
danish	-	-	M kansasii	+	+
glaxo	-	-	M malmoense	-	-
montreal	-	-	M marinum	+	+
pasteur	-	-	M oenavense	-	-
			M scrofulaceum	-	-
			M smegmatis	-	-
			M szulgai	+	+
			M terrae	-	-
			M vaccae	-	-
			M xenopi	-	-



# $S_n$ / $S_p$ IGRA

Table. Sensitivity and Specificity of the TST and IGRA Among BCG-Vaccinated and Non-BCG-Vaccinated Persons for Latent TB Infection<sup>a</sup>

Test Characteristic	QuantiFERON-TB Gold In-Tube	T-SPOT.TB, %	TST, %
Sensitivity <sup>b</sup>	≈ 80	≈ 90	≈ 80
Specificity, % <sup>b</sup>			
Non-BCG-vaccinated	>95	>95	>95
BCG-vaccinated	>95	>95	≈ 60

Sensibilité équivalente, un peu mieux encore pour le t-spotTB

# Sn /Sp IGRA

Table. Sensitivity and Specificity of the TST and IGRA Among BCG-Vaccinated and Non-BCG-Vaccinated Persons for Latent TB Infection<sup>a</sup>

Test Characteristic	QuantiFERON-TB Gold In-Tube	T-SPOT.TB, %	TST, %
Sensitivity <sup>b</sup>	≈ 80	≈ 90	≈ 80
Specificity, % <sup>b</sup>			
Non-BCG-vaccinated	>95	>95	>95
BCG-vaccinated	>95	>95	≈ 60

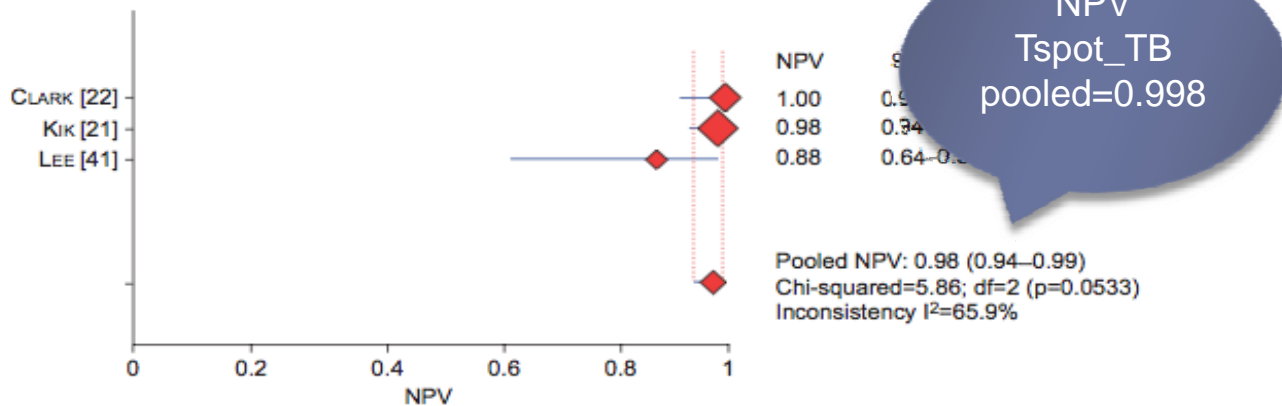
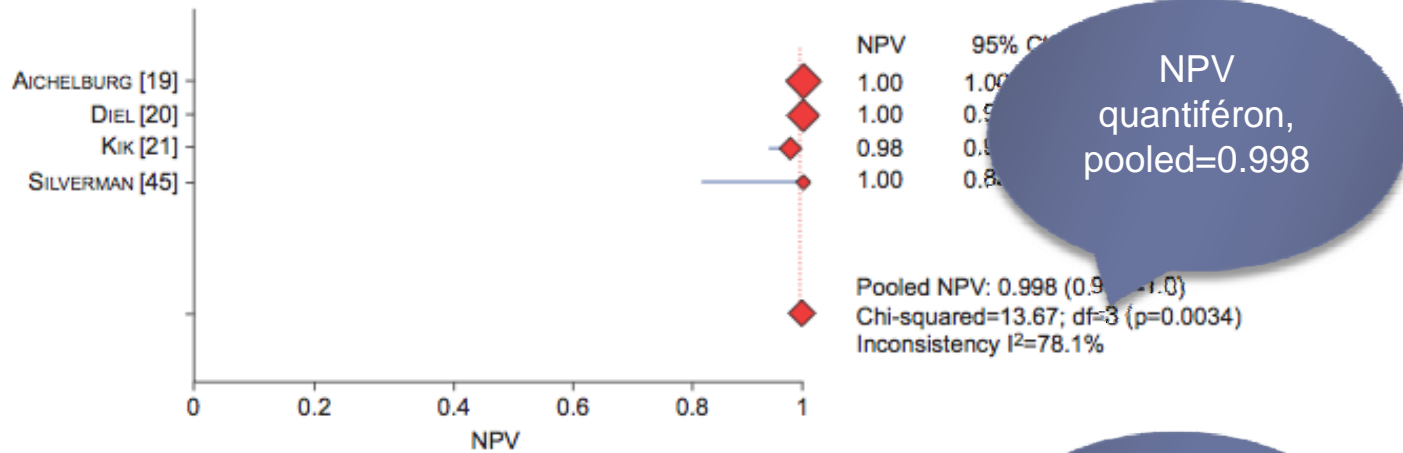
Spécificité meilleure, en particulier dans une population vaccinée par BCG

# Les IGRAs prédisent mieux que le Mantoux la progression vers une tuberculose primaire

TABLE 4. RATE OF PROGRESSION TO ACTIVE TUBERCULOSIS FOR THOSE QUANTIFERON-TB GOLD IN-TUBE ASSAY POSITIVE OR POSITIVE BY THE TUBERCULIN SKIN TEST AT VARIOUS INDURATION CUTOFFS AMONG THE 903 UNTREATED CONTACT PERSONS

	No. of Untreated Contacts	Progressed to Active TB	Progression Rate (%)
QFT			
Positive	147	19	12.9
Negative	756	0	0
TST, mm			
0-5	348*	2	0.6
>5	555	17	3.1
>10	207	10	4.8
>15	63	2	3.2

# Les IGRAs ont une meilleure valeur prédictive négative pour la progression vers une tuberculose primaire



## Les indications principales des IGRAs sont:

---

- ▶ Le contrôle d'entourage d'un cas de tuberculose contagieuse
- ▶ Screening dans des groupes à risque ( « intention to test is intention to treat »)
- ▶ Screening avant traitement immunosuppresseur ( avant une greffe d'organe, moelle, cellules souches, ..., anti-TNF)
- ▶ Un IGRA+ ne permet pas de distinguer une tuberculose d'une tuberculose latente



**TABLE 2. USE OF TUBERCULIN SKIN TESTING AND IFN- $\gamma$  RELEASE ASSAYS TO DIAGNOSE LATENT TUBERCULOSIS INFECTION IN IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS: CURRENT GUIDELINES AND SUGGESTED APPROACH**

Patient Population	CDC Guidelines*	Comments	Suggested Approach
HIV-infected persons	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider sequential testing with TST and an IGRA in high-risk patients<sup>†</sup></li> <li>● Any positive result should be considered evidence of LTBI</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● TST performance is limited in patients with CD4<sup>+</sup> cell count &lt; 200 cells/mm<sup>3</sup></li> <li>● Correlation between IGRAs and clinical risk factors for LTBI: <i>strong evidence</i></li> <li>● Increased likelihood of indeterminate results for both IGRAs</li> <li>● T-SPOT.TB performance less affected by low CD4<sup>+</sup> lymphocyte count</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider TST for patients with CD4<sup>+</sup> cell count &gt; 200 cells/mm<sup>3</sup></li> <li>● Consider T-SPOT.TB in patients with lower CD4<sup>+</sup> lymphocyte count</li> <li>● Would not use QFT-GIT for routine screening</li> </ul>
Candidates for therapy with a TNF- $\alpha$ inhibitor and patients with immune-mediated inflammatory disorders (RA, SLE, and other autoimmune diseases)	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider sequential testing with TST and an IGRA in high-risk patients<sup>†</sup></li> <li>● Any positive result should be considered evidence of LTBI</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● TST performance is limited in patients with Immune-mediated inflammatory disorders</li> <li>● Correlation between IGRAs and clinical risk factors for LTBI: <i>strong evidence</i></li> <li>● T-SPOT.TB less affected by use of immunosuppressive medications such as corticosteroids</li> <li>● TST performance is limited</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Test candidates for TNF-<math>\alpha</math> inhibitor therapy for LTBI before initiating treatment with a TNF-<math>\alpha</math> inhibitor</li> <li>● Consider concurrent or sequential testing by TST and an IGRA in high-risk patients (candidates for TNF-<math>\alpha</math> inhibitors)<sup>†</sup></li> <li>● Consider T-SPOT.TB in patients receiving corticosteroids</li> </ul>
Patients receiving dialysis	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider sequential testing with TST and an IGRA in high-risk patients<sup>†</sup></li> <li>● Any positive result should be considered evidence of LTBI</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Correlation between QFT-GIT and clinical risk factors for LTBI: <i>strong evidence</i></li> <li>● T-SPOT.TB performance not well characterized</li> <li>● TST performance is limited</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider QFT-GIT as test of choice</li> <li>● Would not use TST</li> </ul>
Patients with hematologic malignancy, including HSCT candidates	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider sequential testing with TST and an IGRA in high-risk patients<sup>†</sup></li> <li>● Any positive result should be considered evidence of LTBI</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Correlation between IGRAs and clinical risk factors for LTBI: <i>weak evidence</i></li> <li>● T-SPOT.TB may be less affected by presence of neutropenia and/or lymphopenia and may be preferable</li> <li>● TST of value if obtained before transplantation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider TST as test of choice</li> <li>● Would not use IGRAs for routine screening</li> </ul>
Solid organ transplant candidates	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Consider sequential testing with TST and an IGRA in high-risk patients<sup>†</sup></li> <li>● Any positive result should be considered evidence of LTBI</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Correlation between IGRAs and clinical risk factors for LTBI: <i>weak evidence</i></li> <li>● Underlying liver disease appears to increase likelihood of indeterminate results of both IGRAs in candidates for liver transplantation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Test candidates for solid organ transplant for LTBI before transplantation</li> <li>● Consider TST as test of choice</li> <li>● Would not use IGRAs for routine screening</li> </ul>

# Avantages et Inconvénients des tests IGRA par rapport au PPD

---

## Avantages

- ▶ Pas influencé par vaccin ni les mycobactéries de l'environnement → Sp
- ▶ Sensible (immunosupprimés)
- ▶ Pas d'effet booster
- ▶ Lecture systématique avec moins d'erreurs humaines

## Inconvénients

- ▶ Sang veineux
- ▶ Temps limité pour la manipulation
- ▶ La signification des degrés de positivité n'est pas connue
- ▶ L'influence du traitement n'est pas connue
- ▶ Moins d'expérience avec l'histoire naturelle d'un test IGRA positif





# Conclusion 1: Xpert MTB/RIF

---

- ▶ Diagnostic:
  - ▶ Classiquement microscopie puis culture
  - ▶ →Xpert MTB/RIF accepté
- ▶ Plus sensible que la microscopie (sensibilité >70% pour S-/C+). Particulièrement si co-infection HIV
- ▶ Résultat immédiat (2h). Populations difficiles à suivre
- ▶ Mutation rpoB= résistance Rifampicine= MDR!
  - ▶ 90% des patients MDR ne sont pas identifiés.
  - ▶ 50% des patients identifiés sont traités adéquatement
- ▶ Xpert MTB/RIF a le potentiel d'améliorer le contrôle de la tuberculose dans les pays endémiques



## Conclusion 2: IGRA

---

- ▶ Ne font pas la distinction entre tuberculose « maladie » et tuberculose latente
- ▶ La réalisation d'un IGRA à la recherche d'une tuberculose latente doit être réservée aux sujets à risque de LTBI et à risque de progression vers une tuberculose
- ▶ Les IGRA sont proposés en première intention par de nombreuses sociétés et particulièrement si le patient a été vacciné par le BCG
- ▶ Une tuberculose active devrait être écartée (anamnèse, radiographie du thorax) avant chimio-prophylaxie par Rifampicine ou INH

