



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



Mise au point

Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie



The new tools of microbiological diagnosis of tuberculosis

C. Guillet-Caruba^a, V. Martinez^{b,c}, F. Doucet-Populaire^{a,*}^a Service de bactériologie-hygiène, hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, HUPS, 157, rue de la Porte-de-Trivaux, 92140 Clamart, France^b Service de médecine interne et immunologie clinique, hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, HUPS, 157, rue de la Porte-de-Trivaux, 92140 Clamart, France^c Inserm U996, labex Ihermit, université Paris-Sud, 32, rue des Carnets, 92140 Clamart, France

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Disponible sur Internet le 8 août 2014

Mots clés :

Tuberculose
Diagnostic biologique
Techniques moléculaires

Keywords:

Tuberculosis
Laboratory diagnosis
Molecular techniques

RÉSUMÉ

Cet article fait le point sur la place des nouveaux outils dans le diagnostic microbiologique « moderne » de la tuberculose maladie. Les techniques traditionnelles de microscopie et de culture restent indissociables du diagnostic de certitude, mais certaines innovations se substituent au quotidien aux techniques plus anciennes comme par exemple, l'identification des mycobactéries du complexe *tuberculosis* par immunochromatographie ou la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF à partir des cultures positives ou l'antibiogramme en milieu liquide. Les nouveaux outils qui utilisent les techniques moléculaires ont pris une place importante. Elles ont toutes pour point commun d'optimiser la lutte contre la tuberculose en diminuant le délai diagnostique. Elles permettent aussi d'accélérer la détection de la résistance aux anti-tuberculeux. Néanmoins, les techniques d'amplification génique directement à partir des prélèvements cliniques restent toujours moins sensibles que la culture. Le diagnostic bactériologique de la tuberculose maladie repose donc encore sur la complémentarité des différentes techniques phénotypiques et moléculaires.

© 2014 Société nationale française de médecine interne (SNFMI). Publié par Elsevier Masson SAS.

Este é um artigo Open Access sob a licença de [CC BY-NC-ND](#)

ABSTRACT

This review focuses on the role of new tools in the “modern” microbiological diagnosis of tuberculosis. Traditional techniques of microscopy and culture remain essential to diagnostic certainty, but some innovations replace daily the older techniques such as the identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatography or mass spectrometry MALDI-TOF type from positive cultures, or susceptibility testing in liquid medium. New tools that use molecular techniques have become important. They all have in common to optimize the fight against tuberculosis by reducing diagnostic delay. They also allow rapid detection of drug resistance. However, the techniques of gene amplification directly from clinical samples are still less sensitive than culture. Bacteriological diagnosis of tuberculosis disease therefore still relies on the complementarities of different phenotypic and molecular techniques.

© 2014 Société nationale française de médecine interne (SNFMI). Published by Elsevier Masson SAS.

Este é um artigo Open Access sob a licença de [CC BY-NC-ND](#)

1. Introduction

La tuberculose est une maladie contagieuse qui reste d'actualité dans les pays développés comme la France où, bien qu'elle recule depuis quelques années, elle n'est pas une maladie éradiquée avec près de 5000 nouveaux cas de tuberculose maladie déclarés chaque année. Les deux régions les plus touchées sont l'Île de France et la Guyane [1]. Les patients les plus à risque ont la particularité d'être

* Auteur correspondant.

Adresses e-mail : florence.doucet-populaire@abc.aphp.fr, florence.doucet-populaire@u-psud.fr (F. Doucet-Populaire).

sans domicile fixe ou nés à l'étranger, notamment dans des pays à forte prévalence de tuberculose. En 2011, les formes pulmonaires représentaient 73 % des cas de tuberculose maladie.

Le diagnostic de tuberculose pulmonaire repose sur l'isolement de bacilles acido-alcoolo-résistant (BAAR) à l'examen direct des expectorations ou sur l'isolement en culture de mycobactéries du complexe *tuberculosis* (MCT). En 2010, en France, 49 % des tuberculoses pulmonaires étaient bacillifères [1]. Le diagnostic des tuberculoses extra-pulmonaires est moins aisé dépendant, d'une part, de la difficulté d'obtention de matériel par geste invasif (biopsie osseuse, liquide céphalorachidien, biopsie hépatique, etc.), mais aussi d'une documentation bactériologique parfois difficile (inoculum bactérien moindre). Le diagnostic est le plus souvent présomptif reposant sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques, histologiques, biologiques, voire sur une évolution jugée favorable sous traitement antituberculeux, les cultures restant parfois négatives [2]. L'analyse de l'évolution radiologique n'étant pas codifiée, la persistance d'anomalies radiologiques sous ou en fin de traitement reste difficile à interpréter.

Le diagnostic de certitude d'une tuberculose maladie repose toujours sur l'identification des mycobactéries du complexe *tuberculosis*. Le diagnostic bactériologique conventionnel, qui reste d'actualité, comprend différentes étapes que sont l'examen microscopique, la culture, l'identification et l'antibiogramme.

En ce qui concerne les domaines de la microscopie et de la culture, peu de nouveautés ont permis ces 10 dernières années d'optimiser le diagnostic bactériologique de tuberculose maladie. Les innovations portent essentiellement sur le développement de nouveaux outils de biologie moléculaire qui offrent le double avantage d'accélérer le diagnostic de tuberculose maladie et la détection de la résistance aux antituberculeux.

Dans son plan de lutte contre la tuberculose, l'Organisation Mondiale de la santé (OMS) s'est fixée différents objectifs dont deux sont très étroitement liés aux développements de nouveaux outils de diagnostic microbiologique. Il s'agit tout d'abord de réduire le délai de diagnostic afin de limiter le nombre de cas contacts et donc la propagation du bacille de Koch. En effet, les délais de prise en charge en France peuvent être longs, avec 97 jours en moyenne entre le 1^{er} symptôme et le diagnostic, dont un délai moyen de 47 jours entre le 1^{er} symptôme et le premier contact avec le système de soins [3]. L'autre objectif est d'accélérer la détection de la résistance aux antituberculeux. Parmi les écueils à éviter, la non-détection d'une résistance préexistante est très importante car pouvant mettre en jeu le pronostic mais aussi participer à la dissémination de souches résistantes. On distingue la résistance primaire de la résistance secondaire. La résistance primaire concerne des souches résistantes à un antituberculeux avant la mise sous traitement. La résistance secondaire est une résistance acquise après un traitement mal adapté ou mal suivi ayant entraîné la sélection de souches résistantes. Cette résistance secondaire concerne la majorité des souches multirésistantes (*multi drug resistant* [MDR]), c'est-à-dire résistante simultanément à au moins l'isoniazide et la rifampicine, et des souches ultra-résistantes (*extensively drug resistant* [XDR]), définies comme résistantes à l'isoniazide et à la rifampicine, ainsi qu'au moins à une fluoroquinolone et à un des antituberculeux de seconde ligne injectables (amikacine, kanamycine, capréomycine). L'OMS estime à 450 000 le nombre de personnes touchées par une tuberculose multirésistante (MDR-TB), soit 5 % des cas mondiaux de tuberculose signalés en 2012 ; la Chine, l'Inde et la Russie étant les pays les plus touchés (*WHO, global tuberculosis report, 2013*). En France, cette pharmacorésistance reste peu fréquente, il y a moins de 100 nouveaux cas de MDR par an et moins de 5 XDR [4].

L'objectif de cet article est de faire un point sur la place des nouvelles technologies utilisées dans le diagnostic bactériologique de tuberculose maladie. Ces innovations se substituent au quotidien aux techniques plus anciennes comme, par exemple,

l'identification biochimique ou l'antibiogramme en milieu solide, et ont toutes pour point commun d'optimiser la lutte contre la tuberculose en diminuant le délai diagnostique. Un algorithme du diagnostic bactériologique de la tuberculose maladie est proposé dans la Fig. 1.

Un autre challenge repose, chez l'adulte, sur la prise en charge des tuberculoses extra-pulmonaires et le développement de biomarqueurs de tuberculose active aussi bien pour le diagnostic, que le suivi de la réponse thérapeutique en termes de guérison et de rechute [5,6].

2. Conduite du diagnostic direct au laboratoire

Le traitement des échantillons pour recherche de mycobactéries suit toujours le même processus en vue d'un double objectif :

- d'une part, de pratiquer un examen permettant de fournir une réponse rapide. L'examen microscopique à la recherche de BAAR est le plus courant. En fonction du contexte, d'autres méthodes pourront également être mises en œuvre ;
- d'autre part, de procéder à une mise en culture, avec des délais de réponse prolongés, qui aura pour mérite de sensibiliser le diagnostic mais aussi d'isoler la bactérie. Il sera alors possible de l'identifier, de mesurer sa sensibilité aux antibiotiques et éventuellement de procéder à des études d'ordre épidémiologique.

La manipulation des mycobactéries, en particulier celles appartenant au complexe *tuberculosis*, n'est pas dénuée de risque pour le personnel du laboratoire. Elle doit être faite dans un laboratoire convenablement équipé répondant à des critères de sécurité adéquats. Les installations de niveau de confinement 3 sont préconisées.

2.1. Examen microscopique

Depuis plus de 125 ans, l'examen microscopique direct demeure un outil très simple et rapide renseignant sur la présence de BAAR dans les échantillons biologiques [7]. Dans la démarche diagnostique de tuberculose pulmonaire associée à des signes clinico-radiologiques, voire histologiques, l'examen direct renseigne sur le caractère bacillifère et donc contagieux du patient, permettant ainsi de conforter voire d'imposer l'isolement respiratoire du patient et de dépister les éventuels contacts.

Cette étape clé repose le plus souvent sur une coloration fluorescente à l'auramine, plus sensible que celle de Ziehl-Neelsen (coloration de référence) [8]. La lecture après coloration à l'auramine, requiert un microscope à lampe à mercure, supplantée récemment par l'utilisation de *light emitting diode* (LED), moins coûteuse, plus robuste et de performance identique [9]. Les BAAR apparaissent sous forme de bacilles verts fluorescents sur fond rouge pour les frottis colorés à l'auramine et rosés sur fond bleu après coloration de Ziehl-Neelsen.

Le résultat microscopique est un résultat quantitatif dénombrant le nombre de BAAR par frottis ou par champ selon la standardisation du *centers for disease control and prevention* (CDC), Atlanta, USA.

Le seuil de détection microscopique est de l'ordre de 10⁴ BAAR/mL d'échantillon. La sensibilité est variable en fonction du type de prélèvement : 10–20 % pour les prélèvements extra-pulmonaires et 65 % pour les pulmonaires [10]. De ce fait, un examen direct négatif permet d'exclure l'éventualité d'un cas bacillifère ou très bacillifère mais n'exclut en aucun cas le fait que le patient puisse être pauci-bacillifère et donc éventuellement contagieux. Un examen microscopique négatif n'élimine pas un

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/5999870>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/5999870>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)