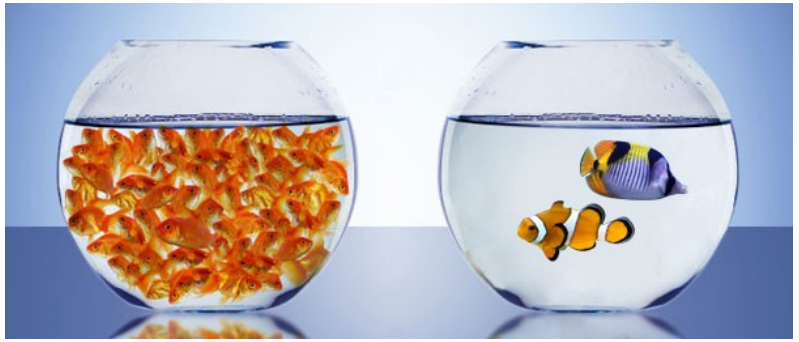
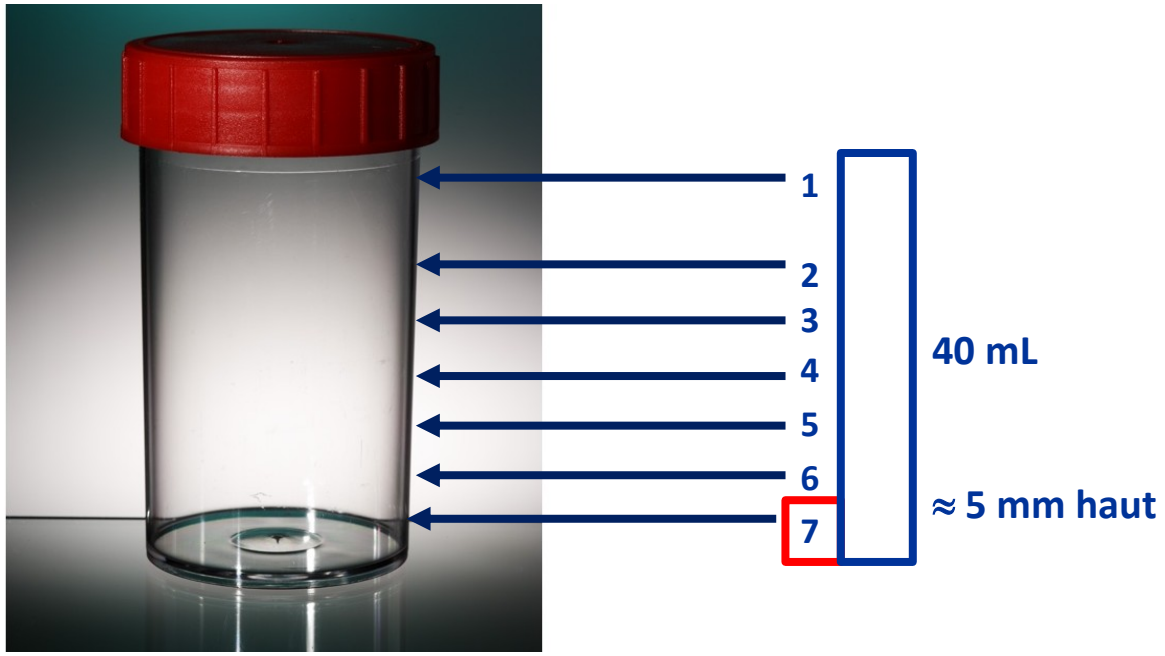
L’aventure bactériologique : du prélèvement à l’identification du BK

Pr Nadine Lemaitre

Service de Bactériologie, GH Pitié-Salpêtrière

Les prélèvements : expectoration spontanée quantité, qualité





- Expectoration > 5 mL Se=**92%,** <5mL Se=72%
- Education patient → amélioration de la qualité du prélèvement et de la sensibilité

Au moins 5 mL d'une expectoration de qualité

Warren AJRCCM 2000, Alisjahbana, IJTLD 2005 ; Kahn Lancet 2007

Expectoration spontanée : combien ?

- Apport mineur de la 3ème expectoration pour la sensibilité de la microscopie
- Majorité de cultures positives avec 2 prélèvements
- VPN inchangée avec une 3ème expectoration

2 expectorations de bonne qualité suffisent

Nelson, JCM 1998; Mathew, JCM 2002; Mase, IJTLD 2007

Que faire chez les patients n'expectorant pas ?

- **Expectoration induite > tubages**
  - Zar HJ, Hanslo D, Apolles P, Swingler G, Hussey G. Lancet. 2005 Jan 8-14;365(9454):130-4.
  - Brown M, Varia H, Bassett P, Davidson RN, Wall R, Pasvol G. Clin Infect Dis. 2007 Jun 1;44(11):1415-20.

- **Expectoration induite = LBA et LBA > tubages**
  - Brown M, Varia H, Bassett P, Davidson RN, Wall R, Pasvol G. Clin Infect Dis. 2007 Jun 1;44(11):1415-20.
  - Conde MB, Soares SL, Mello FC, Rezende VM, Almeida LL, Reingold AL, Daley CL, Kritski AL. Am J Respir Crit Care Med. 2000 Dec;162(6):2238-40.
  - Anderson C, Inhaber N, Menzies D. Am J Respir Crit Care Med. 1995 Nov;152(5 Pt 1):1570-4.
  - Rizvi N, Rao NA, Hussain M. Int J Tuberc Lung Dis. 2000 Feb;4(2):147-51.

- **Une étude contradictoire expectoration induite = tubages = LBA**
  - Bell DJ, Dacombe R, Graham SM, Hicks A, Cohen D, Chikaonda T, French N, Molyneux ME, Zijlstra EE, Squire SB, Gordon SB. Int J Tuberc Lung Dis. 2009 Jan;13(1):99-104.

- Probable intérêt des expectorations post-fibroscopie
  - George PM, Mehta M, Dhariwal J, Singanayagam A, Raphael CE, Salmasi M, Connell DW, Molyneaux P, Wickremasinghe M, Jepson A, Kon OM. Respir Med. 2011 Nov;105(11):1726-31.

Diagnostic conventionnel en mycobactériologie, les étapes

J0
Prélèvements
examen microscopique

J5-M3
culture / identification

M1-2
antibiogramme



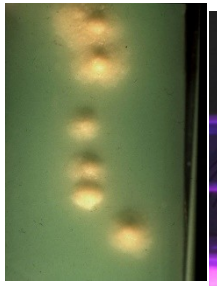


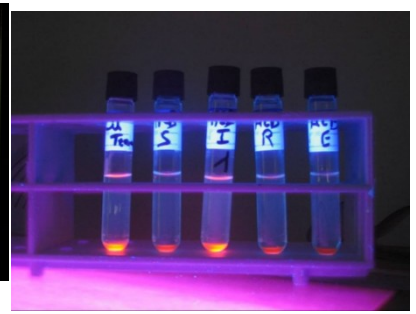


Manipulation sous
Poste de
Sécurité
Microbiologique



Masque FFP2 en permanence







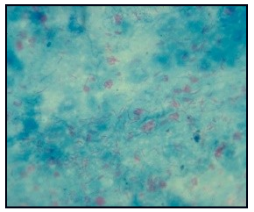
Examen microscopique, étape clé

J0
examen microscopique

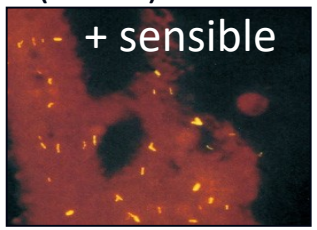
J5-M3
culture / identification

M1-2
antibiogramme

Ziehl Neelsen (x1000)
(15 min)



Auramine (x250)
(3 min)



Positif chez ~ 40% malades en France
Seuil = $5x10^3$-10^4 bacilles/ml

Rappel = il n'y a pas que *M. tuberculosis* qui est un BAAR, il y a aussi les mycobactéries « atypiques » ou non tuberculeuses

Diagnostic conventionnel en mycobactériologie
Les limites

J0
examen microscopique

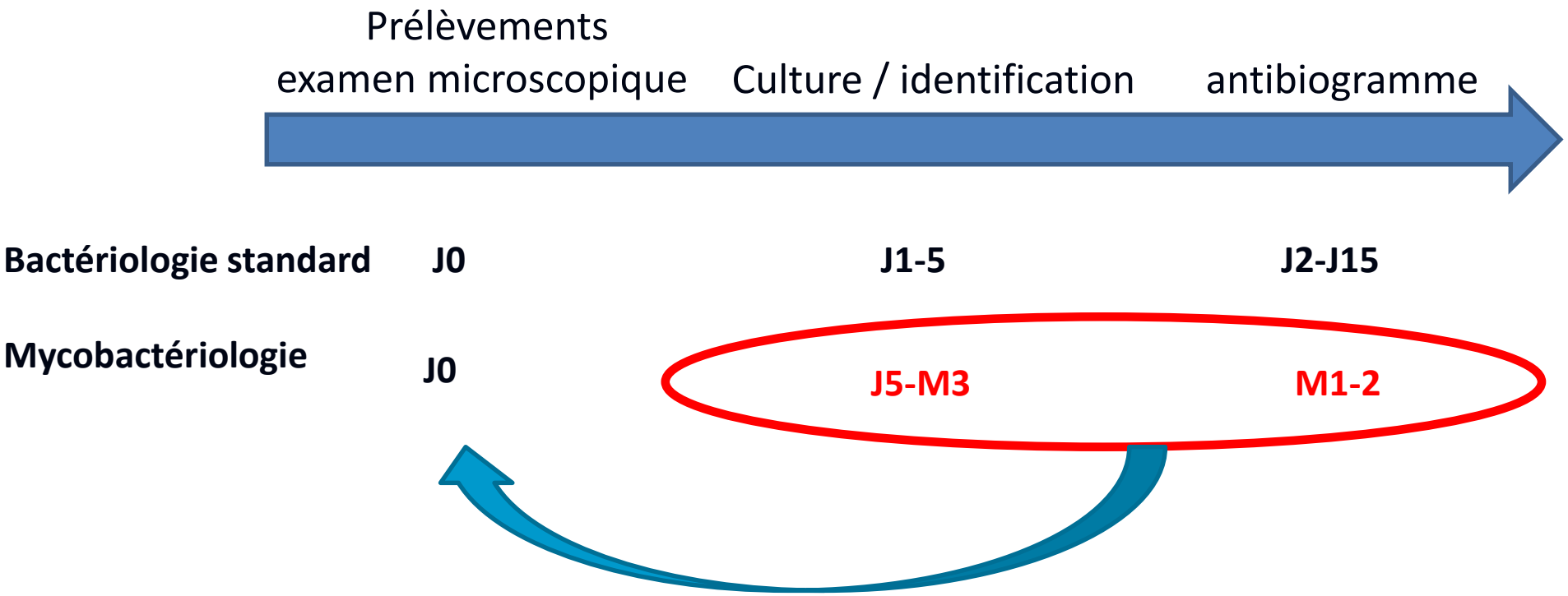
J5-M3
culture / identification

M1-2
antibiogramme

Rappel = il n'y a pas que *M. tuberculosis* qui est un BAAR, il y a aussi les mycobactéries « atypiques » ou non tuberculeuses



Diagnostic en mycobactériologie, les étapes



Méthodes plus rapides ?

CAT en cas de premier résultat bactériologique (EM ou culture) en faveur de TB

Laboratoire de biologie médicale

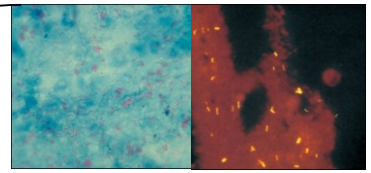
- **Microscopie et Culture**
- **Si M+** (ou M- Culture +) : **tests moléculaires d'identification et de détection de la résistance à la rifampicine (R) et à l'isoniazide (H)** (si impossible, envoi à laboratoire avec

HCSP 2014

72 heures

Identification
(+ résistance) moléculaire

- inactivation de la souche
- extraction des acides nucléiques





Antigène MPT64

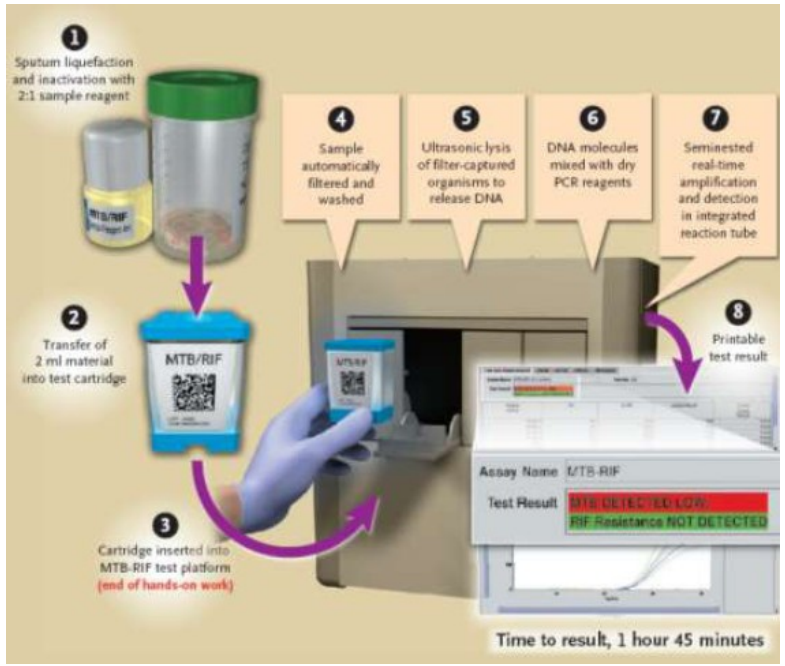


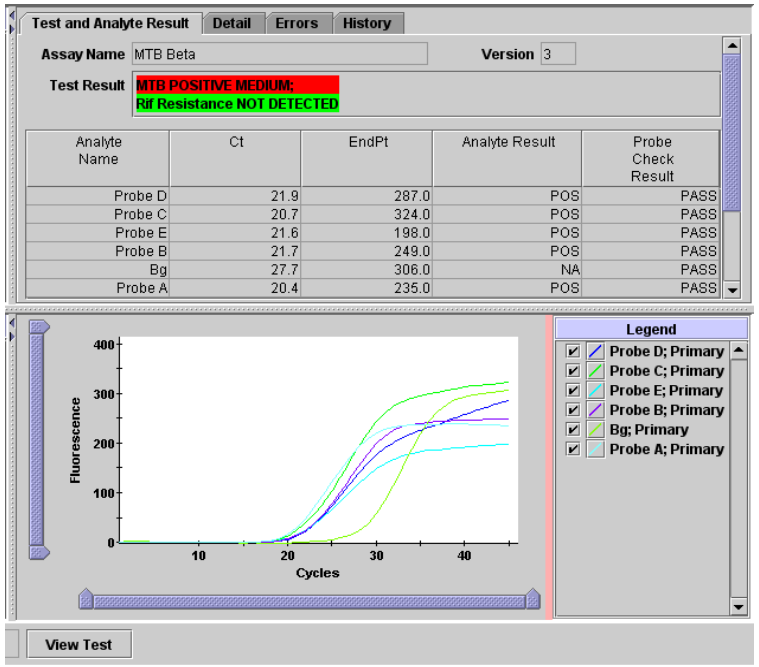
The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

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.





Résultat en 2 heures !

> 130 pays - 23 millions GeneXpert tests

(Callaway, Nature, 2017)

Performances de la PCR directe en fonction de l'examen microscopique

Tuberculose	Sensibilité	Spécificité	Prévalence	VPP	VPN
Ex. micr +	**98%**	**98%**	**85%**	**98%**	**90%**
Ex. micr -	72%	96%	?	?	?
Extra-respiratoire (ex. micr -)	30%	98%	?	?	?

Performances améliorables ?

Sarmiento JCM 2003; Boehme NEJM 2010



Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study

Lancet Infect Dis 2018; 18: 76–84

Rationnel technique = amplification de 2 séquences d'insertion en multicopie vs 1 gène en 1 copie et chambre réactionnelle plus grande

	Sensitivity		Specificity		
	All culture-positive (95% CI; n/N) *	Smear-negative, culture-positive (95% CI; n/N)	All culture-negative (95% CI; n/N)	No history of tuberculosis (95% CI; n/N)	Any history of tuberculosis (95% CI; n/N)
Xpert	83% (79–86; 383/462)	46% (37–55; 63/137)	98% (97–99; 960/977)	98% (97–99; 715/727)	98% (95–99; 244/249)
Xpert Ultra	88% (85–91; 408/462)	63% (54–71; 86/137)	96% (94–97; 934/977)	96% (95–98; 701/727)	93% (89–96; 232/249)

* 1/3 TB ; 1/3 résistant rifampicine

Xpert MTB/RIF Ultra assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and adolescents (Review)

Cochrane Database of Systematic Reviews 2025
DOI: 10.1002/14651858.CD009593.pub6.

Analysis	Reference standard	Number of studies (participants)	Number (%) with target condition	Summary sensitivity (95% CI)	Summary specificity (95% CI)	Positive predictive value (95% CI)[a]	Negative predictive value (95% CI)[a]
Pulmonary tuberculosis detection							
Main	MRS	32 (12,529)	3130 (25.0)	90.7 (88.2 to 92.7)	94.8 (92.8 to 96.3)	66.1 (57.7 to 73.6)	98.9 (98.6 to 99.2)
Smear negative	MRS	16 (6460)	905 (14.0)	80.7 (75.4 to 85.0)	94.0 (91.3 to 95.9)	59.9 (49.2 to 69.6)	97.8 (97.1 to 98.3)
Smear positive	MRS	16 (12,95)	1222 (94.4)	98.8 (98.0 to 99.3)	—	—	—

Peu d'amélioration de la sensibilité en 15 ans même avec PCR « ultra »

Limites de la PCR directe : prévalence dans la population

Laboratoire de bactériologie Pitié-Salpêtrière :10 000 pvts/400 C+
(prévalence de C+ =4%)

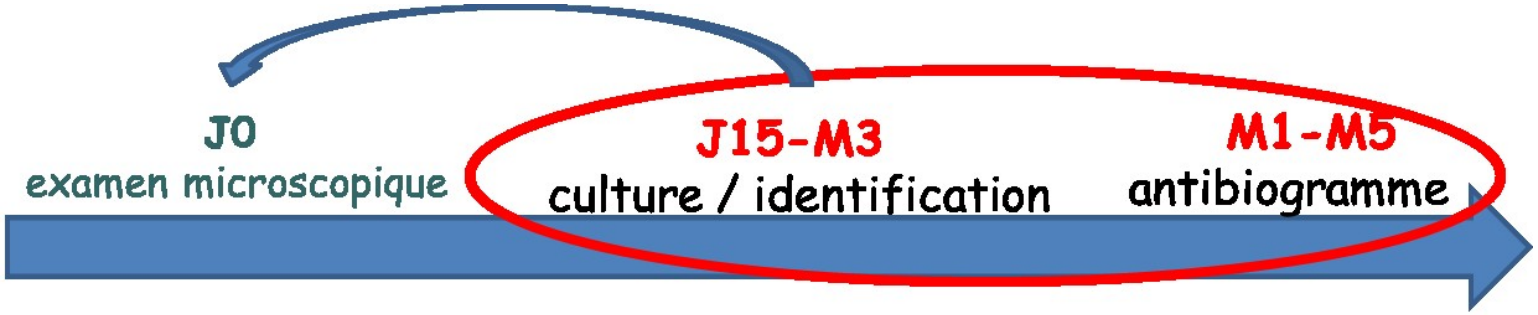
	TB active	Pas malade
	4	96
Xpert ultra +	3,64 (4 x 91%)	4,8 (96 x 5%)
Xpert ultra -	0,36 (4 x 9%)	91,2 (96 x 95%)

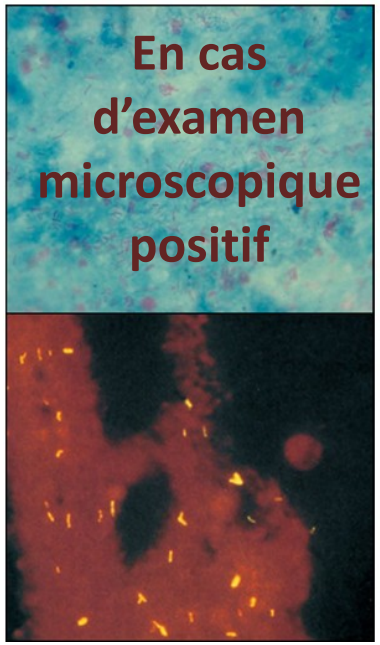
Sensibilité : **91%** (75% - 93%)
Spécificité : **95%** (93% - 96%)

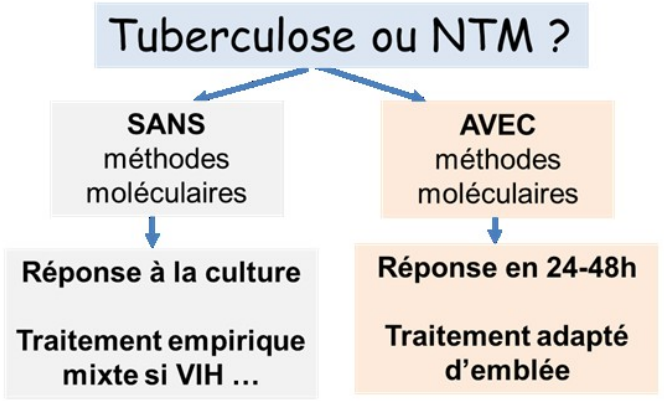
VPP = **43% (VP/VP+FP)**
VPN = 95% (VN/VN+FN)

VPP améliorée si test réalisé en cas de FDR de TB (ex. HIV+ et SDF (RR 300)), toux > 2 semaines (RR 4), RP anomale …)

Apport de la PCR dans le diagnostic de la tuberculose ?









⇒ méthodes moléculaires n'ont pas révolutionné le diagnostic de la tuberculose, mais ont transformé les méthodes d'identification au laboratoire et donc améliorent la prise en charge des patients

Diagnostic de la tuberculose : pour résumer…



Suspicion TB (clinique, radiologie, contexte)

Identifier les formes les plus contagieuses : examen microscopique — J1

M+ / M-

Amplification génique — J1-2
- M+ : Oui
- M- : Non

Culture — 3 sem
- M+ : Oui
- M- : Oui

Identification / Antibiogramme

+ 1-2 j **Moléculaire** — Identification, Détection génétique de la résistance

Classique — Antibiogramme phénotypique — ≥ 3 sem