

# DETECTION MOLECULAIRE DE LA RESISTANCE DES MYCOBACTERIES DU COMPLEXE *TUBERCULOSIS* A LA RIFAMPICINE SUR PRELEVEMENTS RESPIRATOIRES NEGATIFS A L'EXAMEN MICROSCOPIQUE (EM-): COMPARAISON DES TROUSSES MTBDR PLUS VERSION 2 ET XPERT MTB/RIF

**Trombert-Paolantoni S<sup>(1)</sup>, Gros I<sup>(2)</sup>, Figarella P<sup>(1)</sup>.**

<sup>(1)</sup>Laboratoire Cerba, Microbiologie, Cergy-Pontoise, France

<sup>(2)</sup>Centre Hospitalier Général Delafontaine, Microbiologie, Saint-Denis, France

## OBJECTIF

Parmi les tuberculoses pulmonaires déclarées en France en 2009, près de la moitié (47 %) avaient un examen microscopique négatif (EM-). La résistance à l'isoniazide et à la rifampicine, définissant la multirésistance, représentait 2,1 % des cas de tuberculose mais était 5 fois plus élevée en cas d'antécédent de traitement antituberculeux et 3 fois plus fréquentes pour les malades nés à l'étranger en comparaison des malades nés en France (3,2 % vs 0,8 %)<sup>(1)</sup>. En raison de la fréquente association entre résistance à la rifampicine et résistance à l'isoniazide, les tests d'amplification génique permettant la détection des mycobactéries du complexe *tuberculosis* et des mutations du gène *rpoB* présentent un intérêt dans la détection rapide des tuberculoses multirésistantes. Récemment, une nouvelle version de la trousse MTBDRplus a été commercialisée visant à étendre la recherche moléculaire de résistance aux prélèvements EM-.

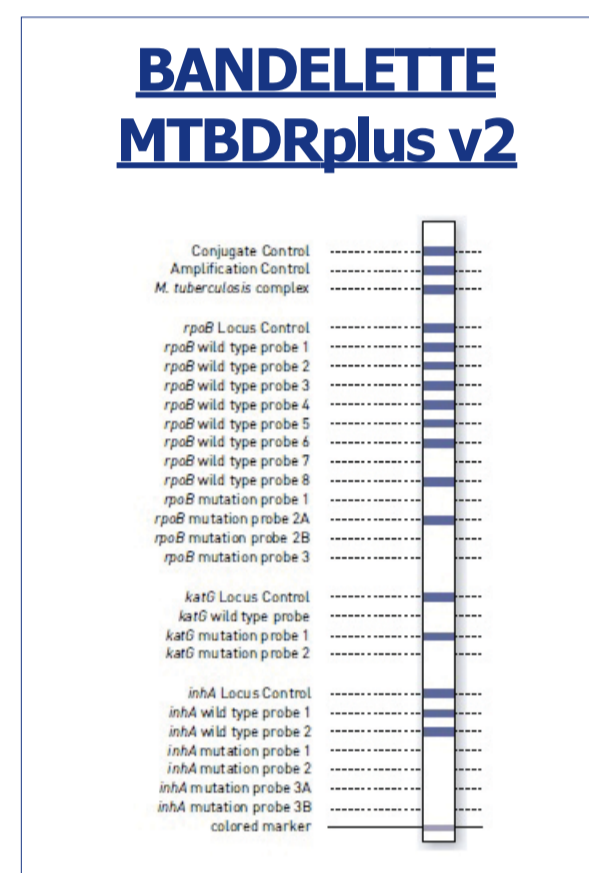
L'objectif de cette étude était de comparer, par rapport à la culture et à l'antibiogramme, les performances des trousse MTBDRplusv2 et Xpert MTB/RIF sur prélèvements respiratoires négatifs à l'examen microscopique et positifs en culture.

## METHODES

Vingt-neuf prélèvements respiratoires (expectorations : n=20, tubages gastriques : n=7, aspirations bronchiques : n=2) de 22 malades ont été décontaminés par la N-acétyl-L-cystéine additionnée de soude. Après examen microscopique des frottis à l'auramine, chaque échantillon a été ensemencé sur milieu solide (Coletsos) et liquide (MGIT, Bactec 960). L'identification des espèces au sein du complexe *tuberculosis* a été réalisée par amplification génique suivie d'une hybridation à des sondes ADN sur bandelette avec le kit Genotype MTBC (HAIN, Lifescience). Les cibles de la technique sont l'ARNr23S (complexe *tuberculosis*), la région RD1 (*M. bovis*) et le gène *gyrB* (identification des espèces autres que *bovis* au sein du complexe *tuberculosis*).

L'antibiogramme a été réalisé en milieu liquide (MGIT) aux concentrations critiques, de respectivement, 1 mg/L pour la rifampicine et de 4 mg/L pour l'isoniazide. Parmi les 29 souches testées, 6 avaient un profil de multirésistance, 20 étaient sensibles à l'isoniazide et à la rifampicine et 3 étaient résistantes à l'isoniazide et sensibles à la rifampicine.

Les tests d'amplification génique avec les trousse MTBDRplusv2 (HAIN, Lifescience) et Xpert MTB/RIF (Cepheid) ont été effectués à partir du même prélèvement décontaminé selon les recommandations du fournisseur. La trousse MTBDRplus cible le gène *katG* et le promoteur du gène *inhA* pour, respectivement, la résistance de haut niveau et de bas niveau à l'isoniazide et la région située entre les codons 505 à 533 du gène *rpoB* pour la résistance à la rifampicine. La trousse Xpert MTB/RIF cible, à l'aide de 5 sondes, une séquence de 81 paires de base du gène *rpoB*.



## RESULTATS

**TABLEAU 1 :** Sensibilité des 2 tests d'amplification génique pour la détection des mycobactéries du complexe *tuberculosis* en comparaison de la culture : n=29

	MTBDRplus v2	Xpert MTB/RIF
Proportion de tests positifs pour le complexe <i>tuberculosis</i>	26/29	28/29

**TABLEAU 2 :** Sensibilité des 2 tests d'amplification génique pour la détection du complexe *tuberculosis* et de la résistance à la rifampicine en comparaison de l'antibiogramme en milieu liquide : n=6

	MTBDRplus v2	Xpert MTB/RIF
Proportion de tests détectant le complexe <i>tuberculosis</i> et la résistance à la rifampicine	6/6	6/6

**TABLEAU 3 :** Sensibilité des 2 tests d'amplification génique pour la détection du complexe *tuberculosis* et de la sensibilité à la rifampicine en comparaison de l'antibiogramme en milieu liquide : n=23

	MTBDRplus v2	Xpert MTB/RIF
Proportion de tests détectant le complexe <i>tuberculosis</i> et la sensibilité à la rifampicine	17/23	22/23

**TABLEAU 4 :** Spécificité des 2 tests pour la détection du complexe *tuberculosis* et de la sensibilité à la rifampicine en comparaison de l'antibiogramme en milieu liquide : n=23

	MTBDRplus v2	Xpert MTB/RIF
Proportion de tests rendus mutés <i>rpoB</i> parmi les souches sensibles à la rifampicine à l'antibiogramme	1/23	0/23

## DISCUSSION

La résistance à la rifampicine, à partir du prélèvement, a été détectée par les trousse MTBDRplusv2 et Xpert MTB/RIF dans les 6 cas de souches multirésistantes. De plus, la trousse MTBDRv2 a correctement identifié la résistance de haut niveau à l'isoniazide dans les 6 cas.

Parmi les prélèvements dont la souche était sensible à la rifampicine, la trousse Xpert MTB/RIF a donné des résultats mieux corrélés aux données de l'antibiogramme, notamment en raison, pour MTBDRplusv2, d'une absence d'hybridation aux sondes de la bandelette pour 3 prélèvements, témoin probable d'une quantité insuffisante d'ADN. Dans un cas, le profil de MTBDRplusv2 présentait une mutation de *rpoB*, responsable d'une résistance génotypique à la rifampicine, non confirmée à l'antibiogramme. Le test moléculaire réalisé sur la souche avec la trousse MTBDRplusv2 montrait un profil sensible à la rifampicine, attestant du risque de rendu d'un résultat faussement positif pour la résistance à la rifampicine sur prélèvement EM-.

## CONCLUSION

Sur prélèvements respiratoires EM- sensibles à la rifampicine, la trousse Xpert MTB/RIF donne des résultats mieux corrélés aux données phénotypiques que la trousse MTBDRplusv2, possiblement liés à une meilleure purification et concentration des acides nucléiques.

L'existence de résultats faussement résistants à la rifampicine, décrite également dans la littérature, souligne les limites des tests moléculaires sur prélèvement EM-.

## BIBLIOGRAPHIE

Figoni J, Antoine D, Che D. Les cas de tuberculose déclarés en France en 2009. BEH. 2011 ; 2011/22 : 258-260

Van Rie A, Mellet K, John MA, Scott L, Page-Shipp L, Dansey H, Victor T, Warren R. False-positive rifampicin resistance on Xpert® MTB/RIF: case report and clinical implications. Int J Tuberc Lung Dis. 2012 ; 16/2 : 206-208