

Tuberculose pulmonaire  
Ce que le microbiologiste attend du  
clinicien et de l'infirmière  
Vice-versa...

Pr. JL Herrmann

Garches,

Université de Versailles St Quentin

# *Diagnostic Bactériologique*

Diagnostic définitif de la tuberculose :  
isolement et identification

Institution d'une antibiothérapie appropriée  
résultats de l'antibiogramme

Difficultés diagnostiques :  
liées aux mycobactéries (vitesse de croissance)  
liées à l'hôte (réponse immune)

# *Étapes du Diagnostic*

- recueil et transport des produits pathologiques
  - Homogénéisation
  - Décontamination
  - Examen microscopique
  - Identification biochimique ou moléculaire
  - Antibiogramme
- } Prélèvements contaminés

## *Modalités de Prélèvement*

- Avant tout traitement antimycobactérien
- Récipients stériles, à usage unique et à fermeture hermétique
- Acheminer si possible le plus rapidement possible
- Eviter la contamination par des mycobactéries de l'environnement

# *Questions*

- Quels échantillons prélevez-vous ?
- Combien ?
- Selon quelle séquence ?

- **Prélèvements pulmonaires:**
  - Expectations:
    - 3 jours de suite, le matin à jeun,
  - Tubages\*: neutralisation de l'acidité gastrique
  - Fibroscopie:
    - aspiration > lavage
  - Expectations post-fibroscopie (3)

\* = uniquement chez les non-expectorants

## 2 BK *versus* 3 BK

Méta-analyse de 37 études

	BK1	BK2	BK3
Rendement diagnostic sur les nombres de cas identifié avec un ED+	<b>85,8%</b>	<b>11,9%</b>	<b>2,3%</b> <b>(1,8-2,9)</b>
Sensibilité	<b>53,8%</b>	<b>+ 11,1%</b>	<b>+ 3,1%</b> <b>(2,1-4,2)</b>

# TUBERCULOSE PULMONAIRE

## Démarche diagnostique

- **Intérêt des BK post-fibroscopie**
  - Peu d'études
  - Diagnostic rapide :
    - Ex. direct + dans 28%-32% (6/19, seule source positive dans 10%) (Chanla 1988, Salzman 1992)
  - Diagnostic définitif par culture :
    - Culture + dans 46%-79% vs 53.8%-78% pour les expectorations avant fibroscopie (Chanla 1988, Salzman 1992, Caminero 1994)
    - Seul diagnostic dans 2 cas / 19 (Salzman 1992)

## Comparison of two methods for acquisition of sputum samples for diagnosis of suspected tuberculosis in smear-negative or sputum-scarce people: a randomised controlled trial.

Peter JG et al., Lancet Respir Med, 2013

adultes ( $\geq 18$  ans) atteints de tuberculose “présumée crachat-rare” ou microscopie négative; de trois cliniques de soins primaires à Cape Town, Afrique du Sud.

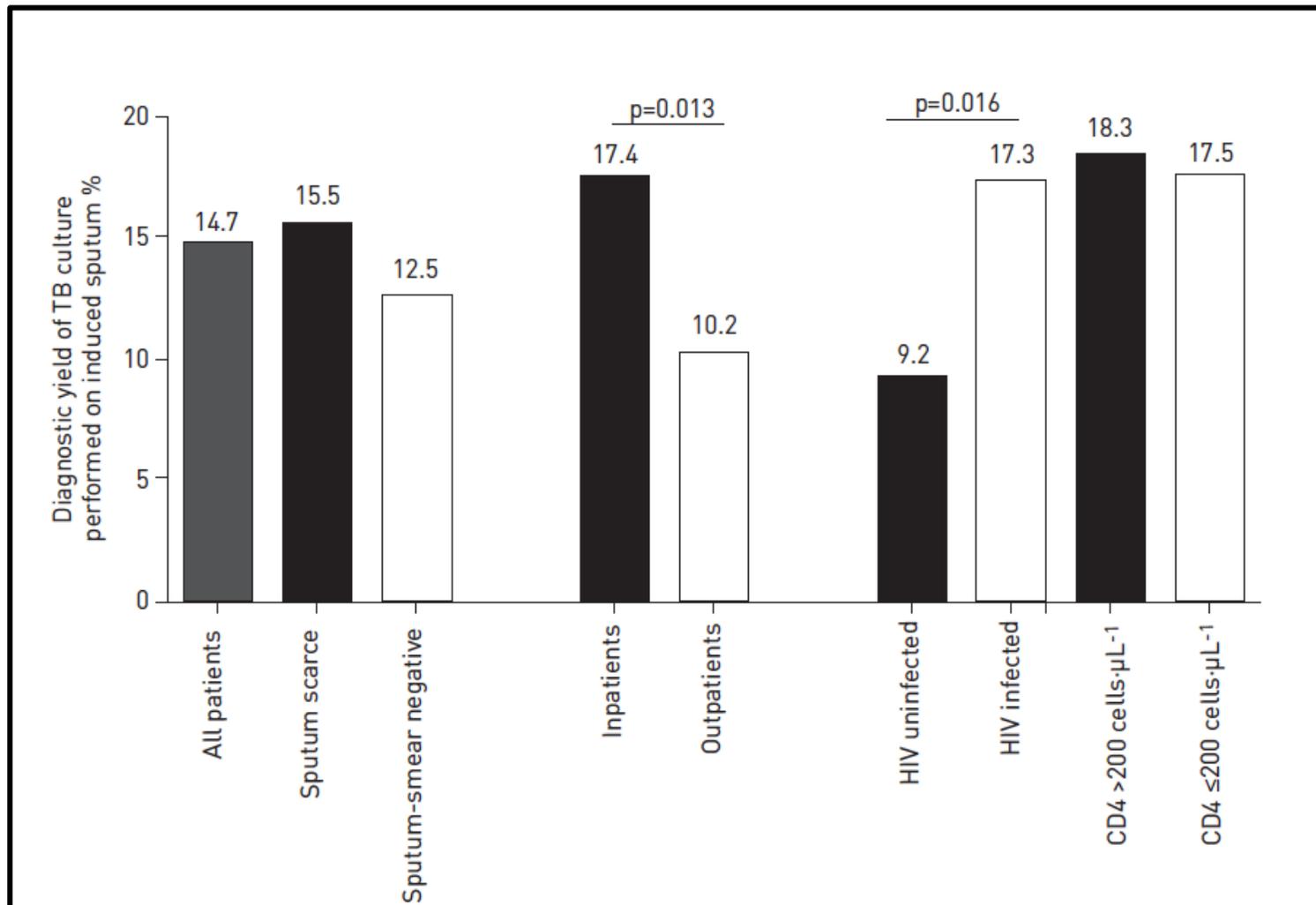
481 patients, dont 213 ont été assignés à “crachat spontané sous apprentissage” contre 268 assignés à crachats avec induction

1. patients qui ont commencé le traitement dans les 8 semaines après l'inscription:  
(Instrusct) **53/213** [25%] vs (ind)**73/268** [27%]; OR 0.88, 95% CI 0.57-1.36; p=0.56
2. Un échantillon de crachats adéquat  $\geq 1$  mL: **164/213** [77%] vs **238/268** [89%]; p<0.0001
3. Le taux de culture positive était plus faible: **24/213** [11%] vs **51/268** [19%]; p=0.020
4. dépistage de la tuberculose même jour était similaire dans les deux groupes:  
Microscopie (**13/213** [6%] vs **22/268** [8%]; p=0.38)  
Test Xpert-MTB/RIF (**13/89** [15%] vs **20/138** [14%]; p=0.98)

12% d'effets II chez les “crachats induits”; et le coût passe de **2.14** à **7.88** \$

# Sputum induction to aid diagnosis of smear-negative or sputum-scarce tuberculosis in adults in HIV-endemic settings.

Expectoration induite chez 696 patients avec un EM – ou l'impossibilité d'obtenir un BK crachat; 83% expectorations induites  $\geq 1$ ml



## Sputum induction to aid diagnosis of smear-negative or sputum-scarce tuberculosis in adults in HIV-endemic settings.

	All <sup>#</sup>	Outpatients	Inpatients
<b>Subjects</b>	485	190	295
<b>Sensitivity</b>	49 [39–59] 47/96	32 <sup>f</sup> [14–50] 8/25	55 <sup>f</sup> [43–67] 39/71
<b>Specificity</b>	98 [97–100] 383/389	99 [97–100] 164/165	98 [95–99] 219/224
<b>PPV</b>	89 [77–95] 47/53	89 [57–98] 8/9	89 [76–95] 39/44
<b>NPV</b>	89 [85–91] 383/432	91 [86–94] 164/181	87 [83–91] 219/251

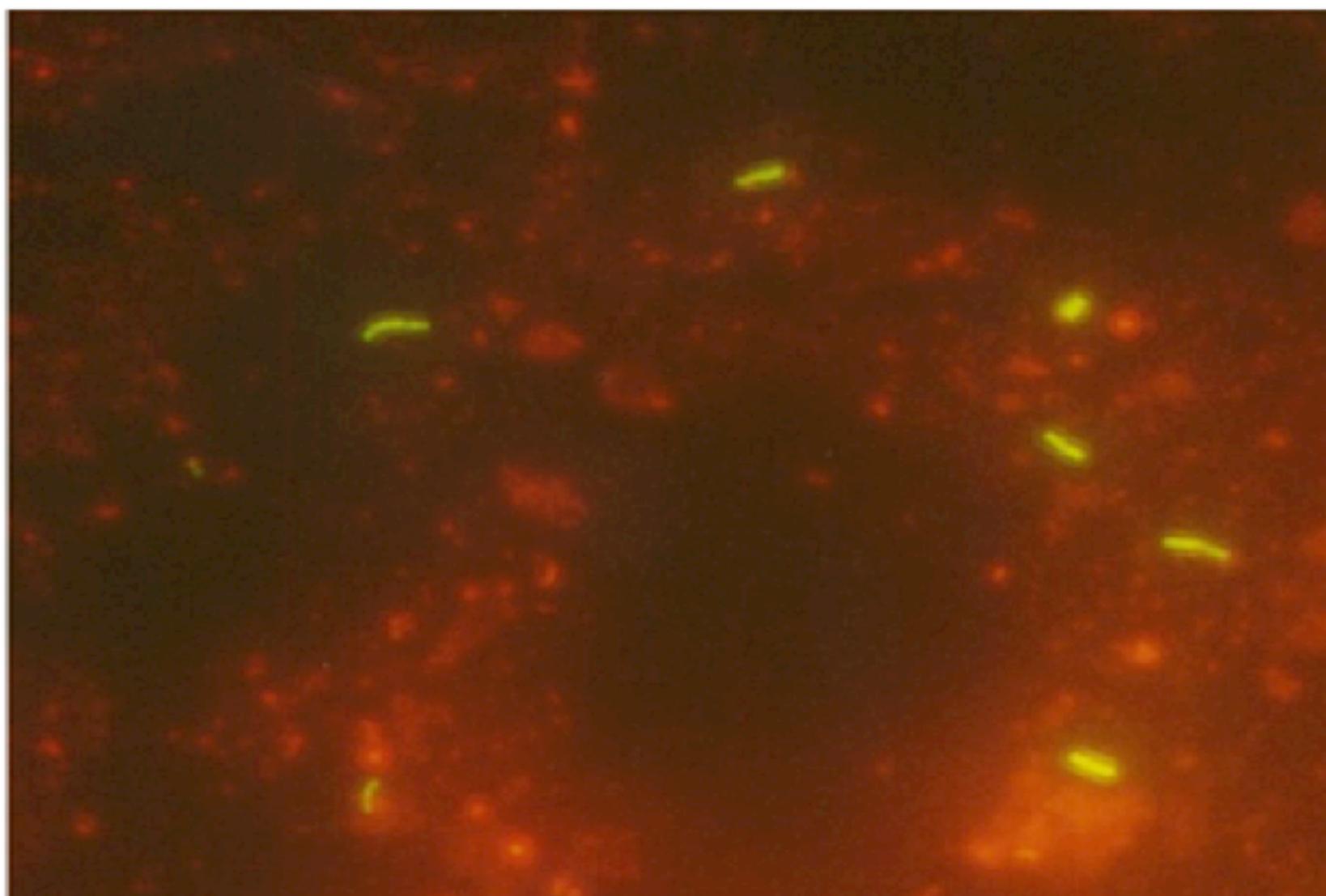
*29% (203 out of 696) of patients commenced anti-TB treatment and sputum induction offered microbiological confirmation and susceptibility testing in only 47% (96 out of 203).*

## *Traitement de l'échantillon*

- Décontamination Concentration
  - Elimination de la flore commensale
  - Méthode de Kubica:
    - Acétylcystéine-Soude (2% finale)
- Taux de contamination compris entre 2-5%

# *Examen Microscopique*

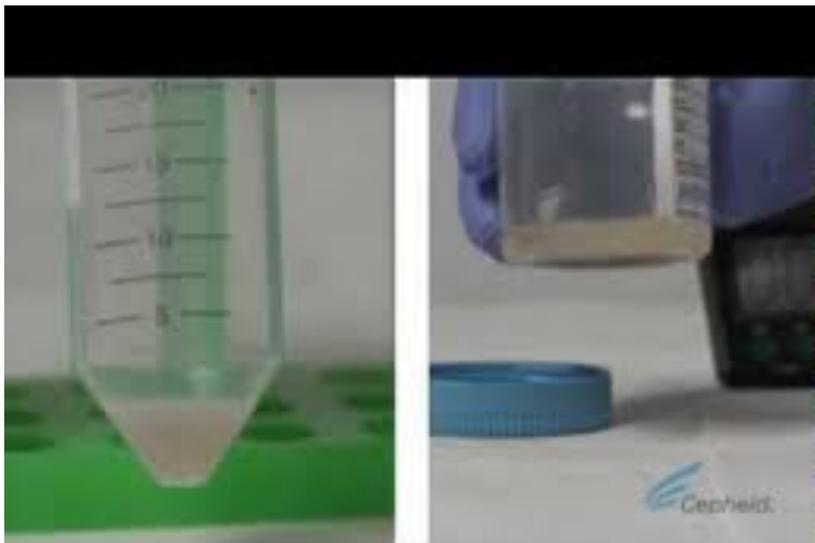
- Technique de Référence: Ziehl-Neelsen, fuschine phéniquée à chaud
- Méthode de Kinyoun = Ziehl à froid
- Coloration à l'Auramine (fluorescence)
- $\geq 10^4$  BAAR/ml pour avoir 95% de chances de voir 1 BAAR à l'examen microscopique
- Sensibilité varie entre 65 et 80%
- Spécificité de 95% chez sujets non VIH+



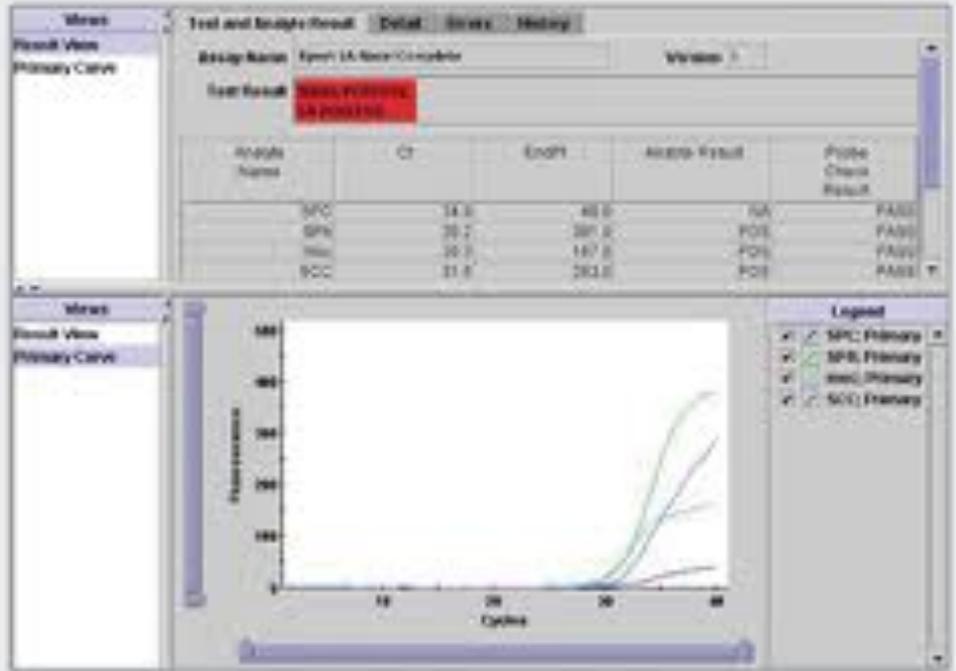
**Coloration d'un prélèvement biologique à l'auramine (07 BAAR/champ)**

# Diagnostic rapide par PCR temps réel

- Identification rapide de l'agent pathogène directement dans les échantillons cliniques
- Détection simultanément de la résistance à l'un des antituberculeux majeurs; la rifampicine
- 100% de sensibilité sur les examens microscopiques positifs
- Autour de 70-80% en cas d'examen microscopique négatif

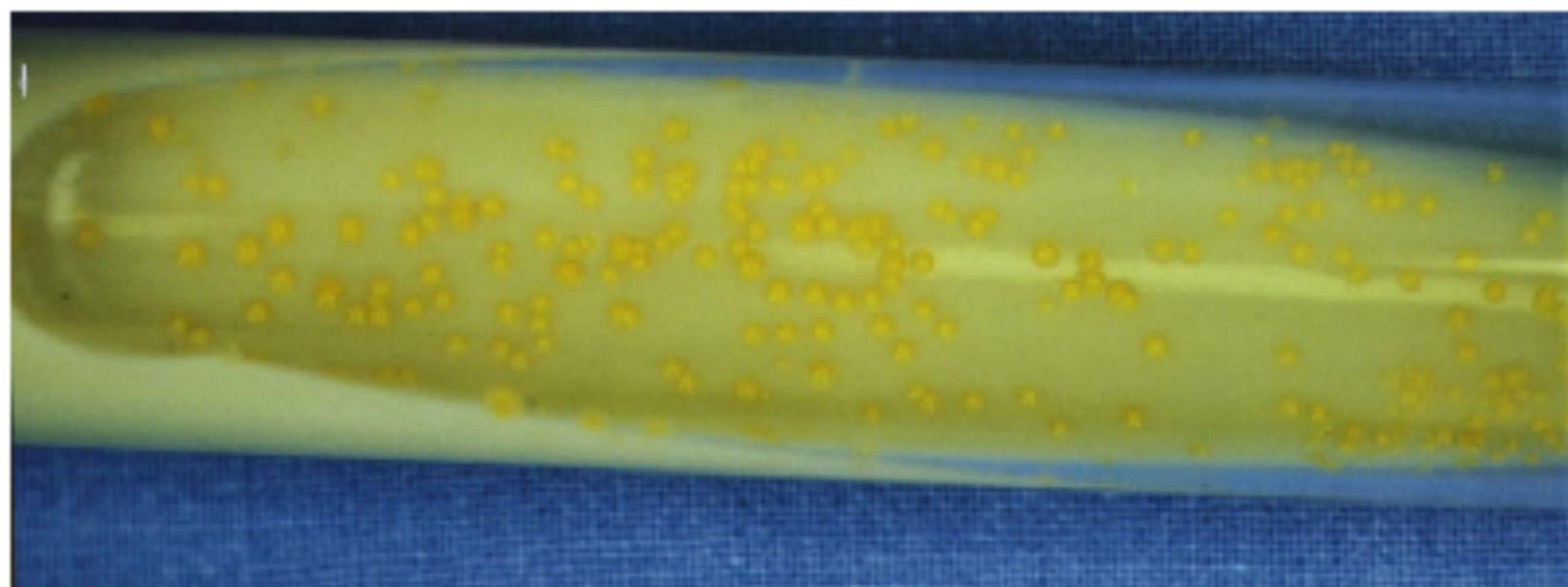


HOW SHOULD THIS RESULT BE REPORTED TO YOUR CLINICIANS?  
See answer below



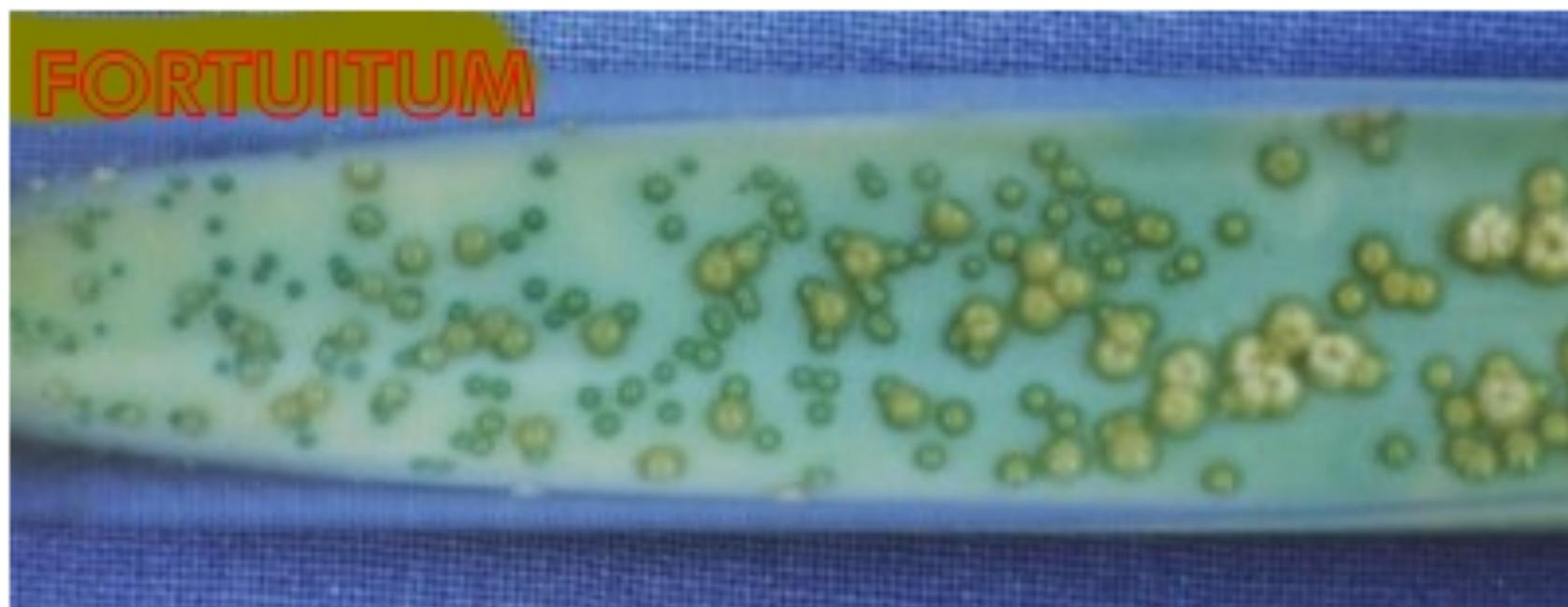


Culture de *M. tuberculosis* sur milieu jensen  
(colonies rugueuses eugoniques en "choux fleur")

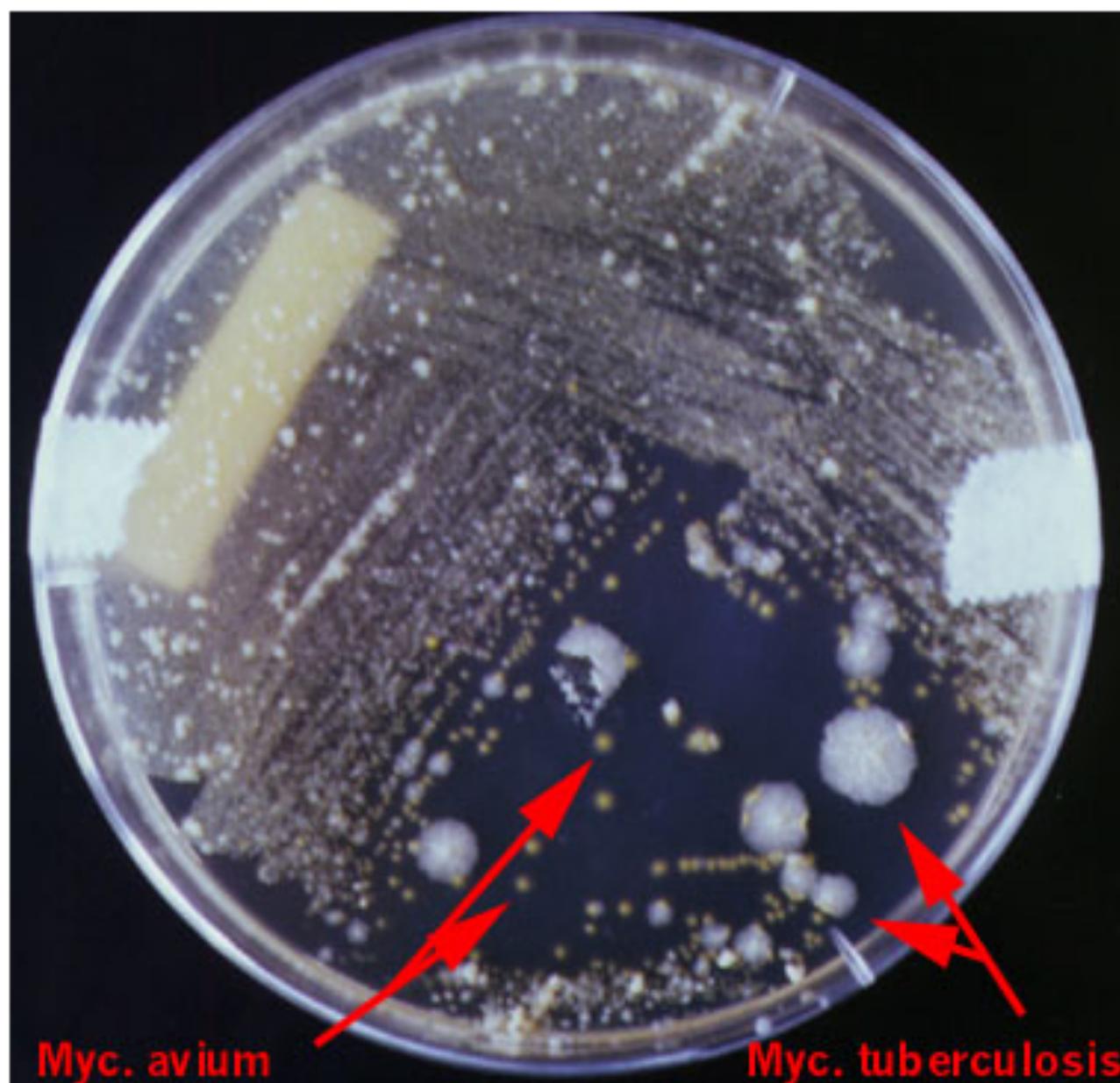


Culture de *M. xenopi* sur milieu jensen (petites colonies scotochromogènes "en tête d'épingle")

FORTUITUM



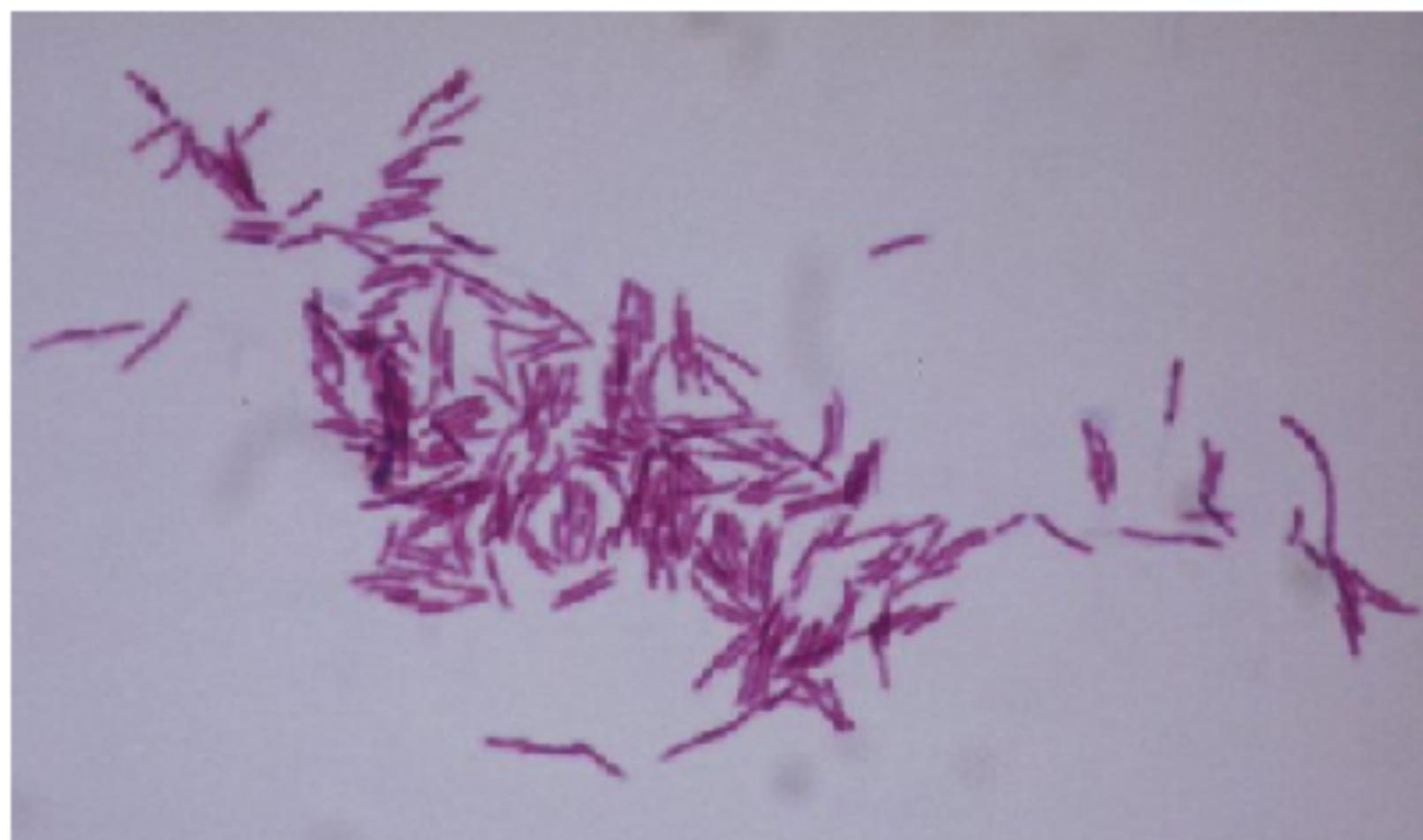
Culture de *M. fortuitum* sur milieu jensen  
(présence de colonies vertes)



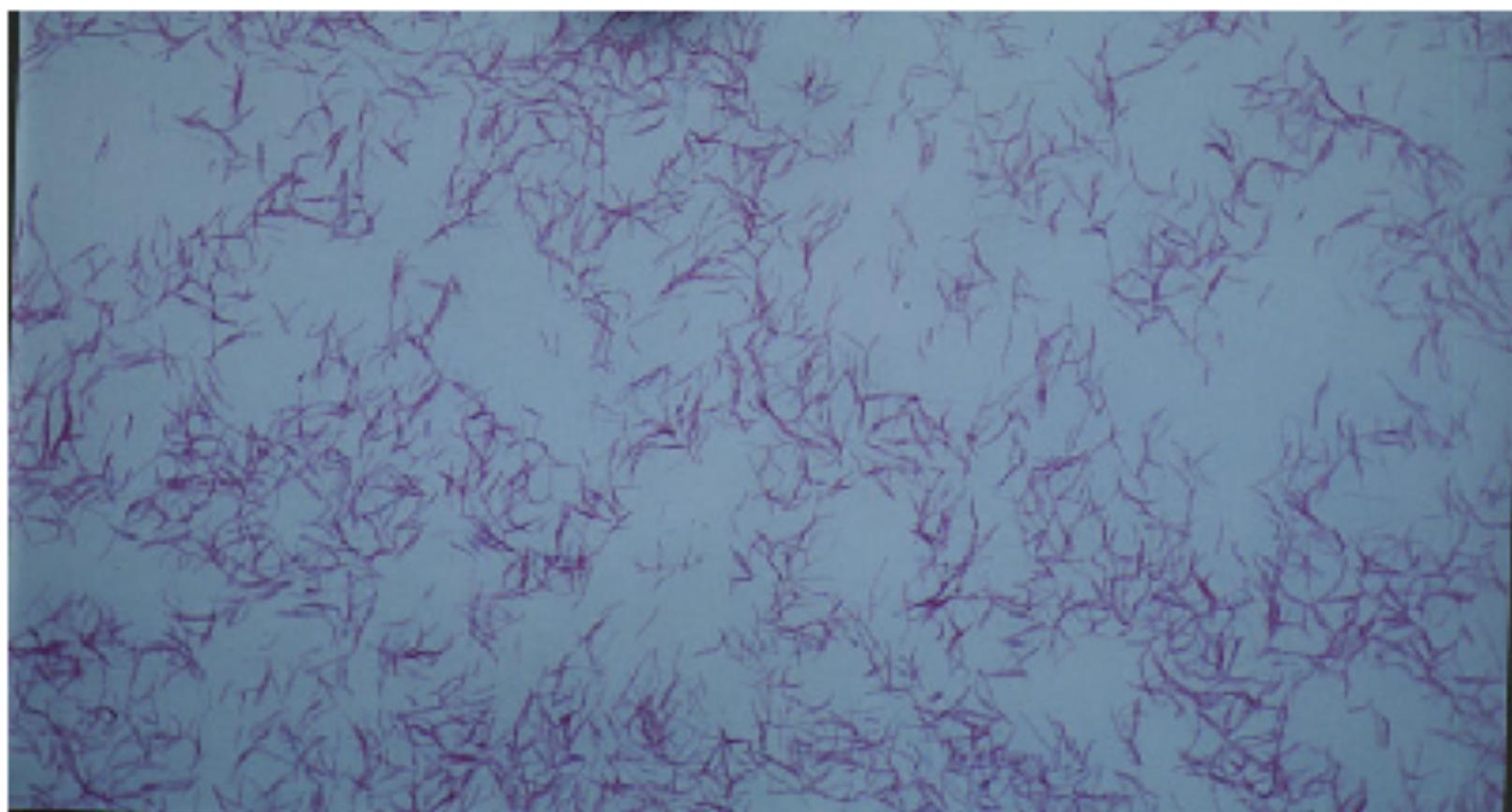
Exemple d'un mélange d'une culture de *M. avium* et *M. Tuberculosis* sur milieu 7H11



Coloration de ziehl d'une culture de *M. tuberculosis* : aspect en "cordes ou moustaches"



**Coloration de ziehl d'une culture de *M. gordonae*  
(BAAR en palissade)**



**Coloration de ziehl d'une culture de *M. xenopi*  
(BAAR fins, longs)**