

2011

1

Technique automatisée
d'amplification de l'acide
nucléique en temps réel
pour la détection rapide et
simultanée de la tuberculose
et de la résistance à la
rifampicine :
Système Xpert MTB/RIF



Organisation
mondiale de la Santé



Catalogage à la source: Bibliothèque de l'OMS:

Déclaration de principe : technique automatisée d'amplification de l'acide nucléique en temps réel pour la détection rapide et simultanée de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine : système Xpert MTB/RIF.

WHO/HTM/TB/2011.4

1.Tuberculose multirésistante – diagnostic. 2.Tuberculose – diagnostic. 3.Rifampicine – pharmacologie. 4.Mycobacterium tuberculosis - isolement et purification. 5. Infections à VIH – diagnostic. 6.Sensibilité et spécificité. 7.Directives. I.Organisation mondiale de la Santé.

ISBN 978 92 4 250154 4

(classification NLM : WF 310)

© Organisation mondiale de la Santé 2011

Tous droits réservés. Il est possible de se procurer les publications de l'Organisation mondiale de la Santé sur le site de l'OMS (www.who.int) ou auprès des Éditions de l'OMS, Organisation mondiale de la Santé, 20 avenue Appia, 1211 Genève 27, Suisse (téléphone : +41 22 791 3264 ; télécopie : +41 22 791 4857 ; adresse électronique : bookorders@who.int).

Les demandes relatives à la permission de reproduire ou de traduire les publications de l'OMS – que ce soit pour la vente ou une diffusion non commerciale – doivent être envoyées aux Éditions de l'OMS par le biais du site de l'Organisation (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html).

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les lignes en pointillé sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'Organisation mondiale de la Santé ne saurait être tenue responsable des préjudices subit du fait de son utilisation.

Table des matières

1. Informations générales	1
2. Méthodes	3
2.1 Synthèse des données	3
2.2 Prise de décisions au cours de la réunion du groupe d'experts	5
3. Champ d'application	6
4. Base factuelle pour la formulation de la ligne directrice	6
4.1 Études analytiques	6
4.2 Études multicentriques de validation clinique	7
4.3 Études de démonstration	8
4.4 Études d'évaluation monocentriques non publiées	9
4.5 Aspects opérationnels et relatifs aux programmes	10
4.6 Modélisation du rapport coût/efficacité	11
5. Recommandations de politique générale	12
6. Considérations relatives à la mise en œuvre	13
7. Implications pour la recherche	15
8. Plans de soutien au lancement du système Xpert MTB/RIF	15
9. Références	17
10. Tableaux GRADE	19
Tableau 1. Profil des données GRADE : Xpert MTB/RIF comme test de remplacement pour la culture et les tests de pharmacosensibilité classiques dans des études multicentriques d'évaluation et de démonstration, coordonnées par FIND	20
Tableau 2. GRADE : synthèse des résultats – Exactitude du diagnostic pour le test Xpert MTB/RIF dans les études multicentriques de validation clinique	22
Tableau 3. GRADE : synthèse des résultats – Exactitude du diagnostic pour le test Xpert MTB/RIF dans les études multicentriques de validation clinique	23
Tableau 4. GRADE : synthèse des résultats – Exactitude du diagnostic pour le test Xpert MTB/RIF dans les études monocentriques non publiées	24
11. Annexes	25

RÉSUMÉ D'ORIENTATION

Informations générales

La détection plus précoce et améliorée des cas de tuberculose, y compris en cas de maladie à frottis négatif, souvent associée à la co-infection par le VIH, ainsi que le développement des capacités de diagnostic pour la tuberculose multirésistante (tuberculose MR) sont des priorités mondiales de la lutte antituberculeuse. Les méthodes classiques de laboratoire étant lentes et fastidieuses, la mise au point de techniques novatrices permettant la recherche rapide d'une résistance aux antituberculeux est devenue une priorité de la recherche-développement dans ce domaine. Avec l'aide du NIH, la Fondation pour des Outils diagnostiques nouveaux et novateurs (FIND) s'est associée à Cepheid, Inc. (Sunnyvale, CA) et à l'Université de Médecine et d'Odontologie du New Jersey (UMDNJ, Newark, NY) pour élaborer un essai d'amplification génique automatisé à cartouche (Xpert MTB/RIF) fonctionnant sur la plate-forme multimaladies GeneXPert, pour l'instant unique quant à la simplification du test moléculaire avec l'intégration et l'automatisation complètes de la préparation des échantillons, de l'amplification et de la détection nécessaires pour l'amplification génique (PCR) en temps réel. Le système Xpert MTB/RIF permet de détecter en deux heures *M. tuberculosis*, ainsi que les mutations conférant la résistance à la rifampicine, directement à partir des expectorations. Dans le but d'élaborer des lignes directrices sur l'utilisation du test Xpert MTB/RIF, l'OMS a passé récemment en revue les données dans des articles publiés, de grandes études multicentriques de démonstration et de validation en laboratoire coordonnées par FIND, et des données non publiées provenant d'études monocentriques à l'initiative de chercheurs.

Résumé des résultats

Les résultats des **études analytiques** ont montré que le test Xpert MTB/RIF a une sensibilité analytique de cinq copies du génome d'ADN purifié et de 131 ufc/ml de *M. tuberculosis* ajoutées aux expectorations. Les balises moléculaires ciblant le gène *rpoB* couvrent toutes les mutations retrouvées dans >99,5 % de toutes les souches résistantes à la rifampicine. Il n'y a pas de réactions croisées avec les mycobactéries non tuberculeuses et la tuberculose comme la résistance à la rifampicine ont été correctement décelées en présence d'ADN non tuberculeux ou d'un mélange de souches sensibles et résistantes. On a montré que le réactif ajouté à l'échantillon d'expectorations dans un rapport de 2/1 tuait >6 log₁₀ ufc/ml de *M. tuberculosis* en 15 minutes d'exposition et négativait >97 % des échantillons à frottis positif en culture sur LJ. La procédure d'inoculation et l'analyse de l'échantillon avec le système Xpert MTB/RIF n'ont produit aucun aérosol infectieux détectable.

Les résultats des **essais cliniques contrôlés de validation** auxquels ont participé 1 730 sujets ayant une tuberculose ou une tuberculose MR présumée, recrutés préalablement dans quatre milieux bien distincts, ont montré qu'un seul test direct Xpert MTB/RIF permettait de détecter 92,2 % des patients donnant des cultures positives. La sensibilité d'un seul test Xpert MTB/RIF chez les patients à frottis négatif et à culture positive a été de 72,5 %, passant à 90,2 % lorsque trois échantillons ont été analysés. La spécificité a été de 99 %. Le test Xpert MTB/RIF a décelé la résistance à la rifampicine avec une sensibilité de 99,1 % et exclu la résistance avec une spécificité de 100 %.

Les résultats des **études de démonstration sur le terrain** auxquelles ont participé 6 673 sujets, recrutés préalablement dans six milieux bien distincts, ont confirmé ces résultats :

L'exactitude du test a été retenue, avec un seul test Xpert MTB/RIF direct sur les expectorations permettant de détecter 99 % des patients à frottis positif et >80 % des patients à frottis négatif. La co-infection avec le VIH a sensiblement diminué la sensibilité des analyses au microscope, mais n'a pas eu d'effets notables sur les résultats du test Xpert MTB/RIF. Pour la détection de la résistance à la rifampicine, la sensibilité a été de 95,1 % et la spécificité de 98,4 %.

Le délai moyen jusqu'à la détection a été <1 jour avec le test Xpert MTB/RIF, 1 jour au microscope, 17 jours avec la culture en milieu liquide et >30 jours avec la culture en milieu solide. La résistance à la rifampicine a été décelée en moins d'un jour avec le test Xpert MTB/RIF contre 75 jours en moyenne avec la détermination phénotypique de la pharmacosensibilité. Quand les résultats du test Xpert MTB/RIF n'ont pas été utilisés pour orienter le traitement, les patients tuberculeux à frottis négatif ont commencé le traitement dans un délai médian de 58 jours, contre une médiane à 4 jours avec l'utilisation des résultats du test Xpert MTB/RIF.

Les aspects opérationnels évalués ont confirmé la robustesse du test Xpert MTB/RIF dans diverses conditions de température et d'humidité, la formation minimale requise pour le personnel, et un niveau élevé de satisfaction des usagers. L'entreposage des cartouches, quand il en faut de grandes quantités, a été un problème à cause du manque d'espace. Les déchets produits sont beaucoup plus nombreux qu'avec la microscopie. Le test Xpert MTB/RIF suppose une alimentation électrique stable et ininterrompue et une validation annuelle du système, ce qui peut poser problème en milieu rural ou isolé.

La valeur prédictive négative (VPN)ⁱ du test Xpert MTB/RIF dépasse les 99 % en situation de prévalence faible comme de prévalence élevée de la résistance à la rifampicine, c'est-à-dire qu'un résultat négatif exclut avec exactitude la possibilité d'une résistance à la rifampicine.

La valeur prédictive positive (VPP)ⁱⁱ du test Xpert MTB/RIF pour la résistance à la rifampicine dépend de la prévalence sous-jacente de celle-ci. Il y a une répercussion négative sur la VPP dans les situations où les groupes de patients où cette résistance est rare. En revanche, on peut considérablement améliorer la VPP par une évaluation soigneuse du risque pour chaque patient et en ciblant les tests Xpert MTB/RIF.

La modélisation du rapport coût/efficacité a indiqué que le recours au test Xpert MTB/RIF augmente nettement le dépistage des cas de tuberculose (d'environ 30 %) s'il est utilisé en remplacement ou en plus de la microscopie. En remplacement de la culture ou des tests de pharmacosensibilité classiques, le dépistage des cas de tuberculose MR augmente nettement (multiplication par trois environ). Les dépenses d'investissement et de fonctionnement pour ce système sont sensiblement plus élevées que pour la microscopie, mais semblables à celles pour l'exécution des cultures et des tests de pharmacosensibilité.

Les résultats des études d'évaluation monocentriques avec diverses conceptions et sur différentes populations ont fait état d'une sensibilité de la détection de la tuberculose allant de 70 % à 100 % chez les patients donnant une culture positive et d'environ 60 % pour ceux à frottis négatif. La spécificité allait de 91 % à 100 %. La sensibilité brute groupée de la détection de la tuberculose a été de 92,5 % et la spécificité brute groupée de 98 %. Pour la rifampicine, la sensibilité et la spécificité ont été aux alentours de 98 % et 99 % respectivement.

Conclusions

La procédure de l'OMS pour la synthèse des données a confirmé une base factuelle solide étayant une utilisation généralisée du test Xpert MTB/RIF pour la détection de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine. Il est donc recommandé :

- 1) d'utiliser le système Xpert MTB/RIF *comme test de diagnostic initial* pour les personnes chez qui on présume une tuberculose MR ou une tuberculose associée au VIH (forte recommandation) ;
- 2) d'utiliser éventuellement le système Xpert MTB/RIF comme test à la suite de la microscopie dans les situations où la tuberculose MR et/ou le VIH sont moins préoccupants, en particulier

ⁱ VPN pour la résistance à la rifampicine : proportion de cas diagnostiqués comme étant sensibles à la rifampicine qui le sont réellement.

ⁱⁱ VPP pour la résistance à la rifampicine : proportion de cas diagnostiqués comme étant résistants à la rifampicine qui le sont réellement.

en cas de frottis négatif (recommandation avec réserve, reconnaissant des implications majeures au niveau des ressources).

La technique du Xpert MTB/RIF n'élimine pas cependant la nécessité des examens classiques, microscopie, culture et détermination de la pharmacosensibilité, requis pour suivre les progrès du traitement et détecter les résistances à d'autres médicaments que la rifampicine. Dans les situations, ou les groupes de patients, où la résistance à la rifampicine est rare, un résultat du test Xpert MTB/RIF indiquant cette résistance devrait être confirmé par les méthodes classiques de détermination de la pharmacosensibilité ou d'hybridation inverse de sondes moléculaires en ligne (LiPA).

En outre, il faut réunir un ensemble de conditions opérationnelles pour la réussite de la mise en œuvre du Xpert MTB/RIF : une alimentation électrique stable, une température ambiante maximale de 30°C pour le fonctionnement de l'appareil, une sécurité contre le vol, un personnel formé et dédié, un espace de stockage suffisant, un étalonnage annuel de l'instrument par un fournisseur commercial et des précautions de sécurité biologique semblables à celles appliquées pour les examens microscopiques des expectorations.

Les considérations relatives à la mise en œuvre pour une extension du test Xpert MTB/RIF ont été étudiées lors de la consultation mondiale organisée par l'OMS en décembre 2010 et un large consensus a été obtenu sur la marche à suivre. Les principaux résultats ont été un accord sur les algorithmes provisoires applicables au diagnostic, le positionnement du Xpert MTB/RIF dans les groupes à risque à différents niveaux des services de santé et les considérations pour le lancement de cette technique dans les programmes, afin d'en optimiser l'utilisation et les avantages.

Enfin, une considération essentielle à prendre en compte est la nécessité d'un accès rapide au traitement et aux soins adaptés pour les patients atteints de tuberculose et de tuberculose MR que l'introduction du Xpert MTB/RIF aura permis d'identifier. La mise en œuvre de cette technique devrait donc être lancée progressivement dans le cadre de plans stratégiques nationaux complets pour la tuberculose et la tuberculose MR.

Remerciements

Le présent document a été préparé par Karin Weyer, Christopher Gilpin et Fuad Mirzayev (Département OMS Halte à la tuberculose) sur la base du consensus obtenu à la réunion du groupe d'experts internationaux, organisée par l'OMS à Genève le 2 septembre 2010.

L'OMS exprime sa reconnaissance au Président (Holger Schünemann) et aux membres du groupe d'experts (annexe 1) qui ont élaboré les recommandations.

Les conclusions et les recommandations de la réunion du groupe d'experts ont été présentées au Groupe consultatif stratégique et technique pour la tuberculose (STAG-TB, annexe 3) en septembre 2010. Celui-ci a reconnu le potentiel de transformation qu'avait cette nouvelle technique et les bases factuelles solides étayant une utilisation généralisée pour la détection de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine.

L'OMS a organisé une consultation mondiale du 30 novembre au 2 décembre pour étudier les considérations relatives à l'extension du test Xpert MTB/RIF et un large consensus s'est dégagé sur la marche à suivre. En plus du personnel des Régions et du Siège de l'OMS, 59 participants ont assisté à la consultation, ainsi que des représentants de 14 programmes nationaux de lutte contre la tuberculose (Afrique du Sud, Bénin, Brésil, Chine, Géorgie, Indonésie, Kenya, Moldova, Nigéria, Pakistan, Pérou, Sénégal, Ukraine, Viet Nam) et les directeurs de cinq laboratoires supranationaux de référence pour la tuberculose. Il y avait parmi les autres participants des représentants de bailleurs de fonds, des chercheurs, des cliniciens, des épidémiologistes et des représentants de communautés.

Le présent document a été finalisé après avoir étudié toutes les observations et suggestions des participants au groupe d'experts, au STAG-TB et à la consultation mondiale.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à l'USAID pour son financement, par l'octroi de la subvention commune USAID-OMS N° GHA-G-00-09-00003.

Déclarations d'intérêts

Il a été demandé aux membres du groupe d'experts de présenter les formulaires remplis de déclarations d'intérêts. Ceux-ci ont été examinés par le Département juridique de l'OMS avant la réunion. La co-présidente à la réunion du groupe d'experts (Karin Weyer, OMS-STB) a fait un récapitulatif des déclarations au début de la réunion.

Trois membres du groupe d'experts (Richard Anthony, Daniela Cirillo, Doris Hillemann) ont déclaré une aide de FIND (Fondation pour des Outils diagnostiques nouveaux et novateurs) pour des activités de recherche sans rapport avec la réunion. Ces déclarations ont été jugées comme n'ayant qu'une importance minime.

Frank Cobelens a déclaré des accords contractuels avec FIND pour mener des études de coût/efficacité sur le test Xpert MTB/RIF, ainsi qu'une activité de conseil auprès de la Fondation Bill et Melinda Gates afin de faire une évaluation de l'impact du Xpert MTB/RIF. Cela a été jugé comme étant important. Frank Cobelens a donc été présent en tant qu'observateur à la réunion, n'a pas participé au processus d'évaluation GRADE et n'a pas contribué aux débats pendant lesquels les recommandations ont été élaborées.

Les participants de FIND ont apporté des explications techniques et ont été présents en tant qu'observateurs uniquement aux sessions qui traitaient de la réalisation technique et opérationnelle du test Xpert MTB/RIF. Il leur a été demandé de se récuser lorsque la réunion est passée aux sessions d'évaluation GRADE et aux recommandations. Ni les participants de FIND, ni d'autres observateurs n'ont fait d'observations sur le document final.

DÉCLARATION DE PRINCIPE

TECHNIQUE AUTOMATISÉE D'AMPLIFICATION DE L'ACIDE NUCLÉIQUE EN TEMPS RÉEL POUR LA DÉTECTION RAPIDE ET SIMULTANÉE DE LA TUBERCULOSE ET DE LA RÉSISTANCE À LA RIFAMPICINE : SYSTÈME Xpert MTB/RIF

1. Informations générales

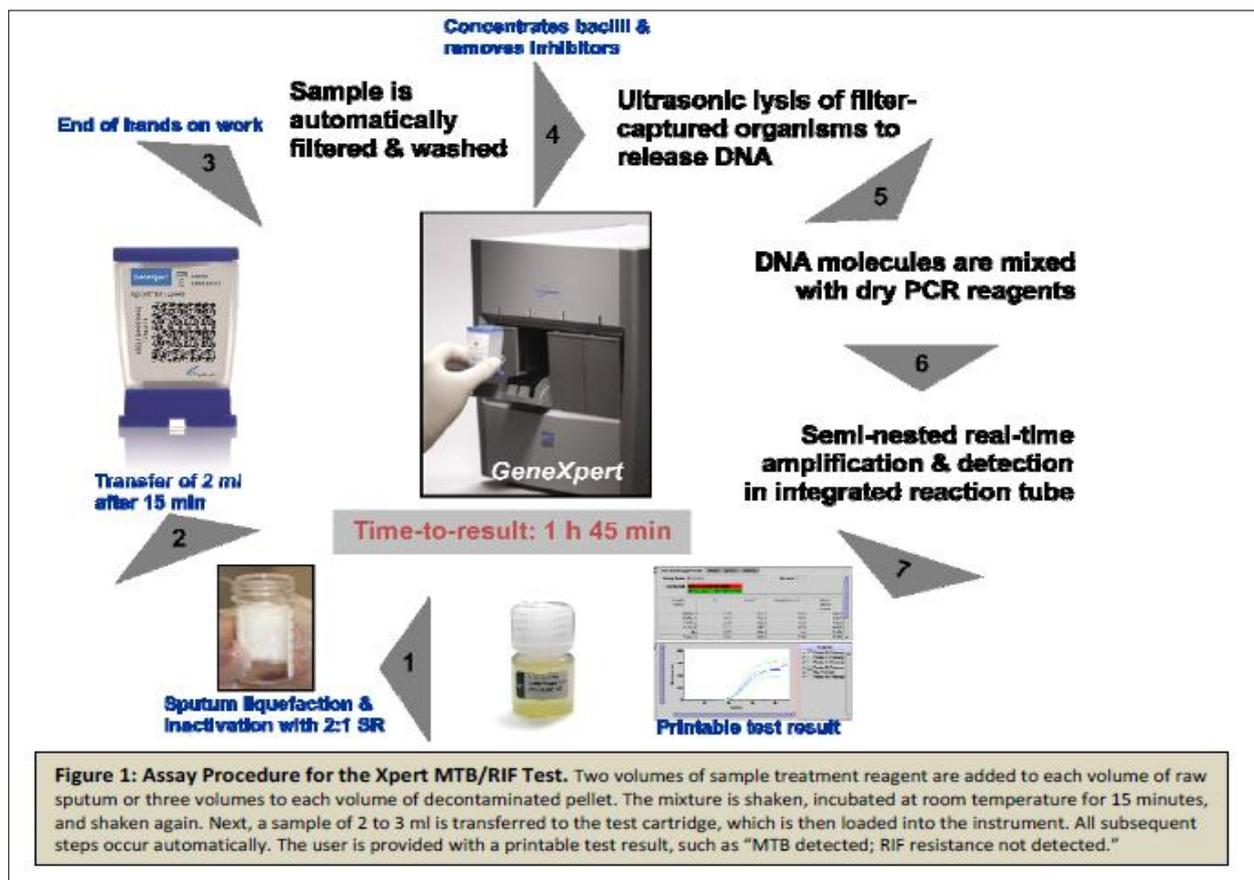
La détection plus précoce et améliorée des cas de tuberculose, y compris en cas de maladie à frottis négatif, ainsi que le développement des capacités de diagnostic pour la tuberculose multirésistante (tuberculose MR) sont des priorités mondiales de la lutte antituberculeuse. La tuberculose MR pose d'énormes difficultés en raison de la complexité de son diagnostic et de son traitement, tandis que la tuberculose associée au VIH échappe souvent à la détection avec les limites des techniques actuelles de diagnostic. Les recrudescences alarmantes de la tuberculose MR, l'émergence mondiale de la tuberculose ultrarésistante (tuberculose UR), la transmission avérée dans les institutions et la mortalité rapide de la tuberculose MR ou UR chez les patients co-infectés par le VIH ont mis en évidence l'urgence de disposer de méthodes rapides de dépistage.

Les méthodes classiques de culture des mycobactéries et de détermination de la pharmacosensibilité sont lentes et fastidieuses, nécessitant une série d'opérations telles que l'isolement des mycobactéries à partir des échantillons cliniques, l'identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, ainsi que la détermination *in vitro* de la sensibilité des souches aux médicaments antituberculeux. Pendant ce temps, les malades risquent de ne pas être traités convenablement, les souches résistantes peuvent continuer à se propager et il peut y avoir un accroissement de la résistance. La mise au point de techniques novatrices permettant la recherche rapide d'une résistance aux antituberculeux est donc devenue une priorité de la recherche-développement.

Depuis la mise au point, au début des années 1980, de l'amplification génique (PCR : polymérase chain reaction), la première et la plus familière des méthodes d'amplification des séquences d'acide nucléique, beaucoup ont attendu des diagnostics moléculaires qu'ils aient un impact majeur sur la médecine clinique. Pourtant, malgré plusieurs avantages théoriques, l'utilisation des tests moléculaires pour la tuberculose est restée limitée, en grande partie à cause des complexités de l'extraction, de l'amplification et de la détection de l'ADN, mais aussi à cause des inquiétudes pour la sécurité biologique quand il s'agit de manipuler des bacilles *M. tuberculosis*. De plus, les tests commerciaux d'amplification de l'acide nucléique (TAN) se sont avérés bien moins sensibles que la culture microbiologique, en particulier en cas de tuberculose à frottis négatif. En outre, la culture est restée en grande partie nécessaire en tant que première étape de la détermination de la pharmacosensibilité, alors que le développement des services classiques dans ce domaine, lent et onéreux, a dû composer avec des demandes énormes sur les infrastructures des laboratoires et les ressources humaines.

Ces cinq dernières années, avec l'aide du NIH, la Fondation pour des Outils diagnostiques nouveaux et novateurs (FIND) s'est associée à Cepheid, Inc. (Sunnyvale, CA) et à l'Université de Médecine et d'Odontologie du New Jersey (UMDNJ, Newark, NY) pour élaborer un TAN automatisé à cartouche pour la tuberculose, fonctionnant sur la plate-forme multimaladies GeneXpert. Le système GeneXpert a été lancé en 2004 et simplifie les tests moléculaires en intégrant et en automatisant complètement les trois processus (préparation de l'échantillon, amplification et détection) requis pour les tests moléculaires fondés sur la PCR en temps réel. Pour l'instant, la plate-forme GeneXpert est unique en son genre et utilise une cartouche renfermant les réactifs lyophilisés, les tampons et les solutions de rinçage. La détection et la caractérisation de la cible se font en temps réel à l'aide d'un dispositif laser à six couleurs.

Le système Xpert MTB/RIF est une application spécifique pour la tuberculose, mise au point récemment et conçue pour la plate-forme GeneXpert, dans le but de détecter *M. tuberculosis* et les mutations conférant la résistance à la rifampicine directement dans les expectorations avec un test donnant les résultats en deux heures. L'analyse comporte trois étapes manuelles : l'addition du réactif à l'échantillon pour liquéfier les expectorations et inactiver les bacilles, le transfert de 2 ml d'expectorations liquéfiées dans la cartouche et le chargement de la cartouche dans l'appareil pour le test. Toutes les étapes ultérieures sont automatisées. Le test peut être fait directement sur un échantillon clinique d'expectorations ou sur un pellet concentré et décontaminé. La méthode est décrite ci-dessous :



(Traduction de la Figure 1 :)

1. Liquéfaction des expectorations et inactivation avec le réactif dans un rapport de 2/1
2. Transfert de 2 ml après 15 minutes
3. Fin des manipulations
Filtration et rinçage automatique de l'échantillon
4. Concentration des bacilles et élimination des inhibiteurs
Lyse par ultrasons des micro-organismes capturés sur le filtre pour libérer l'ADN
5. Mélange des molécules d'ADN avec les réactifs lyophilisés pour la PCR
6. Amplification semi-nichée en temps réel et détection dans le tube à essai intégré
7. Résultats du test imprimables

Délai d'obtention des résultats : 1 h 45

Figure 1 : Méthode du test Xpert MTB/RIF. Deux volumes de réactif sont ajoutés à un volume d'expectorations brutes ou trois volumes à un volume de pellet décontaminé. Le mélange est agité, mis à incuber à température ambiante pendant 15 minutes, puis agité de nouveau. Ensuite, un volume de 2 à 3 ml est prélevé et transféré dans la cartouche du test, qui est ensuite chargée dans

l'appareil. Toutes les étapes ultérieures sont automatisées. L'utilisateur obtient un résultat qu'il peut imprimer du type : « Détection de MTB, pas de résistance à RIF détectée ».

Le test Xpert MTB/RIF se fonde sur une PCR semi-nichée en temps réel amplifiant le gène cible *rpoB*. Les balises moléculaires utilisant de nouveaux fluorophores et des inhibiteurs sont employées pour détecter l'hybridation de chacune des cinq régions ciblées amplifiées du gène. *Bacillus globigii*, un micro-organisme sporogène du sol est utilisé comme témoin pour l'ensemble du processus, servant de contrôle de la qualité pour le piégeage des bactéries, la lyse bactérienne, l'extraction de l'ADN, l'amplification et la détection de la sonde.

Le test Xpert MTB/RIF a été conçu pour être robuste et facile d'emploi. Les cartouches et le réactif doivent être conservés à 2-28 °C suivant les recommandations du fabricant. Les cartouches sont préchargées avec tous les réactifs nécessaires pour le traitement de l'échantillon, l'extraction de l'ADN, l'amplification et la détection au laser de l'amplicon ciblé fixé sur les balises moléculaires. La température ambiante maximale pour le fonctionnement de l'instrument GeneXpert est actuellement limitée à 30°C.

Le test a été conçu pour que son utilisation soit sûre dans les laboratoires de microscopie qui ne disposent pas en général d'enceintes de sécurité biologique. Le réactif pour le traitement de l'échantillon est un mycobactéricide qui tue rapidement *M. tuberculosis* au cours du processus de liquéfaction et des études ont confirmé qu'aucune aérosolisation des mycobactéries ne se produisait pendant le fonctionnement de l'appareil.

Il existe des instruments GeneXpert de diverses capacités. Les instruments évalués dans les études décrites ci-après sont des dispositifs comportant quatre modules, avec une capacité maximale de 20 tests par jour.

La plate-forme GeneXpert comme le test Xpert MTB/RIF sont couverts par de multiples brevets. La plate-forme GeneXpert est homologuée par la FDA. Le test est fabriqué sous la certification ISO 13485:2003, homologué par l'autorité de réglementation en Europe (CE-Marked) et en attente de l'homologation par la FDA.

La plate-forme GeneXpert et le test Xpert MTB/RIF sont actuellement la seule technique parvenue à maturité et ils représentent une nouvelle génération de plates-formes de diagnostic moléculaire automatisé. Les autres en sont au stade du prototype et devraient être mises à disposition en temps voulu. Elles devront être soumises au même niveau de validation et d'examen par les experts avant que l'OMS puisse recommander leur mise en œuvre.

2. Méthodes

2.1 Synthèse des données

En septembre 2010, le Département de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) Halte à la tuberculose a réuni un groupe d'experts pour évaluer les données disponibles sur le système Xpert MTB/RIF, dans le but d'établir des recommandations de principe pour son utilisation. Les données provenant d'articles publiés, de grandes études multicentriques de validation au laboratoire et de démonstration, coordonnées par FIND, ainsi que des données non publiées provenant de 12 études monocentriques menées par des chercheurs, ont été mises à la disposition de l'OMS pour évaluer les performances du test, la faisabilité de la mise en œuvre dans les programmes et les questions à étudier par la recherche à l'avenir.

Conformément aux normes actuelles de l'OMS pour l'évaluation des données dans la formulation de recommandations de principe, le système GRADE¹ (<http://www.gradeworkinggroup.org>) a été employé dans le processus de synthèse des données, fournissant un cadre systématique et structuré à l'évaluation de l'exactitude des nouvelles interventions et de leur impact pour le patient et la santé publique.

Les questions suivantes ont été définies au préalable en consultation avec le groupe d'experts de l'OMS :

1. Quelle est l'exactitude globale du système Xpert MTB/RIF pour le diagnostic de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine ?
2. Quelle est l'exactitude du système Xpert MTB/RIF pour le diagnostic de la tuberculose à frottis négatif ?

Des profils de données GRADE ont été préparés pour évaluer l'exactitude du diagnostic avec le système Xpert MTB/RIF pour la détection de la tuberculose pulmonaire et de la résistance à la rifampicine, par rapport aux méthodes classiques de culture et de détermination de la pharmacosensibilité utilisées en référence. En se servant du cadre GRADE, les résultats de sensibilité et de spécificité ont été interprétés comme des mesures indirectes des résultats importants pour les patients, sur la base de l'importance relative/de l'impact des faux-positifs et des faux-négatifs : une mauvaise sensibilité donnerait des faux-négatifs impliquant que des patients atteints de tuberculose et de tuberculose MR ne seraient pas reconnus, avec des conséquences négatives pour la morbidité, la mortalité et la transmission de la maladie. Une mauvaise spécificité donnerait des faux-positifs qui entraîneraient la prescription de traitements inutiles à des patients indemnes de la tuberculose ou de la tuberculose MR, avec des conséquences négatives comme les événements indésirables graves liés à l'administration des médicaments antituberculeux de deuxième intention.

Pour chaque résultat, la qualité GRADE des données a été considérée initialement comme « élevée », toutes les études étant de nature transversales ou portant sur des cohortes, avec recrutement préalable de patients ayant une tuberculose et/ou une tuberculose MR présumée. La qualité des données et les limites des études ont aussi été évaluées avec les six critères GRADE : 1) conception de l'étude ; 2) risque de biais ; 3) caractère direct ; 4) incohérence ; 5) imprécision et 6) biais au niveau de la publication/du rapport. Il a été noté que la majorité des études n'avaient pas recruté d'enfants et qu'elles avaient été en grande partie menées dans des milieux urbains en raison de la nécessité d'avoir comme méthodes de référence la culture et la détermination de la pharmacosensibilité de qualité assurée. L'utilisation à laquelle le test Xpert MTB/RIF est destiné se trouvant au niveau des districts et des sous-districts, la qualité des données a été rétrogradée d'un niveau à « modérée ».

Le système utilisé pour établir la solidité et le rang des recommandations a impliqué d'évaluer et de soupeser chaque question selon : 1) les effets désirables et indésirables ; 2) la qualité des données disponibles ; 3) les valeurs et les préférences relatives à l'intervention dans différents milieux et 4) les considérations de coût pour les différentes situations épidémiologiques.

Les conclusions et les recommandations de la réunion du groupe d'experts ont été présentées au Groupe consultatif stratégique et technique pour la tuberculose (STAG-TB, annexe 2) en septembre 2010. Celui-ci a reconnu le potentiel de transformation qu'avait cette nouvelle technique et les bases factuelles solides étayant une utilisation généralisée pour la détection de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine.² Il a aussi convenu de la nécessité d'un accès urgent à cette innovation pour les personnes exposées au risque de tuberculose MR et de tuberculose associée au VIH dans les milieux aux ressources limitées. Par conséquent, le STAG-TB a recommandé à l'OMS :

1. D'aller de l'avant pour établir des orientations détaillées sur l'utilisation du système Xpert MTB/RIF ;

2. D'élaborer une stratégie mondiale pour l'adoption rapide, systématique et progressive du système Xpert MTB/RIF, avec des dispositions pour suivre et évaluer son lancement et un plan clair pour en documenter l'impact sur la détection des cas, la riposte à la tuberculose MR, l'extension et le rapport coût/efficacité ;
3. D'aller de l'avant pour organiser une consultation mondiale sur les considérations relatives à la mise en œuvre en vue de l'extension du système Xpert MTB/RIF dans les conditions habituelles des programmes (avec les algorithmes pour le diagnostic, la logistique, l'achat et la distribution, l'assurance de la qualité et l'élimination des déchets) ;
4. D'apporter une assistance technique aux pays et de les aider à planifier l'intégration du système Xpert MTB/RIF dans les algorithmes révisés pour le diagnostic.

2.2 Prise de décisions au cours de la réunion du groupe d'experts

La réunion du groupe d'experts a été coprésidée par le secrétariat de STB et un expert de la synthèse des données GRADE. Les décisions ont été prises par consensus (de préférence) ou en votant (à la règle de la majorité simple) s'il était impossible de parvenir à un consensus. Les sujets de préoccupation et les opinions des membres du groupe d'experts ont été consignés et inclus dans le rapport final de la réunion.³ Le rapport détaillé a été préparé par le secrétariat de STB et est passé par plusieurs versions (gérées par le secrétariat de STB) avant l'accord définitif des membres du groupe d'experts.

Un projet de lignes directrices de l'OMS fondées sur les recommandations obtenues par consensus a ensuite été préparé par le secrétariat de STB et présenté au STAG-TB. Le texte définitif a été transmis aux membres du groupe d'experts et du STAG-TB après un processus de versions successives tel que décrit ci-dessus.

Le document définitif a été approuvé par le Comité d'examen des directives de l'OMS (GRC) qui a estimé qu'il satisfaisait aux exigences du GRC en matière d'élaboration des directives.ⁱⁱⁱ

ⁱⁱⁱ Déclaration du GRC : Ces lignes directrices ont été élaborées conformément à la procédure de collecte des données, d'évaluation et de formulation des recommandations, telle que décrite dans le *WHO Handbook for Guideline Development* (version actuelle).

3. Champ d'application

Le présent document récapitule de manière pragmatique les données factuelles et les recommandations relatives au système Xpert MTB/RIF et doit être lu conjointement avec les observations détaillées dans les documents *Xpert MTB/RIF Expert Group Meeting Report 2010*,³ *WHO Framework for Implementing TB Diagnostics, 2010*⁴ et *WHO Rapid Implementation of Xpert MTB/RIF, 2011*.⁵ Ceux-ci sont disponibles sur <http://www.who.int/tb/dots/laboratory/policy/en> et donnent des orientations sur la mise en œuvre des outils et des méthodes de diagnostic actuellement approuvés par l'OMS, dans le contexte local des infrastructures des pays, des ressources disponibles, de l'épidémiologie de la tuberculose/tuberculose MR et de la réforme sur la politique de lutte antituberculeuse.

Il n'y a aucune incompatibilité entre les outils de diagnostic de la tuberculose existant actuellement et ils peuvent être mis en œuvre en les associant diversement, d'une manière très spécifique aux situations et aux ressources, pour le dépistage et les algorithmes de diagnostic dans les pays. Les contributions de laboratoires experts sont donc nécessaires pour définir dans chaque pays les algorithmes les plus efficaces et ayant le meilleur rapport coût/efficacité, en suivant les normes et procédures de l'OMS et dans le cadre d'activités globales et intégrées de renforcement des laboratoires.

La présente ligne directrice doit être appliquée pour soutenir la mise en œuvre de la technique Xpert MTB/RIF pour le diagnostic de la tuberculose et la détection de la résistance à la rifampicine dans le cadre des programmes nationaux de lutte contre la tuberculose (PLT). Elle est destinée à être utilisée par les administrateurs des PLT et les directeurs de laboratoire, en coordination avec des consultants externes de laboratoires, des bailleurs de fonds, des conseillers techniques, des techniciens de laboratoire, des responsables de l'achat des équipements de laboratoire, des gestionnaires d'entrepôts, des prestataires de services du secteur privé, d'autres secteurs publics compétents et des partenaires d'exécution participant au renforcement des laboratoires de la tuberculose au niveau des pays. Ce document pourrait également être utile aux personnes chargées de la planification du programme, de la budgétisation, de la mobilisation des ressources et des activités de formation pour les services de diagnostic de la tuberculose.

Un examen de données supplémentaires, provenant des sites d'application, sera fait chaque année, avec un perfectionnement continu de la présente ligne directrice sur la base d'une évaluation plus complète de la nouvelle technique sur le terrain après sa mise en œuvre, comportant des analyses des rapports coût/efficacité et coût/avantages spécifiques aux pays.

Date du prochain examen : 2015

4. Base factuelle pour la formulation de la ligne directrice

4.1 Études analytiques

Les études sur les limites de détection (LDD) utilisant une solution tampon ou des expectorations non infectées enrichies en ADN génomique bactérien ou en organismes entiers ont montré que le test Xpert MTB/RIF a une sensibilité analytique de cinq copies génomiques d'ADN purifié et de 131 ufc/ml de *M. tuberculosis* ajoutées aux expectorations. Les tests de spécificité, au moyen d'une grande variété de mycobactéries non tuberculeuses, de champignons et de virus, ont montré que l'essai permettait d'exclure correctement tous les isollements non tuberculeux.

Les balises moléculaires ont été conçues sur la base des données publiées et expérimentales sur 4115 mutations dans la région RRDR de 4072 souches de *M. tuberculosis* et couvraient les mutations que l'on retrouve dans >99,5 % de toutes les souches résistantes à la rifampicine. La tuberculose et la résistance à la rifampicine ont été correctement décelées, même en présence d'ADN de mycobactéries non tuberculeuses ou dans un mélange de souches sensibles et résistantes.

Deux caractéristiques importantes ont été confirmées au niveau de la sécurité biologique : premièrement, on a montré que le réactif ajouté à l'échantillon d'expectorations dans un rapport de 2/1 tuait 10^7 log ufc/ml of *M. tuberculosis* en 15 minutes d'exposition à température ambiante et négativait en culture classique plus de 97 % des échantillons positifs au frottis. Deuxièmement, les études sur les aérosols pendant le fonctionnement de l'appareil avec des solutions enrichies avec de fortes concentrations de mycobactéries n'ont pas détecté de production d'aérosols infectieux.

4.2 Études multicentriques de validation clinique

FIND a mené des essais cliniques contrôlés dans quatre milieux géographiques différents avec des prévalences variables de la tuberculose, du VIH et de la tuberculose MR (Afrique du Sud, Azerbaïdjan, Inde, Pérou), évaluant au préalable 1730 sujets chez qui on présumait une tuberculose sensible aux médicaments ou une tuberculose MR. Au total, 4386 échantillons d'expectorations de 1462 patients remplissant les conditions requises ont été analysés par le système Xpert MTB/RIF, ainsi que par microscopie et par deux méthodes classiques de culture.

Détection de la tuberculose pulmonaire

La proportion de patients positifs à la culture détectés avec un seul test direct Xpert MTB/RIF a été de 92,2 % contre 96,0 % en analysant deux échantillons (un directement et un à partir du pellet provenant d'un échantillon concentré) et de 97,6 % en analysant trois échantillons (un directement et deux pellets). On n'a observé aucune différence significative entre les tests sur expectorations non traitées et ceux sur pellets décontaminés.

Pour les patients à frottis négatif mais à culture positive, l'ajout d'un second test Xpert MTB/RIF a augmenté la sensibilité de 12,6 %, la faisant passer de 72,5 % à 85,1 % ; un troisième test l'a encore accrue de 5,1 %, à 90,2 %. Il n'y a pas eu de variation nette de sensibilité entre les sites. Un test unique direct Xpert MTB/RIF a identifié une plus grande proportion de patients positifs à la culture qu'une seule culture sur milieu LJ.

Le statut vis-à-vis du VIH était connu pour 976 patients (40,2 %). Pour les 392 sujets séropositifs atteints de tuberculose pulmonaire, le test Xpert MTB/RIF a eu une sensibilité de 93,9 %, contre 98,4 % chez les patients séronégatifs.

Sur les 105 patients ayant des résultats négatifs à la culture mais traités pour une tuberculose sur la base des symptômes cliniques et manifestant une amélioration, 29,3 % ont donné un résultat positif au test Xpert MTB/RIF.

La spécificité du test Xpert MTB/RIF, confirmée par le suivi clinique et microbiologique des cas présumés de tuberculose, a été de 99 %.

Détection de la résistance à la rifampicine

Dans la plupart des situations, la résistance à la rifampicine est un indicateur indirect fiable de la tuberculose MR et la technique Xpert MTB/RIF explore cinq balises sur le gène *rpoB* couvrant l'immense majorité des mutations conférant la résistance à la rifampicine. Le système Xpert MTB/RIF a décelé correctement la résistance à la rifampicine chez 209 patients sur 211 (sensibilité de 99,1 %) et la sensibilité à ce médicament pour l'ensemble des 506 patients dans ce cas (spécificité de 100 %), lorsqu'il a été comparé à l'analyse du phénotype et aux résultats du séquençage pour résoudre les

15 cas discordants. Globalement, l'analyse du phénotype a confirmé la multirésistance pour 97,6 % (200/205) des cas résistants à la rifampicine.

Résultats indéterminés

Le taux de résultats indéterminés au test Xpert MTB/RIF a été de 3,7 %, inférieur au taux de contamination des cultures. Des résultats valables ont été obtenus dans 92,8 % des cas où il restait suffisamment de matériel pour refaire le test.

4.3 Études de démonstration

Les études de démonstration coordonnées par FIND ont concerné 6673 sujets, adultes pour la plupart et présentant des symptômes évocateurs de tuberculose pulmonaire, sur neuf sites en Afrique du Sud, en Azerbaïdjan, en Inde, en Ouganda, au Pérou et aux Philippines. Ces populations étaient très diverses, avec une prévalence du VIH allant de <1 % à 100 % et une prévalence de la tuberculose MR allant de 2 % à 54 %.

Compte tenu du besoin de normes de référence, l'accès aux méthodes classiques de culture et de détermination de la pharmacosensibilité de qualité assurée est une condition préalable indispensable, raison pour laquelle les centres participants ont été en grande partie basés dans des zones urbaines ou périurbaines. Tous les sites ont classé les patients en deux catégories, sujets exposés à un risque de tuberculose MR (déjà traités, patients ne changeant pas de statut, échecs thérapeutiques, sujets symptomatiques au contact de cas confirmés de tuberculose MR) et cas de détection de la tuberculose (les autres).

Pour l'analyse, les patients ont été répartis en quatre catégories : frottis positif/culture positive ; frottis négatif/culture positive ; frottis négatif/culture négative sans traitement (pas de tuberculose) ; et frottis négatif/culture négative avec un traitement sur la base des observations cliniques et radiologiques (tuberculose clinique).

Détection de la tuberculose pulmonaire

Ces études ont confirmé la grande sensibilité du système Xpert MTB/RIF, avec un unique test direct sur les expectorations détectant 99 % des patients à frottis positif/culture positive et >80 % des cas à frottis négatif. En comparaison, un frottis unique et direct fait à partir du même échantillon d'expectorations que pour le test Xpert MTB/RIF a eu une sensibilité de 59,5 % (IC à 95 % : 56 %-63 %) dans les cas à culture positive. Il n'y a pas eu de différence nette de spécificité (99 % ; IC à 95 % : 98 %-99 %).

Un test Xpert MTB/RIF unique direct (sensibilité de 90,8 % ; IC à 95 % : 88 %-93 %) a identifié une proportion similaire de l'ensemble des patients à culture positive qu'une seule culture sur LJ (sensibilité 89,8 % ; IC à 95 % : 87 %-92 %).

Chez les sujets séropositifs pour le VIH avec une tuberculose pulmonaire confirmée par la culture, le test Xpert MTB/RIF a eu une sensibilité de 86 %, contre 92 % chez les patients séronégatifs. La co-infection par le VIH n'a pas influé sensiblement sur la performance du système Xpert MTB/RIF pour détecter les patients à frottis négatif/culture positive ; par comparaison, la sensibilité de l'examen des frottis au microscope a été sensiblement réduite (à 47 % au lieu de 65 % chez les patients séronégatifs).

Sur les 120 cas présumés de tuberculose négatifs à la culture mais traités sur la base des symptômes cliniques et ayant eu une amélioration avec le traitement antituberculeux, 19,2 % ont eu un résultat positif au test Xpert MTB/RIF.

Détection de la résistance à la rifampicine

Le logiciel Xpert MTB/RIF détermine la résistance à la rifampicine sur la base du retard ou de l'absence des signaux des sondes. Avec le logiciel initial, la sensibilité et la spécificité de ce test étaient de 98,4 % et 96,1 % respectivement. Pendant la phase précoce des études de démonstration sur le terrain, l'Afrique du Sud a fait état de deux signaux faussement positifs de résistance à la rifampicine par le système Xpert MTB/RIF. Ces deux cas se sont révélés sensibles à l'hybridation inverse de sondes moléculaires en ligne (utilisées comme norme de référence) ; l'absence de mutations a été confirmée par séquençage et la sensibilité par détermination phénotypique.

Une analyse de la cause profonde a révélé que les faux-positifs provenaient du fait que certaines des balises moléculaires ont produit leur signal légèrement après la limite fixée par le logiciel. Un examen des résultats des tests sur d'autres sites a retrouvé un petit nombre d'artéfacts d'aspect similaire.

Du fait que l'on considérait que la spécificité du test pour la résistance à la rifampicine était cruciale, en particulier en situation de faible prévalence de la tuberculose MR, la décision a été prise d'apporter un changement au logiciel quelles que soient les circonstances. Ces modifications ont légèrement abaissé la sensibilité, à 95,1 %, mais augmenté la spécificité, à 98,4 %.

La monorésistance à la rifampicine a été rare (1,4 %) et la valeur globale de la détection de la résistance à la rifampicine pour prédire la tuberculose MR a été élevée (valeur prédictive positive de 92,9 % ; valeur prédictive négative de 98,9 %). On n'a pas signalé d'événements de contamination d'amplicons.

Résultats indéterminés

Avec le système Xpert MTB/RIF, leur fréquence a été faible, à 2,5 %, et la répétition de l'analyse a produit un résultat valable pour 97 % des patients. En comparaison, le taux moyen de contamination pour les cultures était de 4,7 %.

Délai de détection de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine

Pour la détection de la tuberculose, les délais moyens ont été <1 jour avec le système Xpert MTB/RIF, 1 jour avec la microscopie, 17 jours avec la culture en milieu liquide et >30 jours avec la culture sur milieu solide. La résistance à la rifampicine a été détectée en moins d'un jour avec le système Xpert MTB/RIF contre une moyenne de 75 jours avec les analyses classiques du phénotype.

Délai pour l'initiation du traitement

Les études de démonstration sur le terrain ont documenté l'impact de la vitesse sur l'utilité des résultats : 0,5 % des résultats des tests Xpert MTB/RIF n'ont pas été transmis aux services de santé, contre 1,9 % des résultats de la microscopie, 14 % des résultats de la culture et 20 % des résultats des tests classiques de pharmacosensibilité.

Au cours de la phase de validation, lorsque le système Xpert MTB/RIF n'a pas été utilisé pour orienter le traitement, les patients tuberculeux à frottis négatif ont commencé leur traitement après un délai médian de 58 jours ; au cours de la phase de mise en œuvre de ce test, le délai médian a été ramené à 4 jours.

4.4 Études d'évaluation monocentriques non publiées

Les études d'évaluation monocentriques non publiées ont donné des résultats semblables pour 4575 tests faits avec le système Xpert MTB/RIF, indiquant une sensibilité de la détection de la tuberculose allant de 70 % à 100 % pour les patients donnant une culture positive et d'environ 60 % dans les cas à frottis négatif. La spécificité s'est établie de 91 % à 100 %. La sensibilité brute groupée pour tous les tests Xpert MTB/RIF qui ont été faits a été de 92,2 % et la spécificité brute groupée de 98 %. La sensibilité et la spécificité moyennes pour la rifampicine ont été d'environ 98 % et 99 % respectivement.

4.5 Aspects opérationnels et relatifs aux programmes

Robustesse

Les problèmes techniques sur une période d'un an (11 instruments et 44 modules) ont été les suivants : panne de module (un site, un module), module non détecté (deux sites, un module chacun), cartouche coincée dans le module (un site, un module), message d'erreur dû à une température élevée (un site) et erreur dans l'impression des résultats (trois sites). Tous les problèmes techniques ont été résolus rapidement, dans la plupart des cas avec une assistance à distance.

Les températures ambiantes enregistrées systématiquement par l'appareil GeneXpert en cours de fonctionnement ont montré que la température maximale recommandée par le fabricant (30°C) a été dépassée sur plusieurs sites, sans avoir d'effets fâcheux sur l'instrument ou sur les résultats des tests. Toutefois, tous les appareils étaient neufs et on ne dispose pas encore de données sur leur robustesse en cas de maintien prolongé de la température au-dessus de 30°C.

Aucun incident de contamination de l'ADN n'a été enregistré, bien que 50 % des opérateurs n'aient pas suivi les instructions de nettoyer tous les jours les surfaces de l'instrument à l'eau de Javel et à l'éthanol.

Les témoins positifs (expectorations à frottis positif) et négatifs (tampon du réactif Xpert) ont été testés à la réception de nouveaux lots. Aucun problème de variabilité d'un lot à l'autre ou de qualité n'a été observé avec les cartouches ou le tampon du réactif.

Besoins de formation

La durée de formation a été de deux jours par laboratoire. Avant cette formation, aucune expérience des tests moléculaires n'entraînait dans les compétences des opérateurs. La plupart étaient des microscopistes n'ayant le plus souvent que des connaissances élémentaires en informatique.

La formation s'est déroulée en associant le manuel de l'utilisateur et des diaporamas PowerPoint préparés par FIND. Les points traités étaient les suivants : a) comment manipuler l'ordinateur et faire fonctionner le logiciel GeneXpert ; b) l'étape du traitement des échantillons avec la sécurité biologique allant de pair ; c) le concept de contamination de l'ADN, avec la nécessité du nettoyage à l'eau de Javel et l'élimination des cartouches sans les rouvrir ; d) le dépannage.

Le fabricant a assuré une formation d'une journée sur le Web à l'intention des opérateurs plus expérimentés sur deux sites et l'aptitude a été acquise sans problème. La formation à l'échange de module, nécessaire en cas de remplacement ou d'étalonnage du module, a également été assurée par le fabricant par téléphone ou Internet.

Un questionnaire anonyme pour une enquête au cours des études de validation initiales par FIND a révélé que les utilisateurs trouvaient le test Xpert MTB/RIF très simple à mettre en œuvre. La satisfaction des usagers et la lecture indépendante des résultats ont été très bonnes.

Gestion des déchets

L'élimination des cartouches s'est faite en appliquant les directives locales sur les matières dangereuses, comme pour les récipients de prélèvement. Il est important de noter ici le volume relativement grand de déchets supplémentaires produits par rapport à l'examen des frottis au microscope (cartouches, flacons de tampon et pipettes à usage unique).

Conservation des cartouches

Plusieurs des sites participants n'ont pas pu assurer le maintien de la température ambiante en dessous de 28°C ou n'avaient pas suffisamment d'espace d'entreposage. Les cartouches ont donc été conservées sur des sites de supervision avec air conditionné ou une salle réfrigérée et ont été distribuées toutes les deux semaines environ.

Alimentation électrique et générateurs de secours

Tous les sites participants ont signalé de fréquentes pannes d'électricité (d'une durée de quelques secondes à quelques minutes) et de petits générateurs de 400 VA ont donc été installés sur tous les sites, pouvant fonctionner pendant 15 à 20 minutes pendant les pannes d'électricité. Un site ayant des pannes plus longues (de plusieurs heures) a utilisé des batteries de voiture montées en série pour faire fonctionner l'appareil GeneXpert et l'ordinateur en cas de panne d'électricité, apparemment sans effet nuisible pour l'instrumentation ou les performances du test.

Règles de sécurité biologique

Dans une série d'études réalisées à l'UMDNJ, la sécurité biologique relative de la méthode Xpert MTB/RIF a été comparée à la préparation en routine de lames pour la recherche directe au microscope des bacilles acido-alcoolrésistants (BAAR). Le traitement des expectorations en ajoutant du réactif dans un rapport de 3/1 a éliminé toute croissance de *M. tuberculosis* dans toutes les cultures ultérieures, tandis qu'un ajout dans un rapport de 2/1 a tué $>6 \log_{10}$ ufc/ml de *M. tuberculosis* en 15 minutes d'exposition.

Les études d'aérosolisation ont indiqué que l'instrument ne produisait aucun aérosol infectieux détectable pendant son fonctionnement et que l'inoculation de cultures avec du liquide provenant de l'intérieur des cartouches donnait 100 % de cultures négatives.

4.6 Modélisation du rapport coût/efficacité

Les données provenant de trois situations épidémiologiques différentes (Afrique du Sud, Azerbaïdjan, Inde) ont indiqué que le recours au test Xpert MTB/RIF augmente nettement le dépistage des cas de tuberculose (d'environ 30 %) s'il est utilisé en remplacement ou en plus de la microscopie. En remplacement des méthodes classiques de culture ou de détermination de la pharmacosensibilité, le dépistage des cas de tuberculose MR augmente nettement (multiplication par trois à peu près). Les dépenses d'investissement et de fonctionnement du Xpert MTB/RIF sont sensiblement plus élevées que pour la microscopie, mais semblables à celles pour les cultures et la détermination de la pharmacosensibilité. Le coût total par cas détecté a varié considérablement selon les pays mais, en moyenne, le scénario du remplacement avait un coût supérieur de 8 % à 11 % par DALY gagnée, ce qui reste dans les rapports coût/efficacité acceptables selon les critères de l'OMS.

5. Recommandations de politique générale

La méthode GRADE a confirmé qu'il y avait une base factuelle solide étayant une utilisation généralisée du système Xpert MTB/RIF pour la détection de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine, ce qui a conduit à faire les principales recommandations suivantes :

1. **Le système Xpert MTB/RIF devrait être utilisé comme test diagnostique initial en cas de présomption de tuberculose MR ou de tuberculose associée au VIH.** (Forte recommandation)
2. **On peut envisager le système Xpert MTB/RIF comme test complémentaire à la microscopie dans les situations où la tuberculose MR ou le VIH sont moins préoccupants, en particulier en cas d'échantillons à frottis négatif.** (Recommandation avec réserve, reconnaissant les conséquences majeures au niveau des ressources)

Remarques :

Ces recommandations s'appliquent à l'utilisation du système Xpert MTB/RIF pour des échantillons d'expectorations (y compris les pellets provenant de prélèvements décontaminés). Les données sur l'utilité du système Xpert MTB/RIF pour les prélèvements extrapulmonaires sont encore limitées ;

Les présentes recommandations étayent l'utilisation d'un seul échantillon d'expectorations pour le test diagnostique, reconnaissant que la multiplicité des échantillons accroît la sensibilité du système Xpert MTB/RIF mais a des implications majeures au niveau des ressources ;

Les présentes recommandations s'appliquent également aux enfants, sur la base de la généralisation des données obtenues chez les adultes et en reconnaissant les limites du diagnostic microbiologique de la tuberculose (y compris la tuberculose MR) chez les enfants ;

L'accès aux méthodes classiques, microscopie, culture et tests de pharmacosensibilité, reste nécessaire pour le suivi du traitement, pour les enquêtes de prévalence et/ou pour la surveillance et pour obtenir des isoléments en vue de la détermination de la pharmacosensibilité pour les médicaments autres que la rifampicine (dont les médicaments antituberculeux de deuxième intention).

6. Considérations relatives à la mise en œuvre

Comme pour toute nouvelle technique, il faut tenir compte d'un certain nombre de points relatifs à la mise en œuvre pour que l'utilisation du système Xpert MTB/RIF soit optimale, parmi lesquels :

- **Positionnement** : le système Xpert MTB/RIF convient pour une utilisation **au niveau des districts et des sous-districts**. Bien que les tests avec ce système ne nécessitent pas d'équipements de laboratoire supplémentaires, l'appareillage de pointe suppose certaines précautions au niveau de la manipulation, c'est-à-dire une alimentation électrique stable et ininterrompue, pour éviter l'interruption des tests en cours et la perte des résultats qui s'ensuivrait, la sécurité contre le vol, un espace suffisant pour l'entreposage des cartouches, du personnel dédié pour faire les tests et des procédures de sécurité biologique comparables à celles pour la microscopie ;
- L'adoption du système Xpert MTB/RIF ne supprime pas la nécessité de recourir aux méthodes classiques, microscopie, culture et détermination de la pharmacosensibilité. La microscopie et/ou la culture restent nécessaires pour le suivi du traitement car, à ce niveau, il est improbable qu'un test de détection de l'ADN soit adapté. **Il ne faut donc pas utiliser le système Xpert MTB/RIF pour le suivi des traitements**. Par ailleurs, la culture classique et les tests de pharmacosensibilité restent indispensables pour détecter les résistances aux médicaments antituberculeux autres que la rifampicine ;
- Les situations et les algorithmes pour l'utilisation du système Xpert MTB/RIF doivent se fonder sur **l'épidémiologie spécifique du pays** (tuberculose, VIH et tuberculose MR), **les ressources disponibles** et l'anticipation du rapport **coût/efficacité**. Le document *WHO Rapid Implementation of Xpert MTB/RIF, 2011* donne des algorithmes provisoires de diagnostic.
- Les coûts du test doivent être comparés aux bénéfices pour la santé publique et pour le patient lui-même, notamment en terme d'économies directes liées au raccourcissement du délai de diagnostic, aux avantages médicaux et sociaux et à la réduction de la transmission allant de pair avec un traitement précoce et adapté ;
- Les pays utilisant déjà des essais d'hybridation inverse de sondes moléculaires en ligne (LiPA) pour le diagnostic rapide de la résistance à la rifampicine peuvent introduire le système Xpert MTB/RIF à des niveaux moins élevés des services de laboratoire (en général au niveau des districts ou des sous-districts), vu que le LiPA convient pour des analyses à haut rendement dans les laboratoires au niveau central ou régional (<http://www.who.int/tb/laboratory/en/>) ;
- La valeur prédictive négative (VPN)^{iv} du test Xpert MTB/RIF dépasse les 99 % en situation de prévalence faible comme de prévalence élevée de la résistance à la rifampicine, c'est-à-dire qu'un résultat négatif exclut avec exactitude la possibilité de cette résistance et aucun autre test n'est requis pour confirmer les résultats négatifs.
- La valeur prédictive positive (VPP)^v du test Xpert MTB/RIF dépasse les 90 % dans les situations ou groupes de population où la prévalence sous-jacente de la résistance à la rifampicine est supérieure à 15 %. Elle s'établit entre 71 % et 84 % si la prévalence se situe entre 5 % et 10 % et diminue en dessous de 70 % si la prévalence n'atteint pas 5 %. Dans ces circonstances, des résultats positifs du test Xpert MTB/RIF doivent être confirmés par les tests classiques de pharmacosensibilité ou par LiPA. On peut considérablement améliorer la VPP par une évaluation soigneuse du risque pour chaque patient et en ciblant les tests Xpert MTB/RIF, comme il est décrit dans le document *WHO Rapid Implementation of Xpert MTB/RIF, 2011* ;

^{iv} VPN pour la résistance à la rifampicine : proportion de cas diagnostiqués comme étant sensibles à la rifampicine qui le sont réellement.

^v VPP pour la résistance à la rifampicine : proportion de cas diagnostiqués comme étant résistants à la rifampicine qui le sont réellement.

- L'adoption du système Xpert MTB/RIF doit être décidée par les ministères de la santé **dans le cadre de plans nationaux pour la prise en charge de la tuberculose, de la tuberculose MR et de la tuberculose associée au VIH**, comportant l'élaboration de stratégies de dépistage spécifiques au pays, un accès en temps voulu aux médicaments antituberculeux de première et de deuxième intention et des dispositions adaptées pour la prestation des soins ;
- L'adoption du système Xpert MTB/RIF doit se faire **progressivement** dans le cadre de plans nationaux de renforcement des laboratoires, vu que le système GeneXpert peut aussi apporter une plate-forme technologique pour d'autres services de diagnostic et qu'il peut y avoir une réduction des dépenses en fournissant des services de laboratoire intégrés ;
- Comme le système Xpert MTB/RIF ne détecte que la résistance à la rifampicine, les pays ayant des cas avérés ou présumés de **tuberculose UR** devraient se doter des capacités pour la culture classique et la **détermination de la pharmacosensibilité pour les médicaments de deuxième intention**, ou les développer, en se fondant sur les lignes directrices actuelles de l'OMS ;
- Les cartouches du système Xpert MTB/RIF et le réactif pour les échantillons doivent être conservés entre 2 et 28°C conformément aux recommandations du fabricant. Les cartouches sont assez volumineuses dans leur conditionnement d'origine et nécessitent **un espace de stockage important**.
- La capacité maximale d'un seul appareil GeneXpert à 4 modules est de **20 échantillons par jour**. Les sites ayant une plus forte activité devront donc soit disposer de plusieurs appareils à quatre modules, soit d'appareils plus grands (à 16 modules ou plus), avec les conséquences que cela entraîne au niveau des coûts et du stockage.
- **La température ambiante pour le fonctionnement de l'appareil** GeneXpert recommandée par le fabricant est actuellement de 30°C au maximum. Dans les lieux où cette limite est régulièrement dépassée, on envisagera l'air conditionné dans la salle où les tests sont pratiqués ;
- Les cartouches Xpert MTB/RIF ont une durée de conservation de 18 mois, ce qui représente une difficulté dans les zones relativement inaccessibles avec des procédures complexes de dédouanement. En général, ces cartouches sont expédiées avec une durée de conservation minimale de 6 à 9 mois garantie par le fabricant à partir de la date d'expédition. **La gestion de l'inventaire** sur la base de l'usage, de la durée de conservation et des délais de livraison des commandes est donc nécessaire ;
- Pour les modules GeneXpert, il faut un **étalonnage annuel** devant être fait par un distributeur commercial ou en échangeant les anciens modules par des modules étalonnés. Il faut négocier avec le fournisseur un contrat de vente détaillé et un plan d'appui au client, afin de garantir un approvisionnement large et continu en cartouches, le dédouanement, l'entretien, l'étalonnage, les réparations et le remplacement ;
- Il faut prendre des dispositions pour la **transmission rapide** des résultats des tests Xpert MTB/RIF aux cliniciens et l'accès en temps voulu au traitement adapté pour que les patients puissent bénéficier des avantages du diagnostic précoce ;
- Les dépenses d'investissement et de fonctionnement du Xpert MTB/RIF sont sensiblement plus élevées que pour la microscopie, mais semblables à celles pour l'exécution des cultures et la détermination de la pharmacosensibilité. On s'attend à ce que le coût de fabrication (et donc d'achat) diminuent avec l'augmentation de la demande et des volumes de fabrication. FIND a négocié un tarif préférentiel pour le système Xpert MTB/RIF à l'intention du secteur de la santé publique dans les pays en développement ; pour en savoir plus à ce sujet, consulter : <http://finddiagnostics.org>.

7. Implications pour la recherche

Dans le domaine de la recherche opérationnelle, une série de questions a été identifiée à propos de l'introduction du système Xpert MTB/RIF et de son impact sur le diagnostic de la tuberculose, de la tuberculose MR et sur la prise en charge des patients. Même si ces questions ne doivent pas constituer un motif pour empêcher ou retarder la mise en œuvre du Xpert MTB/RIF, les priorités sont les suivantes :

- Évaluation des algorithmes provisoires de diagnostic dans diverses situations épidémiologiques, géographiques et pour différentes populations de patients ;
- Rapports coût/efficacité et coût/avantages du système Xpert MTB/RIF dans diverses situations programmatiques ;
- Évaluation du système Xpert MTB/RIF pour la tuberculose extrapulmonaire et pédiatrique ;
- Évaluation de l'impact du système Xpert MTB/RIF dans la réduction des délais de diagnostic et de mise en route d'un traitement adapté ;
- Évaluation de l'impact du système Xpert MTB/RIF sur l'accès au traitement et les issues thérapeutiques, en particulier dans les populations difficiles d'accès.

Le document *WHO Rapid Implementation of Xpert MTB/RIF, 2011* décrit les principaux sujets de la recherche opérationnelle pour le système Xpert MTB/RIF.

8. Plans de soutien au lancement du système Xpert MTB/RIF

L'OMS a organisé une consultation mondiale du 30 novembre au 2 décembre 2010 au cours de laquelle les participants, après avoir discuté des considérations relatives à la mise en œuvre pour le lancement du système Xpert MTB/RIF, sont parvenus à un large consensus sur la marche à suivre. Cette consultation a principalement abouti à un accord sur des algorithmes provisoires de diagnostic, à une décision sur le positionnement du test pour les groupes à risque à différents niveaux des services de santé et à des considérations relatives à la mise en œuvre pour le lancement du système dans les programmes, afin d'optimiser l'utilisation et les avantages de la technique. Les algorithmes provisoires de diagnostic mis au point initialement en consultation avec les groupes de travail respectifs du partenariat Halte à la tuberculose (GLI, MDR-TB, DOTS Expansion et TB/HIV), ont été étudiés en profondeur et révisés lors de la consultation mondiale.

En mars 2010, le document pour la mise en œuvre rapide, rédigé par le Département Halte à la tuberculose de l'OMS, a été largement diffusé par courriel et posté sur différents sites Web de parties prenantes. Ce document décrit les conditions pour un lancement systématique du test Xpert MTB/RIF dans diverses situations au niveau de l'épidémiologie comme des ressources, avec en perspective une mise en œuvre à grande échelle sur la base des données des programmes collectées au cours de la phase de lancement. Il contient des algorithmes provisoires de diagnostic, les méthodes recommandées pour la prise en charge des patients et les aspects opérationnels/logistiques devant être pris en compte en mettant en œuvre le système Xpert MTB/RIF.

Avec la coopération de ses partenaires, l'OMS assurera une coordination mondiale du lancement du système Xpert MTB/RIF, afin d'éviter la duplication totale ou partielle des efforts. Au cours de cette phase, un site dédié sur le Web sera mis en place pour cartographier l'adoption du système, communiquer sur les problèmes opérationnels signalés sur le terrain et sur les mesures correctives

qui sont prises. Les pays et les partenaires qui entreprennent le lancement de ce système sont invités à participer à cet effort, à appliquer les algorithmes provisoires de diagnostic et à contribuer à la collecte standardisée des données. L’OMS devait réunir fin 2011 les premiers à mettre en œuvre le système pour partager et examiner leurs observations. Les résultats et le perfectionnement ultérieur des stratégies de test à partir de la phase de lancement serviront à orienter la future extension du système Xpert MTB/RIF au niveau des pays.

9. Références

1. Schünemann H.J., Oxman A.D., Brozek J., Glasziou P., Jaeschke R., Vist G.E., Williams J.W., Jr., Kunz R., Craig J., Montori V.M., Bossuyt P., Guyatt G.H. Grading quality of evidence and strength of recommendations for diagnostic tests and strategies. *BMJ*, 2008; 336:1106-1110. PMID: 18483053
2. WHO STAG-TB Report 2010. Disponible sur : http://www.who.int/tb/advisory_bodies/stag_tb_report_2010.pdf.
3. Xpert MTB/RIF: Expert Group Meeting Report. OMS, Genève. Septembre 2010. Disponible sur : <http://www.who.int/tb/laboratory/en/>
4. WHO Framework for Implementing TB Diagnostics, 2011. Disponible sur : http://www.who.int/tb/laboratory/whopolicy_framework_mar2011.pdf
5. Rapid Implementation of Xpert MTB/RIF. OMS, Genève WHO/HTM/TB/2011.2, 2011. Disponible sur : <http://www.who.int/tb/laboratory/en/>

MANUSCRITS PUBLIÉS

1. Banada PP, Sivasubramani SK, Blakemore R, Boehme C, Perkins MD, Fennelly K, et al. Containment of bioaerosol infection risk by the Xpert MTB/RIF assay and its applicability to point-of-care settings. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009. Oct; 48(10):3551-7.
2. Blakemore R, Story E, Helb D, Kop J, Banada P, Owens MR, et al. Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009. Jul; 48(7):2495-501.
3. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *The New England Journal of Medicine*, 2010; Sep; 363(11):1005-15.
4. Boehme CC, Nichol MP, Nabeta P, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet* 2011 Published online April 19, 2011 DOI:10.1016/S0140-6736(11)60438-8.
5. Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *Journal of Clinical Microbiology* 2010. Jan; 48(1):229-37.
6. Marlowe EM, Novak-Weekley SM, Cumpio J, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF assay for the direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex from respiratory specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 2011. Published online 2 February, 2011 DOI:10.1128/JCM.02214-10.
7. Moure R, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and rifampin resistance in smear-negative clinical samples by use of an integrated real-time PCR method. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011 Mar; 49(3):1137-9.
8. Small PM, Pai M. Tuberculosis diagnosis-time for a game change. *The New England Journal of Medicine* 2010. Sep 9; 363(11):1070-1.
9. Theron G, Peter J, et al. Evaluation of the Xpert® MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* published ahead of print on April 14, 2011 as doi:10.1164/rccm.201101-0056OC.
10. Van Rie A, Page-Shipp L, Scott L, Sanne I, Stevens W. Xpert((R)) MTB/RIF for point-of-care diagnosis of TB in high-HIV burden, resource-limited countries: hype or hope? *Expert Review of Molecular Diagnostics* 2010. Oct; 10(7):937-46.

POSTERS PUBLIÉS

1. Catharina C Boehme, Pamela Nabeta, Girts Skenders, Tatiana Caceres, Lee Christel, David Alland, Martin Jones and Mark D Perkins. First evaluation of Xpert MTB prototype assay for rapid detection of pulmonary TB and MDR TB in Peru and Latvia. IUATLD, Paris, octobre 2008.
2. S. Naidoo (Lancet Laboratories, South Africa). Evaluation of GeneXpert MTB/RIF assay on pulmonary and extrapulmonary samples in a high throughput routine laboratory. ECCMID, Vienne, avril 2010.
3. S. Naidoo (Lancet Laboratories, South Africa). Evaluation of Xpert MTB/RIF assay on pulmonary samples in a high throughput routine laboratory. Pathvine Congress, Le Cap, août 2010.
4. P. Ioannidis, D. Papaventsis, S. Nikolaou, S. Karabela, M. Panagi, A. Raftopoulou, E. Konstantinidou, I. Marinou, S. Kanavaki (National Reference Laboratory, Greece) Evaluation of GeneXpert MTB/RIF Assay

for MTB Detection and Rifampicin resistance in Athens, Greece. 31st Annual ESM Congress, Bled (Slovénie), juillet 2010.

5. Nataša Fajfar, Urška Bidovec-Stojkovič, Manca Žolnir-Dovč (University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik, Slovenia) Evaluation of GeneXpert MTB/RIF assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance in a routine laboratory setting in Slovenia. 31st Annual ESM Congress, Bled (Slovénie), juillet 2010.
6. M.T. Tórtola, L. Nieto, M.G. Codina, N. Martín-Casabona (Microbiologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona) Detection of *M. tuberculosis* and rifampicin-resistance using a commercial PCR real time technique in respiratory and extrapulmonary samples. 31st Annual ESM Congress, Bled (Slovénie), juillet 2010.
7. B. Malbruny, G. Le Marrec, K. Courageux, R. LeClerq, V. Cattoir (Service de Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France). Rapid and Efficient Detection of *Mycobacterium tuberculosis* by the Cepheid Xpert MTB/RIF Assay, ICAAC, Boston, septembre 2010.
8. T. Bodmer, and A. Ströhle (University of Berne, Switzerland). Diagnosing pulmonary tuberculosis in a low prevalence setting: the Xpert[®] MTB/RIF test. ESM, 2010.
9. S. Filippo, Mitchelmore I, Pillai P, Mulla R (Luton and Dunstable Hospital NHS Foundation Trust, UK), Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* using Cepheid Xpert[™] MTB/RIF PCR. HPA conference, 2010.

10. Tableaux GRADE

Tableau 1. Profil des données GRADE : Xpert MTB/RIF comme test de remplacement pour la culture et les tests de pharmacosensibilité classiques dans des études multicentriques d'évaluation et de démonstration, coordonnées par FIND

Nombre de participants (études)	Conception de l'étude	Limitations	Caractère indirect	Incohérence	Imprécision	Biais de publication	Qualité des données (GRADE)	Importance
A. Résultat : Exactitude du diagnostic pour la détection de la tuberculose pulmonaire								
Vrais-positifs								
1,275 (10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)
Vrais-négatifs								
2,447 (10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)
Faux-positifs								
31 (10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)
Faux-négatifs								
118(10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)
B. Résultat : Exactitude du résultat pour la détection de la résistance à la rifampicine								
Vrais-positifs								
376 (10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)
Vrais-négatifs								
1,171(10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)
Faux-positifs								
21(10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)
Faux-négatifs								
14(10) ^{A1}	Transversale	Sérieuses (-1) ^{A2}	Pas de caractère indirect sérieux ^{A3}	Pas d'incohérence sérieuse ^{A4}	Pas d'imprécision sérieuse ^{A5}	Improbable ^{A6}	Modérée ⊕⊕⊕○	Critique (7-9)

Notes :

¹ La qualité des données a été notée comme étant élevée (pas de point retiré), modérée (1 point retiré), faible (2 points retirés) ou très faible (>2 points retirés) sur la base de cinq critères : limitations des études, caractère indirect des données, incohérence des résultats entre les études, imprécision des estimations récapitulatives et probabilité d'un biais de publication. Pour chaque résultat, la qualité des données a été considérée comme étant élevée, toutes les études étant des études transversales ou des études de cohorte, avec un recrutement préalable des patients ayant une présomption de tuberculose et/ou de tuberculose MR. Les classements des données ont été considérés comme étant les mêmes pour les vrais-positifs, les faux-positifs, les vrais-négatifs et les faux-négatifs.

^{A1} La sensibilité et la spécificité du test Xpert MTB/RIF pour la détection de la tuberculose ont été déterminées en utilisant la culture classique comme test indicateur dans les 10 études coordonnées par FIND. Ces études ont également comporté une évaluation de la sensibilité et de la spécificité du système Xpert MTB/RIF pour la détection de la résistance à la rifampicine avec la détermination classique de la pharmacosensibilité comme test indicateur. Les résultats discordants ont été résolus par séquençage du gène *rpoB*.

^{A2} Les limites des études ont été évaluées avec l'outil QUADAS. Il a été noté que, dans la majorité des études, il n'y avait pas eu d'enfants recrutés et qu'elles ont été faites dans de grands centres urbains à cause de la nécessité d'avoir pour méthodes de référence des cultures et une détermination de la pharmacosensibilité de qualité assurée. Comme le test est destiné à être utilisé dans les districts et les sous-districts, la qualité des données a été rétrogradée.

^{A3} L'exactitude du diagnostic a été considérée comme une donnée de substitution pour les résultats importants pour le patient.

^{A4} On n'a pas observé d'hétérogénéité nette entre les études au niveau de la cohérence des estimations de la sensibilité et de la spécificité signalées dans les différentes situations épidémiologiques.

^{A5} La sensibilité groupée dérivant des études avait des intervalles de confiance étroits.

^{A6} Le biais de publication a été considéré comme hautement improbable, vu que le Xpert MTB/RIF est un nouveau test, produit par un seul fabricant et disponible que pour un petit nombre de chercheurs seulement.

Tableau 2. GRADE : synthèse des résultats – Exactitude du diagnostic pour le test Xpert MTB/RIF dans les études multicentriques de validation clinique

<p><u>Question de l'étude</u> : Quelle est l'exactitude du diagnostic avec Xpert MTB/RIF pour i) la détection de la tuberculose pulmonaire ; ii) la détection de la résistance à la rifampicine ? <u>Patients/population</u> : Cas présumés de tuberculose chez l'adulte (détection de la tuberculose) ; Cas confirmés (pour la détection de la résistance à la rifampicine) <u>Cadre</u> : Études multicentriques de validation clinique <u>Tests indicateurs</u> : Culture et tests de pharmacosensibilité classiques <u>Importance</u> : Un test rapide, exact et simple pourrait remplacer la culture et les tests de sensibilité classiques avec une extension des tests à des niveaux moins élevés des services de santé. <u>Norme de référence</u> : Microscopie, culture et tests de pharmacosensibilité classiques, diagnostic clinique de la tuberculose pulmonaire <u>Études</u> : Transversales ou de cohortes</p>					
Résultats : TP, TN, FP, FN	Effet % (IC à 95 %)	Nombre de participants (études)	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 10 % chez les cas présumés ayant un dépistage de la tuberculose ?	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 30 % chez les cas présumés ayant un dépistage de la tuberculose ?	Qualité des données
Exactitude du diagnostic pour <i>M. tuberculosis</i>					
Tous les échantillons	Sensibilité 92 % (90, 94) Spécificité 99 % (98, 100)	1341 (5)	Avec une prévalence de 10 %, 100/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 92 (TP) seront identifiés ; 8 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 900 patients sans tuberculose, 891 (TN) ne seront pas traités ; 9 (FP) pourraient être traités inutilement.	Avec une prévalence de 30 %, 300/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 276 (TP) seront identifiés ; 24 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 700 patients sans tuberculose, 693 (TN) ne seront pas traités ; 7 (FP) pourraient être traités inutilement.	Modérée ⊕⊕⊕○
Frottis positif/culture positive pour les BAAR	Sensibilité 98 % (97, 99)				
Frottis négatif/culture positive pour les BAAR	Sensibilité 72 % (65, 79)				
Exactitude du diagnostic pour la résistance à la rifampicine	Effet % (IC à 95%)	Nombre de participants (études)	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 10 % de la résistance à la rifampicine chez les sujets atteints de tuberculose ?	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 30 % de la résistance à la rifampicine chez les sujets atteints de tuberculose ?	Qualité de la preuve
Tous les échantillons	Sensibilité 98 % (94, 99) Spécificité 98 % (96, 99)	720 (5)	Avec une prévalence de 10 %, 100/1000 auront une résistance à la rifampicine. Parmi eux, 98 (TP) seront identifiés ; 2 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 900 ayant une tuberculose sensible à la rifampicine, 891 (TN) ne seront pas traités pour une tuberculose MR ; 9 (FP) pourraient être traités inutilement.	Avec une prévalence de 30 %, 300/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 294 (TP) seront identifiés ; 6 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 700 patients ayant une tuberculose sensible à la rifampicine, 693 (TN) ne seront pas traités pour une tuberculose MR ; 7 (FP) pourraient être traités inutilement pour une tuberculose MR.	Modérée ⊕⊕⊕○

Tableau 3. GRADE : synthèse des résultats – Exactitude du diagnostic pour le test Xpert MTB/RIF dans les études multicentriques de validation clinique

<p><u>Question de l'étude</u> : Quelle est l'exactitude du diagnostic avec Xpert MTB/RIF pour i) la détection de la tuberculose pulmonaire ; ii) la détection de la résistance à la rifampicine ? <u>Patients/population</u> : Cas présumés de tuberculose chez l'adulte (détection de la tuberculose) ; Cas confirmés (pour la détection de la résistance à la rifampicine) <u>Cadre</u> : Études multicentriques de validation clinique <u>Tests indicateurs</u> : Culture et tests de pharmacosensibilité classiques <u>Importance</u> : Un test rapide, exact et simple pourrait remplacer la culture et les tests de sensibilité classiques avec une extension des tests à des niveaux moins élevés des services de santé. <u>Norme de référence</u> : Microscopie, culture et tests de pharmacosensibilité classiques, diagnostic clinique de la tuberculose pulmonaire <u>Études</u> : Transversales ou de cohortes</p>					
Résultats : TP, TN, FP, FN	Effet % (IC à 95 %)	Nombre de participants (études)	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 10 % chez les cas présumés ayant un dépistage de la tuberculose ?	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 30 % chez les cas présumés ayant un dépistage de la tuberculose ?	Qualité des données
Exactitude du diagnostic pour <i>M. tuberculosis</i>					
Tous les échantillons	Sensibilité 91 % (88, 93) Spécificité 99 % (98, 99)	2530 (6)	Avec une prévalence de 10 %, 100/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 91 (TP) seront identifiés ; 9 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 900 patients sans tuberculose, 891 (TN) ne seront pas traités ; 9 (FP) pourraient être traités inutilement.	Avec une prévalence de 30 %, 300/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 273 (TP) seront identifiés ; 27 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 700 patients sans tuberculose, 693 (TN) ne seront pas traités ; 7 (FP) pourraient être traités inutilement.	Modérée ⊕⊕⊕○
Frottis positif/culture positive pour les BAAR	Sensibilité 99 % (97, 100)				
Frottis négatif/culture positive pour les BAAR	Sensibilité 80 % (75, 84)				
Exactitude du diagnostic pour la résistance à la rifampicine	Effet % (IC à 95 %)	Nombre de participants (études)	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 10 % de la résistance à la rifampicine chez les sujets atteints de tuberculose ?	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 30 % de la résistance à la rifampicine chez les sujets atteints de tuberculose ?	Qualité de la preuve
Tous les échantillons	Sensibilité 95 % (91, 97) Spécificité 98 % (97, 99)	2530 (6)	Avec une prévalence de 10 %, 100/1000 auront une résistance à la rifampicine. Parmi eux, 95 (TP) seront identifiés ; 5 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 900 ayant une tuberculose sensible à la rifampicine, 882 (TN) ne seront pas traités pour une tuberculose MR ; 12 (18 ?) (FP) pourraient être traités inutilement pour une tuberculose MR.	Avec une prévalence de 30 %, 300/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 285 (TP) seront identifiés ; 15 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 700 patients ayant une tuberculose sensible à la rifampicine, 686 (TN) ne seront pas traités pour une tuberculose MR ; 14 (FP) pourraient être traités inutilement pour une tuberculose MR.	Modérée ⊕⊕⊕○

Tableau 4. GRADE : synthèse des résultats – Exactitude du diagnostic pour le test Xpert MTB/RIF dans les études monocentriques non publiées¹

<p><u>Question de l'étude</u> : Quelle est l'exactitude du diagnostic avec Xpert MTB/RIF pour i) la détection de la tuberculose pulmonaire ; ii) la détection de la résistance à la rifampicine ? <u>Patients/population</u> : Cas présumés de tuberculose chez l'adulte (détection de la tuberculose) ; Cas confirmés (pour la détection de la résistance à la rifampicine) <u>Cadre</u> : Études multicentriques de validation clinique <u>Tests indicateurs</u> : Culture et tests de pharmacosensibilité classiques <u>Importance</u> : Un test rapide, exact et simple pourrait remplacer la culture et les tests de sensibilité classiques avec une extension des tests à des niveaux moins élevés des services de santé. <u>Norme de référence</u> : Microscopie, culture et tests de pharmacosensibilité classiques, diagnostic clinique de la tuberculose pulmonaire <u>Études</u> : Transversales ou de cohortes</p>					
Résultats : TP, TN, FP, FN	Effet brut groupé %	Nombre de participants (études)	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 10 % chez les cas présumés ayant un dépistage de la tuberculose ?	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 30 % chez les cas présumés ayant un dépistage de la tuberculose ?	Qualité des données
Exactitude du diagnostic pour <i>M. tuberculosis</i>					
Tous les échantillons pulmonaires et extrapulmonaires	Sensibilité 92,5 % Spécificité 98,0 %	4373 (10)	Avec une prévalence de 10 %, 100/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 92 (TP) seront identifiés ; 8 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 900 patients sans tuberculose, 882 (TN) ne seront pas traités ; 18 (FP) pourraient être traités inutilement.	Avec une prévalence de 30 %, 300/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 278 (TP) seront identifiés ; 12 (22 ?) (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 700 patients sans tuberculose, 686 (TN) ne seront pas traités ; 14 (FP) pourraient être traités inutilement.	Modérée ⊕⊕⊕○
Exactitude du diagnostic pour la résistance à la rifampicine	Effet groupé %	Nombre de participants (études)	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 10 % de la résistance à la rifampicine chez les sujets atteints de tuberculose ?	Que signifient ces résultats avec une prévalence de 30 % de la résistance à la rifampicine chez les sujets atteints de tuberculose ?	Qualité de la preuve
Tous les échantillons pulmonaires et extrapulmonaires	Sensibilité 98,6 % Spécificité 98,8 %	917 (3)	Avec une prévalence de 10 %, 100/1000 auront une résistance à la rifampicine. Parmi eux, 98 (TP) seront identifiés ; 2 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 900 ayant une tuberculose sensible à la rifampicine, 889 (TN) ne seront pas traités pour une tuberculose MR ; 11 (FP) pourraient être traités inutilement pour une tuberculose MR.	Avec une prévalence de 30 %, 300/1000 auront la tuberculose. Parmi eux, 296 (TP) seront identifiés ; 4 (FN) seront manqués par le Xpert MTB/RIF. Sur les 700 patients ayant une tuberculose sensible à la rifampicine, 692 (TN) ne seront pas traités pour une tuberculose MR ; 8 (FP) pourraient être traités inutilement pour une tuberculose MR.	Modérée ⊕⊕⊕○

¹ Ces études ont été évaluées individuellement avec un calcul des estimations de la sensibilité et de la spécificité brutes groupées du fait de l'impossibilité de faire des méta-analyses en raison de la variation dans la conception des études, de l'utilisation de diverses normes de référence et de la disponibilité de données préliminaires seulement. La qualité des données a par conséquent été rétrogradée d'un point (sur le caractère direct).

11. Annexes

Annexe 1 : Membres du groupe d'experts pour le système Xpert MTB/RIF

Annexe 2 : Membres du personnel de l'OMS

Annexe 3 : Membres du groupe STAG-TB

Membres du groupe d'experts pour le système Xpert MTB/RIF

Dr Richard M. Anthony, PhD
 Research Coordinator Tuberculosis
 KIT Biomedical Research, Royal Tropical Institute
 Meibergdreef 39
 1105 AZ Amsterdam
 Pays-Bas
 Courriel : R.Anthony@kit.nl
Domaine d'expertise : Recherche, Microbiologie moléculaire, Développement des diagnostics

Dr Rachel Bauquerez
 Public Health Officer
 Subgroup on Introducing New Approaches and Tools (INAT Subgroup)
 Fonds mondial
 Courriel : Rachel.Bauquerez@theglobalfund.org
Domaine d'expertise : Santé publique, Financement/Bailleur de fonds

Dr Catharina Boehme
 FIND
 Fondation pour des Outils diagnostiques nouveaux et novateurs
 Avenue de Budé 16
 1202 Genève
 Suisse
 Courriel : catharina.boehme@finddiagnostics.org
Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche, Développement des diagnostics, Expérience des pays en développement

Dr Jeremiah Muhwa Chakaya
 Chief Research Officer
 Kenya Medical Research Institute
 Center for Respiratory Diseases Research
 00100 Nairobi
 Kenya
 Courriel : chakaya@materkenya.com ; chakaya.jm@gmail.com
Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche, Clinique, Santé publique, Expérience des pays en développement, Utilisateur final (Programme national de lutte contre la tuberculose)

Dr Daniela Maria Cirillo, MD PhD
 Head, Emerging Bacterial Pathogens Unit
 San Raffaele Scientific Institute
 Via Olgettina 58
 20132 Milan
 Italie
 Courriel : cirillo.daniela@hsr.it
Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche, Clinique, Microbiologie, Expérience des pays en développement

Dr Frank Cobelens
 Senior Epidemiologist
 Research Unit KNCV
 Parkstraat 17, Postbus 146
 2514 CC La Haye
 Pays-Bas
 Courriel : cobelensf@kncvtbc.nl
Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche, Épidémiologie, Expérience des pays en développement

Dr Gerrit Coetzee
 Head
 National Tuberculosis Reference Laboratory
 National Health Laboratory Service
 P.O. Box 1038
 Cnr Hospital De Karte Street
 Braamfontein
 2000 – Johannesburg
 Afrique du Sud
 Courriel : dcoetzee@phfm.uct.ac.za
Domaine d'expertise : Tuberculose, Clinique, Microbiologie, Expérience des pays en développement

Dr Saidi M. Egwaga
 Programme Manager
 Ministry of Health and Social Welfare
 National TB and Leprosy Programme
 P.O. Box 9083
 Dar Es-Salam
 République-Unie de Tanzanie
 Courriel : tantci@intafrica.com
Domaine d'expertise : Utilisateur final (Programme national de lutte contre la tuberculose), Expérience des pays en développement

Ms Christy Hanson
 US Agency for International Development (USAID)
 USAID/BGH/HIDN/ID
 3.7.23, 3rd Floor
 Ronald Reagan Building
 20523-5900 – Washington, DC
 États-Unis d'Amérique
 Courriel : chanson@usaid.gov
Domaine d'expertise : Santé publique, Financement/Bailleurs de fonds, Expérience des pays en développement

Dr Doris Hillemann
 National Reference Laboratory for Mycobacteria
 Research Center Borstel
 Parkallee 18
 D-23845 Borstel
 Allemagne
 Courriel : dhillemm@fz-borstel.de
Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche, Clinique, Microbiologie, Microbiologie moléculaire, Expérience des pays en développement

Dr Aamir Khan
Director
MDR-TB Control Program
The Indus Hospital
Korangi Crossing
75190 Karachi
Pakistan

Courriel : aamir.khan@irdresearch.org

Domaine d'expertise : Tuberculose, Clinique,
Tuberculose MR, Expérience des pays en
développement

Dr Ruth McNerney
Department of Infectious and Tropical
Diseases
Room 358, London School of Hygiene & Tropical
Medicine
Keppel Street, Londres WC1E 7HT
Royaume-Uni

Courriel : Ruth.Mcnerney@lshtm.ac.uk

Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche,
Développement des diagnostics, Expérience des
pays en développement

Dr Rick O'Brien
Chef d'évaluation des produits
Fondation pour des Outils diagnostiques nouveaux
et novateurs
Avenue de Budé 16
1202 Genève
Suisse

Courriel : rick.obrien@finddiagnostics.org

Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche,
Développement des diagnostics, Expérience des
pays en développement

Dr Giorgio Roscigno
CEO, FIND
Fondation pour des Outils diagnostiques nouveaux
et novateurs
Avenue de Budé 16
1202 Genève
Suisse

Courriel : Giorgio.rosicigno@finddiagnostics.org

Domaine d'expertise : Tuberculose, Recherche,
Développement des diagnostics, Expérience des
pays en développement

Dr Holger Schünemann
Chair, Department of Clinical Epidemiology &
Biostatistics
Department of Clinical Epidemiology & Biostatistics
McMaster University Health Sciences Centre,
Room 2C10B

1200 Main Street West

Hamilton, ON L8N 3Z5, Canada

Courriel : schuneh@mcmaster.ca

Domaine d'expertise : Spécialiste de la méthode
GRADE, Épidemiologiste

Dr Thomas M. Shinnick
Associate Director for Global Laboratory Activities
Centres for Disease Control and Prevention

1600 Clifton Road

MS-G35, NE

30333 Atlanta, GA

États-Unis d'Amérique

Courriel : tms1@cdc.gov

Domaine d'expertise : Tuberculose, Microbiologie,
Microbiologie moléculaire, Recherche

Mr Javid Syed
TB/HIV Project Director
Community Rep.

Treatment Action Group (TAG)

611 Broadway, Suite 308

NY 10012 – New York, New York

États-Unis d'Amérique

Courriel : javid.syed@treatmentactiongroup.org

Domaine d'expertise : Représentant des
patients/communautés, expérience des pays en
développement

Membres du personnel de l’OMS

Siège de l’OMS

Léopold Blanc
Courriel : blancl@who.int

Katherine Floyd
Courriel : floydk@who.int

Haileyesus Getahun
Courriel : getahunh@who.int

Christopher Gilpin
Courriel : gilpinc@who.int

Jean Iragena
Courriel : iragenaj@who.int

Wieslaw Jakubowiak
Courriel : jakubowiakw@who.int

Ernesto Jaramillo
Courriel : jaramilloe@who.int

Christian Lienhardt
Courriel : lienhardtc@who.int

Fuad Mirzayev
Courriel : mirzayevf@who.int

Paul Nunn
Courriel : nunnp@who.int

Mario Raviglione
Courriel : raviglionem@who.int

Diana Weil
Courriel : weild@who.int

Karin Weyer
Courriel : weyerk@who.int

Matteo Zignol
Courriel : zignolm@who.int

Régions de l’OMS

Dr Akihiro Seita, EMRO
Courriel : seitaa@emro.who.int

Dr Ranjani Ramachandran, SEARO
Courriel : ramachandranr@searo.who.int

OMS-TDR

Dr Andrew Ramsay
Courriel : ramsaya@who.int

Dr Véronique Vincent
Courriel : vincentv@who.int

Membres du STAG-TB

Dr Salah Al Awaidy

Director
 Department of Communicable Disease
 Surveillance & Control
 DGHA, HQ, Ministry of Health
 PO Box 393
 Muscat 113
 Oman

Dr Kenneth Castro

Director, Division of TB Elimination
 Centers for Disease Control and Prevention
 1600 Clifton Road, NE, MS E-10
 Atlanta, GA 30333
 États-Unis d'Amérique

Dr Jeremiah Muhwa Chakaya

Chief Research Officer,
 Centre for Respiratory Diseases Research
 Kenya Medical Research Institute
 47855 00100 Nairobi
 Kenya

Ms Lucy Chesire

TB Advocacy Adviser
 Kenya AIDS NGOs Consortium
 KANCO
 Chaka Road off Argwings Kodhek Road, P.O. Box
 69866 00400 Nairobi
 Kenya

Dr Elizabeth Corbett

Reader in Infectious and Tropical Diseases
 London School of Tropical Medicine & Hygiene
 and MLW Research Programme
 PO Box 30096 Chichiri, Blantyre 3, Malawi

Charles L. Daley

Head
 Division of Mycobacterial and Respiratory
 Infections
 National Jewish Medical and Research Center
 5301 Nassau Circle E
 Englewood, CO 80113
 États-Unis d'Amérique

Dr Pam Das

Executive Director
 The Lancet
 32 Jamestown Road
 London NW1 7BY
 Royaume-Uni

Professor Francis Drobniowski

Director, Health Protection Agency National
 Mycobacterium Reference Unit
 Institute for Cell and Molecular Sciences,
 Barts and the London School of Medicine
 Clinical Sciences Research Center
 2 Newark Street
 London E1 2AT
 Royaume-Uni

Dr Wafaa El-Sadr

CIDER
 Mailman School of Public Health
 Columbia University
 506 Lenox Avenue Room 3101A
 New York NY 10037
 États-Unis d'Amérique

Dr Paula I. Fujiwara

Senior Technical Advisor
 International Union Against Tuberculosis
 and Lung Disease (The Union)
 68 Blvd St. Michel
 75006 Paris
 France

Dr Yuthichai Kasetjaroen

Director
 Bureau of Tuberculosis
 Ministère de la Santé
 Thaïlande

Prof Vladimir Malakhov

National Center for External Quality
 Assessment in Laboratory Testing
 of Russian Federation
 10, Petroverigsky pereulok,
 101431, Moscou
 Russie

Dr Mao Tang Eang

Advisor to the Minister of Health
 Director, National Center for Tuberculosis and
 Leprosy Control
 Ministère de la Santé
 Cambodge

Dr Giovanni Battista Migliori

Director
WHO Collaborating Centre for Tuberculosis and
Lung Diseases
Fondazione Salvatore Maugeri, IRCCS
Via Roncaccio 16
21049 Tradate, VA
ITALIE

Dr Megan Murray

Associate Professor of Epidemiology
Department of Epidemiology, Kresge 802
677 Huntington Avenue
Boston, MA 02115
États-Unis d'Amérique

Dr Yogan Pillay

Deputy Director General
Strategic Health Programmes
Department of Health
Private Bag X828
Pretoria 0001
Afrique du Sud

Dr Minghui Ren

Director-General
Department of International Cooperation
Ministry of Health, China
1 Xizhimenwai Nanlu
Beijing 100044
Chine

Dr Rajendra Shukla

Joint Secretary
Ministry of Health & Family Welfare
Room ; # 147, Wing A
Nirman Bhawan, New Delhi 110008
Inde

Dr Pedro Guillermo Suarez

TB & TB-HIV/AIDS
Center for Health Services
Management Sciences for Health
4301 North Fairfax Drive – Suite 400
Arlington, VA 22203
États-Unis d'Amérique

Dr Marieke van der Werf

Head, Unit Research, Senior Epidemiologist
KNCV Tuberculosis Foundation
Parkstraat 17
2514 JD La-Haye
Pays-Bas

Dr Rosalind G. Vianzon

National TB Programme Manager
National Center for Disease Control and Prevention
Department of Health
4th Floor, Building 13
San Lazaro Compound, Santa Cruz
Manille
Philippines

Dr Tido Von Schön-Angerer

Executive Director
Campaign for Access to Essential Medicines
Médecins Sans Frontières
CP 116
78 Rue de Lausanne
1211 Genève 21

ISBN 978 92 4 250154 4



9 789242 501544

