



**Rôle du GENEXpert MTB/RIF dans le diagnostic de la
tuberculose Expérience du laboratoire centrale du CHU**

Hassan II de Fès

Mémoire présenté par

Docteur BRAOUL Michkate

Né le 30 mars 1993

Pour l'obtention du Diplôme de Spécialité en médecine

Option : BIOLOGIE MÉDICALE

Rapporteur : **Professeur KOUARA Sara**

Sous la direction de : **Professeur MAHMOUD Mustapha**

Session Juin 2025

DR. SARA KOUARA
Microbiologie - Médecine
Hassan II - Fès

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ct : cycle Threshold

Cp : crossing point

d’NTPs : désoxyribonucléotide

DST : Drug-Susceptibility Testing

ID : Identifiant

LCR : Liquide Céphalo rachidien

MTB : Mycobacterium tuberculosis

MTB/RIF : Mycobacterium tuberculosis /Rifampicine

MDR-TB : tuberculose multi-résistante

MR : Multi-résistante

NIH : institut national de la santé

OMS : l'Organisation mondiale de la santé

PCC : Contrôle de vérification de la sonde (Probe Check Control)

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)

SPC : Sample Processing Control

SR : Réactif d'échantillon (Sample's Reagent)

RIF : Rifampicine

RR : La tuberculose résistante à la rifampicine

TB-MR : tuberculose Multi-résistante

TB : tuberculose

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VPP : Valeur Prédicative Positive

XDR-TB : tuberculose ultra-résistante

Table des matières

I.	INTRODUCTION	7
II.	MATERIEL ET METHODES	10
1.	Type d'étude :	11
2.	Cadre d'étude :	11
3.	Echantillon et Série d'étude :	11
4.	Critères d'inclusion	11
5.	Les critères d'exclusion	12
6.	Analyse des données	12
III.	RESULTATS	13
1.	Aspect épidémiologique :	14
a)	Fréquence	14
b)	Répartition selon le sexe :	15
c)	Répartition selon l'âge :	15
2.	Analyse des différents prélèvements	16
3.	Indication	17
4.	Résultats	18
5.	Charge bactérienne	21
6.	Résistance à la rifampicine	22
IV.	DISCUSSION	23

1. EPIDEMIOLOGIE	24
a) Épidémiologie de la Tuberculose dans le Monde	24
b) Épidémiologie de la Tuberculose au Maroc	25
2. GENEXPERT	27
a) Définition :	27
b) Historique : (9)	27
c) Principe du GeneXpert	29
d) Matériel du système GeneXpert :	33
e) Mode opératoire de la réalisation du test Xpert MTB/RIF (14) :	39
f) Résultats :	50
g) Interprétation des résultats (Figure 25) : (14)	55
h) Avantages du test (14)	59
• Rapidité : Les résultats sont disponibles en moins de 2 heures.	59
i) Limitations techniques (14)	59
3. APPORT DU GENEEXPERT	59
V. CONCLUSION	64

Liste des figures

Figure 1 : Proportion des cas positifs et négatifs à la tuberculose détectés par GeneXpert. _____	14
Figure 2 : Répartition des cas positifs selon le sexe. _____	15
Figure 3 : Répartition de la population étudiée selon l'âge. _____	16
Figure 4 : Répartition des prélèvements positifs selon le type d'échantillon. ____	17
Figure 5 : Résultats des tests MTB/RIF en fonction de la charge bactérienne détectée. _____	21
Figure 6 : Carte mondiale de l'incidence de la tuberculose (cas pour 100 000 habitants) _____	24
Figure 7 : Taux de notification des cas par région en 2021 au Maroc _____	26
Figure 8 : Représentation schématique des différentes méthodes de détection des produits PCR (11)_____	30
Figure 9 : Schématisation du principe de la PCR en temps réel(11) _____	31
Figure 10 : Le suivi en temps réel d'une réaction PCR (13) _____	33
Figure 11 : Présentation de la plateforme du système GeneXpert MTB/RIF (14) _____	34
Figure 12 : Composition du module GeneXpert (14)_____	35
Figure 13 : Composition du module I-CORE (14)_____	36
Figure 14 : Configuration de la cartouche du système GeneXpert (14)_____	37
Figure 15 : Rôles des différents composants de la cartouche (14) _____	37
Figure 16 : Coupe horizontale de la cartouche montrant les différentes chambres (14) _____	38
Figure 17 : Description des différentes étapes du GeneXpert (14) _____	40

Figure 18 : Protocole de préparation d'un échantillon à partir de crachat direct (14)	41
Figure 19 : Exemple d'étiquetage non conforme de la cartouche (14)	45
Figure 20 : Vue supérieure de la cartouche mettant en évidence la zone d'introduction de l'échantillon préparé (14)	46
Figure 21 ; Courbes sigmoïdes témoignant les résultats de la PCR en temps réel (15)	51
Figure 22 : Absence de détection du <i>M. tuberculosis</i> (14)	52
Figure 23 : Détection du <i>M.tuberculosis</i> en faible quantité et de la résistance à la Rifampicine (14)	53
Figure 24 : Détection du <i>M.tuberculosis</i> en quantité moyenne et l'absence de la résistance à la Rifampicine (14)	54
Figure 25 ; Interprétations des résultats du test Xpert MTB/RIF (15)	58

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Répartition des cas de tuberculose pulmonaire et extrapulmonaire avec taux de positivité	19
Tableau 2 : Répartition des différents types de prélèvements avec leur pourcentage de positivité.	20
Tableau 3 : Résultats possibles du test GeneXpert et leur signification	55

•

I. INTRODUCTION

La tuberculose (TB) reste l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde, malgré les avancées considérables en médecine et les efforts collectifs pour son contrôle. En 2023, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que près de 10,8 millions de personnes ont été atteintes par cette maladie, entraînant environ 1,5 million de décès, ce qui en fait l'une des infections les plus meurtrières à ce jour (1).

Le Maroc n'échappe pas à ce fléau. En 2019, l'OMS estimait à 35 000 le nombre de nouveaux cas dans le pays, avec environ 2 900 décès liés à la tuberculose, correspondant à un taux de mortalité spécifique de 8,1 pour 100 000 habitants. En 2020, le nombre de cas enregistrés était de 29 018, toutes formes confondues, selon le Bulletin d'épidémiologie et de santé publique publié par le ministère marocain de la santé en 2021 (2).

Un diagnostic précoce et précis constitue une pierre angulaire dans la lutte contre la tuberculose. Cela permet non seulement de limiter la propagation de la maladie, mais également d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients. Cependant, les méthodes traditionnelles de diagnostic, comme la microscopie ou la culture bactérienne, montrent certaines limites. Bien que la culture soit considérée comme la méthode de référence (gold standard), elle nécessite plusieurs semaines pour fournir un résultat, retardant ainsi le début des traitements appropriés (3).

Face à cette problématique, des technologies diagnostiques innovantes ont vu le jour pour accélérer et améliorer la détection de la TB, notamment ses formes résistantes. Parmi elles, le GeneXpert MTB/RIF s'est imposé comme une solution révolutionnaire. Basée sur la PCR en temps réel, cette technologie permet un diagnostic rapide en moins de deux heures avec une sensibilité et une spécificité élevées. En plus de détecter *Mycobacterium tuberculosis*, elle offre la possibilité d'identifier simultanément une résistance à la rifampicine, un indicateur clé des cas de tuberculose

multirésistante (TB-MR). Cet outil facilite ainsi une réponse thérapeutique adaptée en un temps record (4).

Dans cette optique, notre étude se propose d'évaluer l'efficacité diagnostique du GeneXpert MTB/RIF au sein du laboratoire central du CHU Hassan II de Fès. Elle vise également à mettre en évidence son impact sur l'amélioration de la prise en charge des patients atteints de tuberculose dans cette structure hospitalière.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective qui s'est déroulée sur une période d'un an, allant de décembre 2023 au novembre 2024.

2. Cadre d'étude :

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire central du Centre Hospitalier Hassan II de Fès

3. Echantillon et Série d'étude :

L'étude étant réalisée sur une période de 12 mois, nous avons colligé 65 patients présentant une tuberculose pulmonaire ou extrapulmonaire confirmée biologiquement par le GeneXpert MTB/RIF, Les prélèvements analysés comprenaient divers types d'échantillons biologiques, à savoir des expectorations, des liquides biologiques (pleural, péritonéal, céphalo-rachidien), des échantillons d'urine, des biopsies et des prélèvements de pus.

Tous ces échantillons ont été soigneusement acheminés au laboratoire dans des conditions stériles et réfrigérées afin d'assurer leur intégrité.

4. Critères d'inclusion

- Patients adultes ou pédiatriques présentant des signes cliniques évocateurs d'une tuberculose pulmonaire ou extrapulmonaire.
- Cas où l'analyse cytologique des ponctions (comme les liquides pleuraux, d'ascite ou lombaires) révélait une prédominance lymphocytaire, ce qui constitue un indice en faveur d'une infection tuberculeuse.

5. Les critères d'exclusion

- Patients n'affichant pas de symptômes compatibles avec une possible tuberculose ou des résultats biologiques ne suggérant pas la présence de la maladie.

6. Analyse des données

Les informations collectées ont été rigoureusement analysées. Les résultats obtenus ont été illustrés sous forme de pourcentages et de graphiques afin d'évaluer l'efficacité de l'outil GeneXpert dans le diagnostic de la tuberculose.

III. RESULTATS

1. Aspect épidémiologique :

a) Fréquence

Dans le cadre de la recherche d'une tuberculose pulmonaire ou extrapulmonaire au cours d'une année, un total de 507 prélèvements de différents liquides biologiques a été reçu par le laboratoire central du Centre Hospitalier Hassan II Fès, pour suspicion de tuberculose pulmonaire ou extrapulmonaire.

Parmi ces prélèvements, 65 se sont révélés positifs à la tuberculose, soit un taux de positivité de 12,8%. Ces résultats mettent en évidence l'importance du GeneXpert dans le diagnostic de la tuberculose, en particulier dans des contextes cliniques variés.

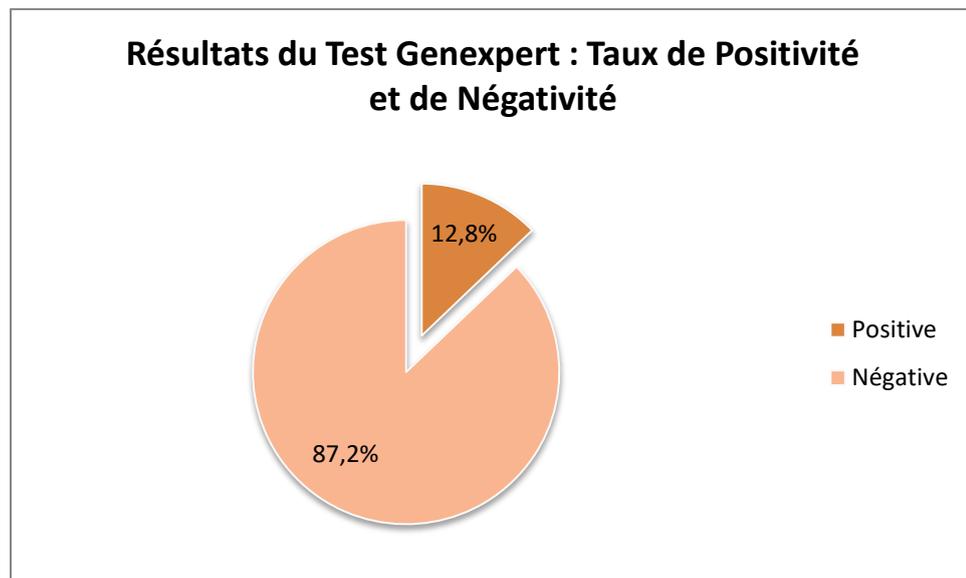


Figure 1 : Proportion des cas positifs et négatifs à la tuberculose détectés par GeneXpert.

b) Répartition selon le sexe :

Sur les 65 patients, 27 (41,5 %) étaient des femmes et 38 (58,5 %) étaient des hommes. L'âge moyen était de 43ans.

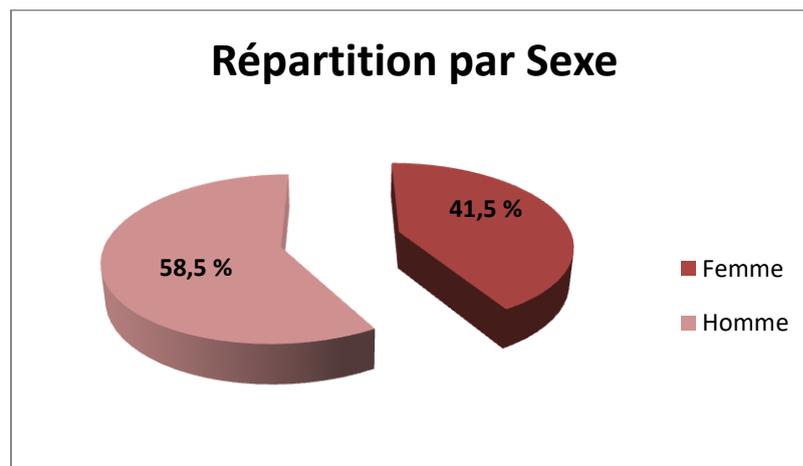


Figure 2 : Répartition des cas positifs selon le sexe.

c) Répartition selon l'âge :

L'âge moyen de nos patients était de 43 ans, avec des extrêmes allant de 6 ans à 83 ans. 35% des patients atteints de tuberculose avaient un âge entre 40 et 60 ans.

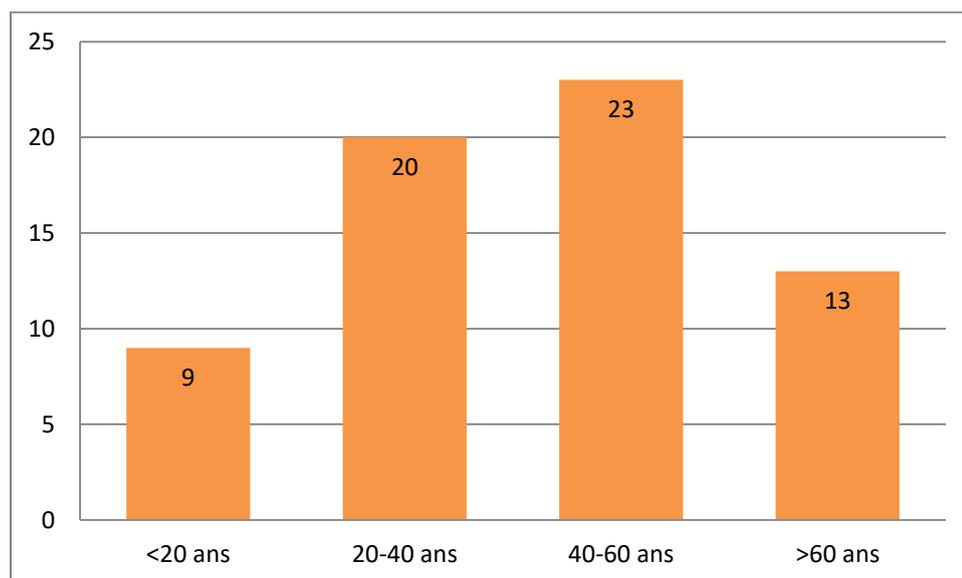


Figure 3 : Répartition de la population étudiée selon l'âge.

2. Analyse des différents prélèvements

L'analyse des prélèvements positifs met en évidence une prédominance des expectorations (53,8 %), confirmant que la tuberculose pulmonaire reste la forme la plus fréquente de la maladie. En complément, le liquide de fibroaspiration représente 7,7 % des prélèvements positifs. Cette technique, utilisée principalement chez les patients ayant des difficultés à produire des expectorations spontanées, permet d'améliorer le rendement diagnostique, notamment chez les enfants et les patients paucibacillaires.

Parmi les formes extrapulmonaires, le liquide céphalo-rachidien est le plus représenté (15,4 %), soulignant la gravité de la tuberculose neuro-méningée, qui nécessite une prise en charge rapide. Le liquide péritonéal (7,7 %) reflète l'atteinte abdominale, souvent diagnostiquée tardivement en raison de symptômes cliniques non spécifiques. Ces résultats montrent l'importance du GeneXpert

MTB/RIF dans la détection précoce de la tuberculose, qu'elle soit pulmonaire ou extrapulmonaire, et son rôle clé dans l'amélioration du diagnostic et de la prise en charge des patients.

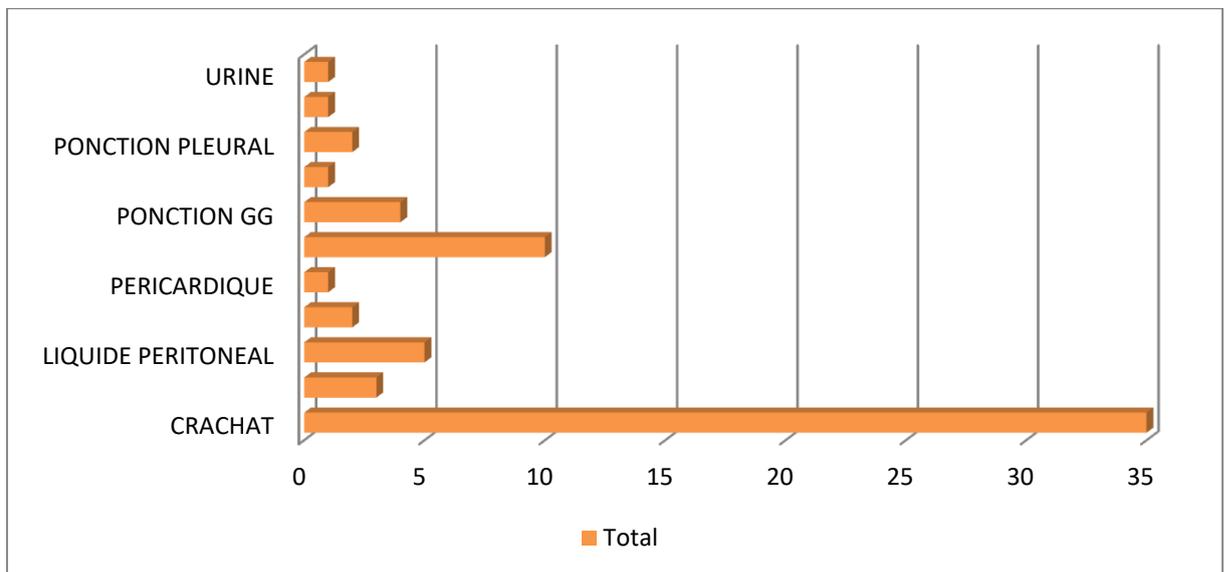


Figure 4 : Répartition des prélèvements positifs selon le type d'échantillon.

3. Indication

L'indication la plus courante pour la recherche de la tuberculose concernait les symptômes pulmonaires, avec 35 cas identifiés. Parmi ceux-ci, 16 patients ont bénéficié d'un examen des expectorations, dont 7 présentaient une hémoptysie et 3 une dyspnée. Une imagerie thoracique évocatrice de tuberculose a été observée chez de ces 13 patients, révélant diverses formes cliniques : 5 cas de miliaire tuberculeuse, 7 cas de cavernes tuberculeuses et 1 cas de dilatation bronchique.

Les méningites tuberculeuses représentaient la deuxième indication avec 10 cas signalés présentant un syndrome méningée cliniquement, l'analyse cytologique du liquide céphalo-rachidien montrant une nette prédominance lymphocytaire.

D'autres formes extrapulmonaires ont également été recensées, dont 2 cas de pleurésie de moyenne abondance à la radiographie et 3 cas d'adénopathies cervicales. Des atteintes plus rares ont également été rapportées, incluant un cas de tuberculose intestinale diagnostiqué par imagerie, un cas de tamponnade, un abcès hépatique, une tuberculose péritonéale, une atteinte articulaire se traduisant par une boiterie, ainsi qu'un cas suspect de tuberculose uro-génitale. Enfin, 7 patients ont été évalués dans un contexte de suspicion de rechute, soulignant l'importance cruciale du suivi de ces patients pour prévenir les récurrences et ajuster les stratégies thérapeutiques en conséquence.

4. Résultats

Dans les formes pulmonaires, un total de 310 prélèvements a été réalisé, parmi lesquels 40 ont donné un résultat positif, soit un taux de positivité de 12,9%. Ce taux est comparable à celui des formes extrapulmonaires, pour lesquelles 197 prélèvements ont été analysés, dont 25 se sont révélés positifs, soit un taux de positivité de 12,7%. Ces résultats suggèrent que le test GeneXpert est efficace pour détecter la tuberculose dans les deux formes, qu'elles soient pulmonaires ou extrapulmonaires.

Tableau 1 : Répartition des cas de tuberculose pulmonaire et extrapulmonaire avec taux de positivité

Formes de TB	Total	Positifs	Pourcentage
Tuberculose pulmonaire	310	40	12,90%
Tuberculose extrapulmonaire	197	25	12,70%

Les variations dans les taux de positivité des différents prélèvements dépendent à la fois de la localisation spécifique de l'infection et de la qualité des échantillons recueillis. Cependant, la méthode GeneXpert a prouvé son efficacité pour détecter rapidement la tuberculose à partir de divers liquides biologiques. Cette avancée améliore non seulement la précision diagnostique, mais également la rapidité de l'instauration d'un traitement adapté. En définitive, malgré les limitations des types de prélèvements à faible taux de positivité, l'analyse combinée d'une variété d'échantillons et l'utilisation généralisée du GeneXpert facilitent une meilleure compréhension et gestion des différentes formes cliniques de la tuberculose, qu'elles soient pulmonaires ou extrapulmonaires.

Tableau 2 : Répartition des différents types de prélèvements avec leur pourcentage de positivité.

Type de prélèvement	Total	Positifs	Pourcentage
Crachat	293	35	11,90%
Liquide pleural	38	4	10,50%
Fibroaspiration	17	5	29,40%
Liquide céphalo rachidien	75	10	13,30%
Liquide péritonéal	24	5	20,80%
Liquide péricardique	9	2	22,20%
Liquide articulaire	2	1	50%
Biopsie ganglionnaire	10	2	20%
Pus	32	0	0%
Urine	7	1	14,20%
Total	507	65	

5. Charge bactérienne

Les résultats obtenus sur la charge bactérienne révèlent une répartition hétérogène des niveaux de détection parmi les cas positifs. Une part importante des échantillons, soit 32,3 %, présente une charge bactérienne faible ou très faible, reflétant une présence relativement modérée de *Mycobacterium tuberculosis* dans ces cas. À l’opposé, une proportion plus restreinte de 18,5 % affiche une charge bactérienne moyenne, tandis qu’un faible pourcentage, seulement 3,1 %, témoigne d’une charge bactérienne élevée. Cette répartition indique que la majorité des cas diagnostiqués s’inscrivent dans des niveaux de charge modérés à faibles, ce qui peut influencer la gestion clinique et la surveillance des patients, en particulier en termes de stratégies thérapeutiques et d’évaluation de leur réponse au traitement.

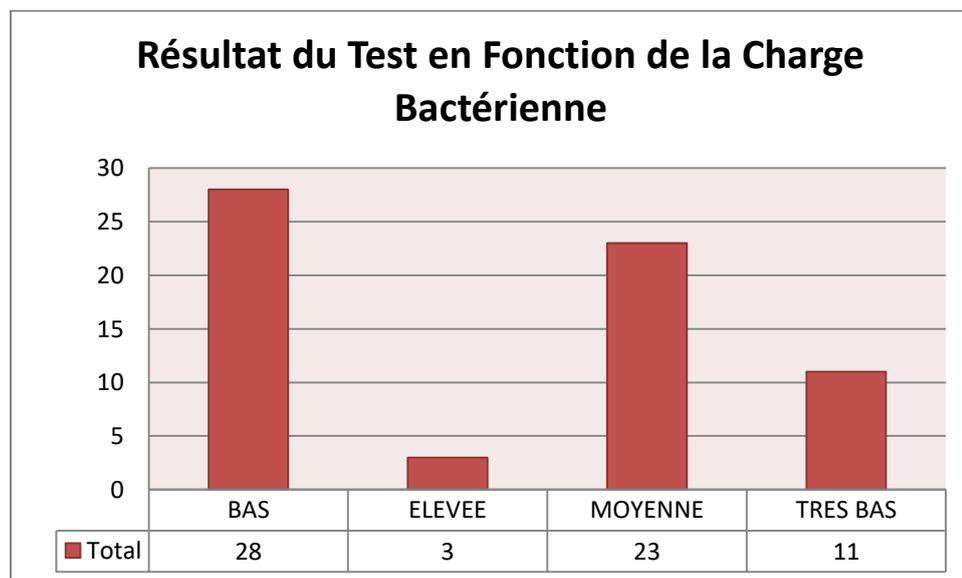


Figure 5 : Résultats des tests MTB/RIF en fonction de la charge bactérienne détectée.

6. Résistance à la rifampicine

La grande majorité des patients, soit 58 cas (89,2 %), ne présentait aucune résistance à la rifampicine, ce qui constitue un point favorable pour la prise en charge thérapeutique de la tuberculose. En effet, la rifampicine reste un traitement de première ligne particulièrement efficace contre cette maladie. Toutefois, il convient de noter que pour 7 cas (10,8 %), la résistance à ce médicament n'a pas pu être déterminée. Ce pourcentage de résultats indéterminés nécessite une attention accrue et pourrait justifier le recours à des méthodes complémentaires de détection de la résistance, voire la répétition des tests sur d'autres échantillons, afin de garantir un diagnostic plus précis et d'optimiser les décisions thérapeutiques.

IV. DISCUSSION

1. EPIDEMIOLOGIE

a) Épidémiologie de la Tuberculose dans le Monde

La tuberculose (TB) reste l'une des principales causes de décès dans le monde, bien que des progrès significatifs aient été réalisés au cours des dernières décennies. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 10 millions de personnes contractent la tuberculose chaque année, et près de 1,5 million en meurent, principalement dans les pays à revenu faible ou intermédiaire. L'infection est transmise par voie aérienne, et bien que les traitements existent, la résistance aux médicaments et la co-infection avec le VIH continuent de compliquer la lutte contre cette maladie. La majorité des cas de tuberculose se produisent en Asie du Sud-Est, en Afrique subsaharienne et en Europe de l'Est, où les systèmes de santé sont souvent vulnérables (1).

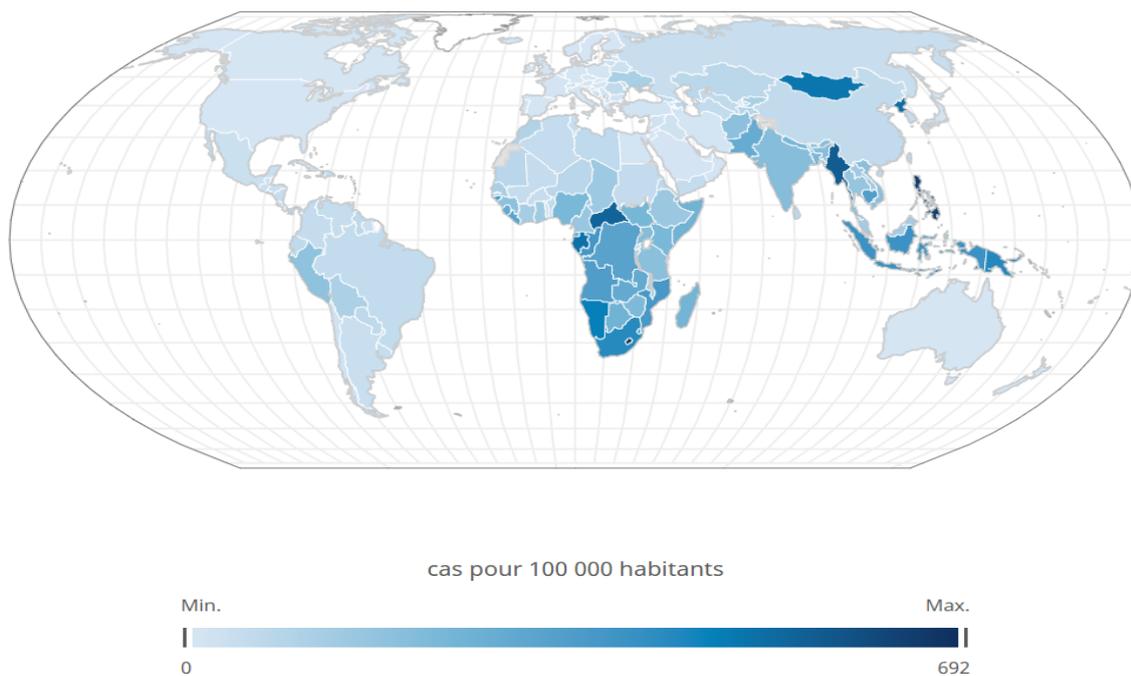


Figure 6 : Carte mondiale de l'incidence de la tuberculose (cas pour 100 000 habitants)¹

¹ Incidence de la tuberculose (pour 100 000 habitants) **Estimation officielle** mis à jour 8 janvier 2024

La lutte mondiale contre la tuberculose a été marquée par l'introduction de traitements antibiotiques efficaces, mais la persistance des formes résistantes aux médicaments, telles que la tuberculose multi-résistante (MDR-TB) et la tuberculose ultra-résistante (XDR-TB), constitue un défi majeur. Ces formes résistantes compliquent les traitements standards, nécessitant des protocoles thérapeutiques plus longs et plus coûteux. De plus, les pays à faible revenu font face à des défis supplémentaires, notamment des infrastructures de santé limitées, un manque de diagnostics précoces et une mauvaise adhérence aux traitements.

L'OMS a mis en place des stratégies mondiales pour réduire la prévalence de la tuberculose, notamment le Programme Stop TB. Ces stratégies visent à améliorer la détection des cas, renforcer les traitements, soutenir la recherche sur les nouveaux médicaments et vaccins, et fournir un soutien aux pays à faible revenu. Malgré ces efforts, la lutte contre la tuberculose demeure un problème de santé publique majeur qui nécessite une mobilisation continue des ressources mondiales (5).

b) Épidémiologie de la Tuberculose au Maroc

Au Maroc, la tuberculose demeure un problème de santé publique important. Selon les dernières données du Ministère de la Santé, environ 20 000 nouveaux cas de tuberculose sont diagnostiqués chaque année, ce qui place le pays parmi les nations à prévalence modérée de la maladie. La majorité des cas se retrouvent dans les grandes villes et les zones rurales, bien que des efforts de détection aient permis d'améliorer l'identification des personnes infectées. L'incidence de la tuberculose est plus élevée chez les adultes jeunes, en particulier ceux âgés de 15 à 45 ans, et touche plus fréquemment les hommes que les femmes (6).

Les facteurs qui contribuent à la propagation de la tuberculose au Maroc incluent la pauvreté, le surpeuplement, et la malnutrition, qui affaiblissent le système immunitaire et favorisent la

transmission de la maladie. De plus, la co-infection tuberculose-VIH reste un problème majeur, en particulier parmi les populations vulnérables, telles que les personnes vivant avec le VIH et les populations à risque élevé. Cette co-infection complique la prise en charge des patients, nécessitant des traitements combinés et un suivi plus rigoureux (7).

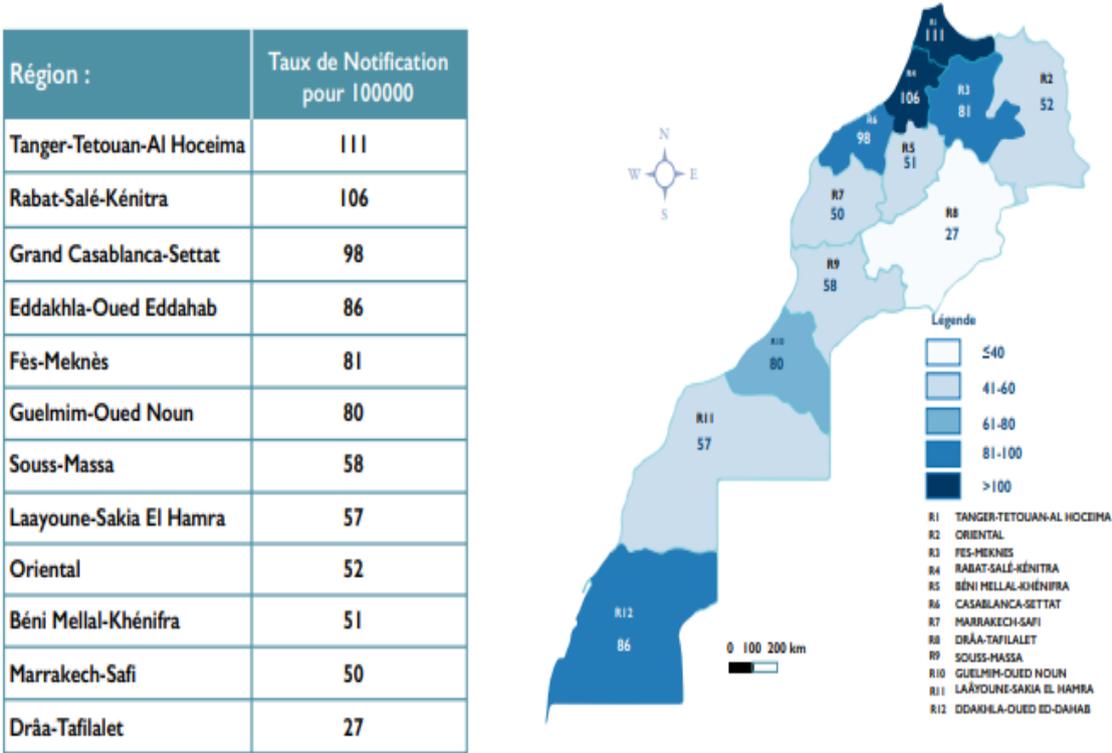


Figure 7 : Taux de notification des cas par région en 2021 au Maroc²

Le Maroc a mis en place un plan national de lutte contre la tuberculose, qui inclut la prise en charge gratuite des patients, la détection précoce des cas et la mise en œuvre de traitements standardisés.

² Plan stratégique national pour la prévention et le contrôle de la tuberculose au maroc

Toutefois, les défis demeurent, notamment la résistance aux médicaments et la difficulté d'atteindre toutes les populations à risque. Pour renforcer la lutte contre cette maladie, le Maroc doit continuer à investir dans l'amélioration des infrastructures de santé et dans la sensibilisation à l'importance de la détection précoce et du respect du traitement (7).

2. GENEXPERT

a) Définition :

Le test Xpert MTB/RIF est un outil de diagnostic de la tuberculose. C'est un test moléculaire unitaire qui permet la détection dans les prélèvements cliniques des fragments d'ADN du génome des mycobactéries du complexe tuberculosis et leur éventuelle résistance à la rifampicine en moins de deux heures. C'est un test automatisé, rapide, sensible et spécifique au *Mycobacterium tuberculosis* (8).

b) Historique : (9)

1996-2010 : Le système GeneXpert a été élaboré grâce à une coopération entre le laboratoire Cepheid, la fondation pour les nouveaux diagnostics innovants (FIND), l'université de médecine et de dentisterie du new Jersey (UMDNJ) et des instituts nationaux de la santé (NIH).

En 2004 : Le test GeneXpert MTB/RIF a été lancé, il a permis de simplifier la réalisation des tests moléculaire en intégrant et en automatisant entièrement les trois opérations nécessaires pour les tests moléculaires basés sur la PCR en temps réel (la préparation des échantillons, l'amplification et la détection).

En 2009 : Il a été considéré comme une avancée importante dans la lutte antituberculeuse. Pour la première fois un test moléculaire est suffisamment simple et robuste pour être introduit et utilisé en dehors du cadre des laboratoires classique.

En décembre 2010 : L'utilisation du test Xpert MTB/RIF a été recommandée par l'OMS.

En 2011 : La déclaration de politique générale de l'OMS a été publiée, et était accompagner d'un document de mise en œuvre rapide qui constituait un guide technique et opérationnel donnant des considérations pratique pour le déploiement de cette technique.

En octobre 2013 : L'OMS a publié une mise à jour de ses orientations politiques contenant une vision révisée de ses recommandations sur l'utilisation du test Xpert MTB/RIF pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire, de la tuberculose pédiatrique et de la résistance à la rifampicine. Cette édition du manuel de mise en œuvre du test Xpert MTB/RIF remplace la première édition et prend en considération l'ensemble des données disponible à ce jour ainsi que l'expérience de la mise en œuvre opérationnelle de ce test.

En décembre 2013 : Cette nouvelle technique a été adopté à très large échelle, le secteur public avait acquis plus de 2000 appareils GeneXpert et plus de cinq millions de cartouches de test Xpert MTB/RIF dans 98 pays.

L'expérience de l'utilisation de cette technique a rapidement fait l'objet de nombreux rapports et a été partagée régulièrement dans des revues à comité de lecture, dans des revues systématiques ainsi que dans le cadre de présentations faites par des pays ou par des partenaires techniques au cours de plusieurs réunions de responsables chargés de la mise en œuvre organisées par l'OMS.

c) Principe du GeneXpert

Le test Xpert MTB/RIF Assay, réalisé sur la plateforme GeneXpert est un test diagnostique in vitro qui s'appuie sur une réaction en chaîne par polymérase (PCR) semi-nichée qui permet de réaliser à la demande et dans une seule cartouche les différentes étapes d'extraction, purification, amplification d'ADN, hybridation des sondes et détection multiplex (10).

i. Principe de la PCR en temps réel : (11) (12)

La PCR en temps réel est fondée sur le même principe que la PCR classique. La différence réside sur la possibilité de suivre la quantité d'ADN présente dans la réaction à tout instant et non à la fin de la PCR. La détection des produits de PCR se fait par une méthode fluorimétrique (Figure 9) (11).

Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons (Figure 8) :

- L'utilisation de l'agent intercalant SYBR® Green.
- Les sondes fluorescentes.

On distingue trois types de sondes :

- Les sondes d'hydrolyse TaqMan®.
- Les sondes d'hybridation FRET.
- Balises moléculaires
- Les sondes fluorescentes sont des sondes marquées par un fluorophore qui seront ajoutées au milieu réactionnel. Elles se fixent :
 - Soit sur l'ADN double brin (ex : Technologie SYBER)
 - Soit sur une séquence d'ADN précise (ex : Technologie Taqman et Beacon)

Ces sondes ne fluorescent qu'une fois fixée sur l'ADN. La fluorescence émise est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction PCR.

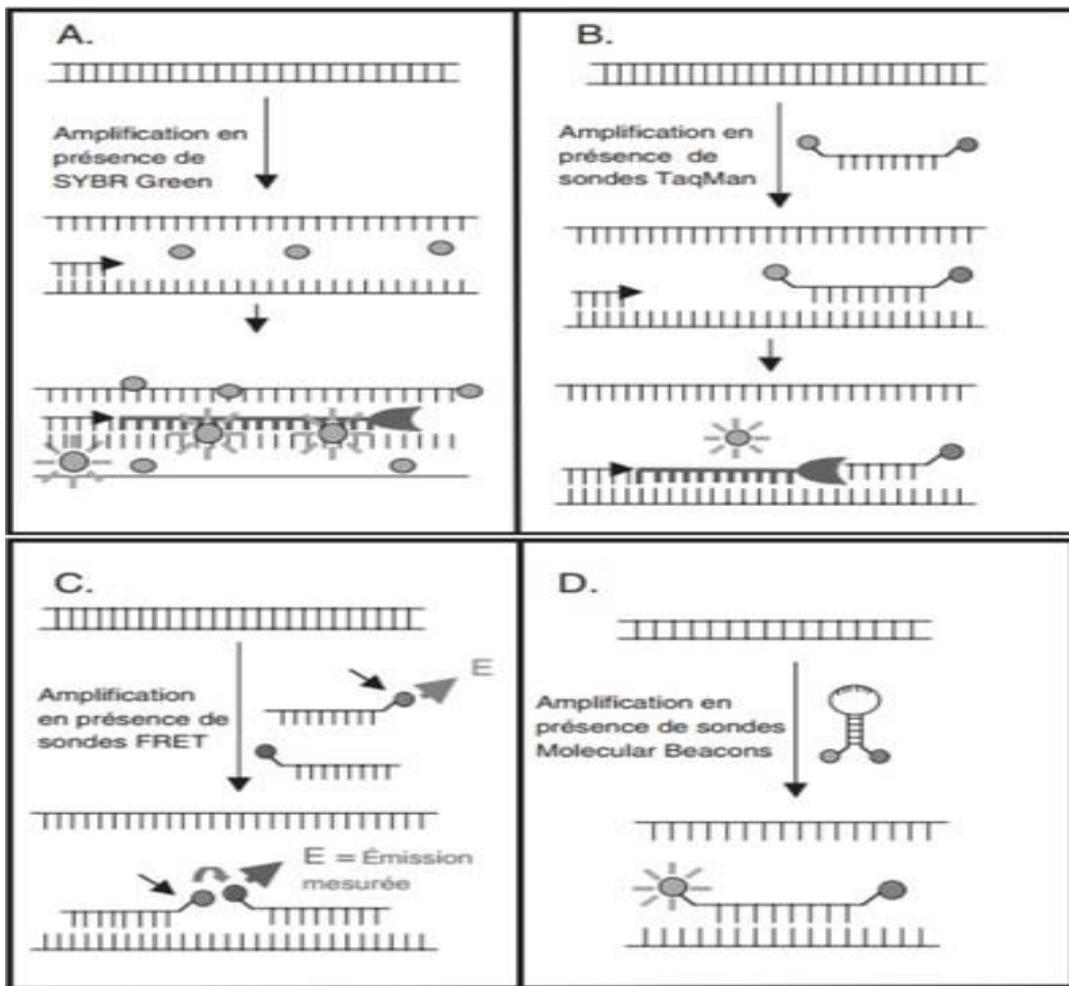


Figure 8 : Représentation schématique des différentes méthodes de détection des produits PCR (11)

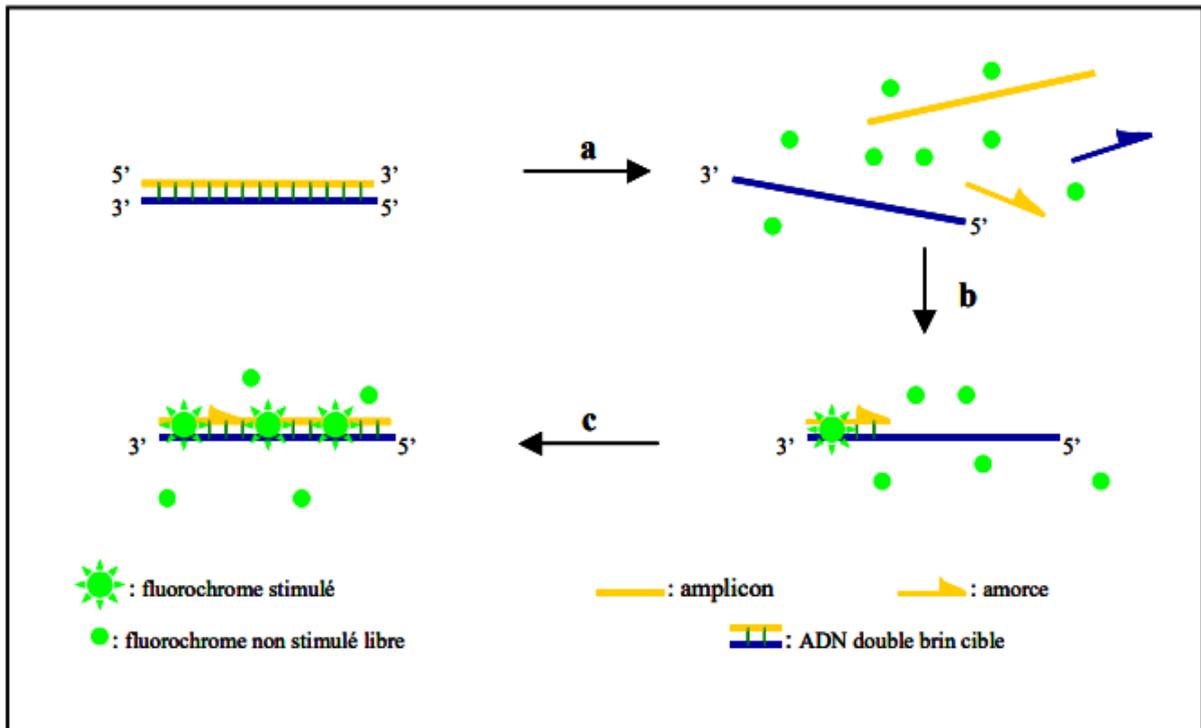


Figure 9 : Schématisation du principe de la PCR en temps réel (11)

ii. La cinétique de la réaction PCR en temps réel : (11)

L'intensité de la fluorescence augmente à chaque cycle PCR. Par ce suivi, il est alors possible de tracer une courbe, de caractériser les différentes phases de la cinétique PCR et de mesurer la quantité de produit d'amplification généré en un point de la phase exponentielle (11).

Cette amplification génique peut être représentée par une courbe sigmoïde qui met en jeu trois phases (Figure 10) :

- **Phase d'initiation** : Ou phase de bruit de fond, à ce stade la quantité des fragments amplifiés est insuffisante pour générer un signal fluorescent supérieur au bruit de fond.

- **Phase exponentielle** : La quantité de produit PCR double à chaque cycle d'amplification, ce qui génère une croissance exponentielle du signal de fluorescence qui dépasse la ligne seuil. Certes, la quantité du produit PCR obtenue est directement proportionnelle au nombre de copies du fragment d'ADN amplifié.

iii. **Concept du cycle seuil (Ct) :**

Le cycle seuil, le cycle Threshold (Ct) ou encore le crossing point (Cp) est une notion fondamentale à la base de la PCR quantitative. Il correspond au nombre de cycles à partir duquel le signal fluorescent du gène ciblé est supérieur à celui du bruit de fond. Le Ct dépend de la quantité de matrice initialement présente dans l'échantillon amplifié, en d'autres termes plus la quantité d'ADN cible est élevée plus le Ct est faible. Il apparaît toujours au cours de la phase exponentielle de la PCR.

- **Phase de plateau** : Elle correspond à un ralentissement de l'amplification qui peut être expliqué par : (13)
 - L'épuisement des substrats (amorces, d'NTPs).
 - La dégradation des désoxyribonucléotides (d'NTPs) consécutive à la température élevée.
 - L'inactivation thermique progressive de l'ADN polymérase.
 - La concentration limitant de l'enzyme et/ou l'inhibition progressive de l'enzyme par les pyrophosphates générés au cours de la PCR.
 - La réhybridation des produits formés gênant l'accès des différents réactifs aux séquences cibles.

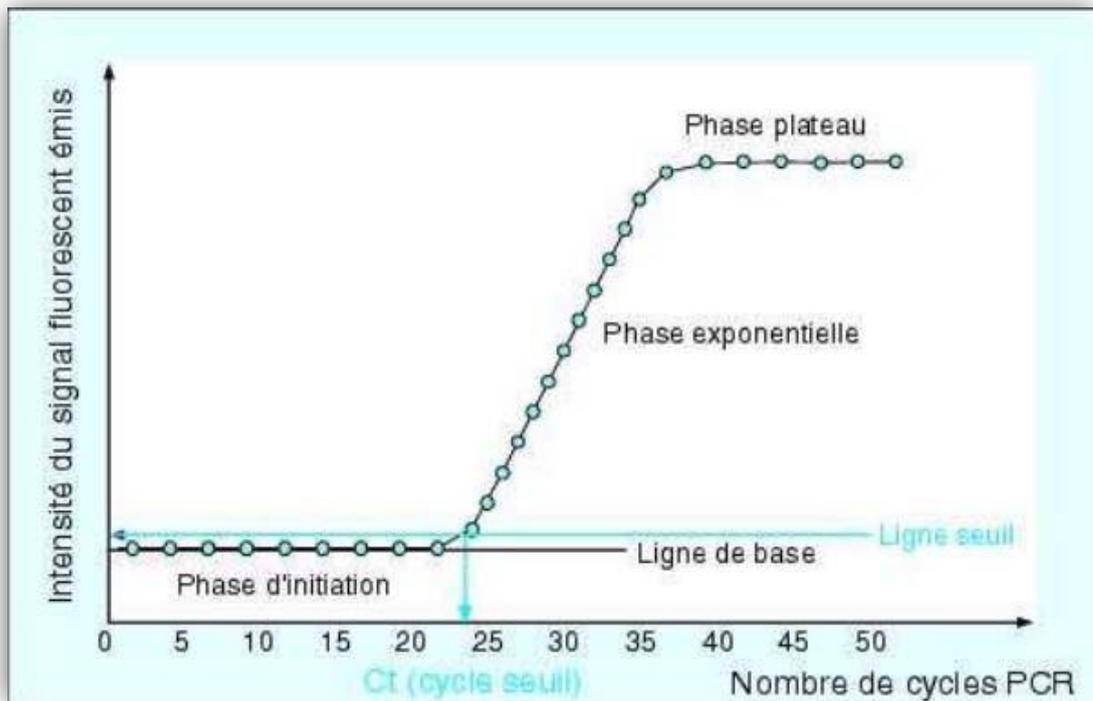


Figure 10 : Le suivi en temps réel d'une réaction PCR (13)

d) Matériel du système GeneXpert :

Le système GeneXpert est un système intégré micro-fluidique composé de : (14)

- Plateforme de l'outil
- Cartouches
- Protocoles automatisés
- Contrôle interne

i. **Présentation de la plate-forme GeneXpert :**

La plate-forme du système GeneXpert est constitué de (Figure 11) : (14)

- Un automate composé d'un nombre variable de modules
- Un ordinateur personnel
- Un lecteur de codes-barres
- Un logiciel préinstallé



Figure 11 : Présentation de la plateforme du système GeneXpert MTB/RIF (14)

Le module GeneXpert (Figure 12) est un thermocycleur, doté d'un appareil de chauffage et d'un ventilateur et contenant en plus un système optique pour la détection de la fluorescence générée lors des réactions de PCR en temps réel.

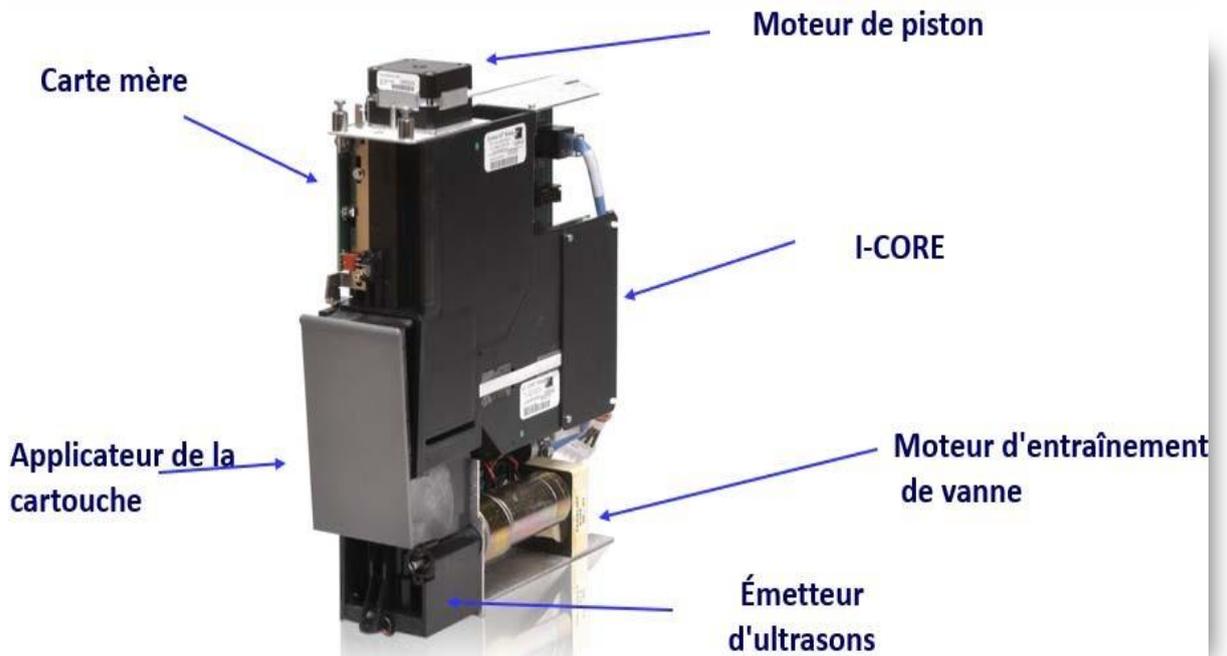


Figure 12 : Composition du module GeneXpert (14)

Un module se compose de : (14)

- Moteur de la valve : Fait pivoter le corps de la valve de la cartouche afin d'atteindre les différentes chambres de la cartouche.
- Moteur du piston de la seringue : Distribue les liquides dans les différentes chambres de la cartouche.
- Émetteur d'ultrasons : Lyse l'échantillon.
- Module I-CORE® (Figure 13) : Effectue l'amplification par PCR et la détection.

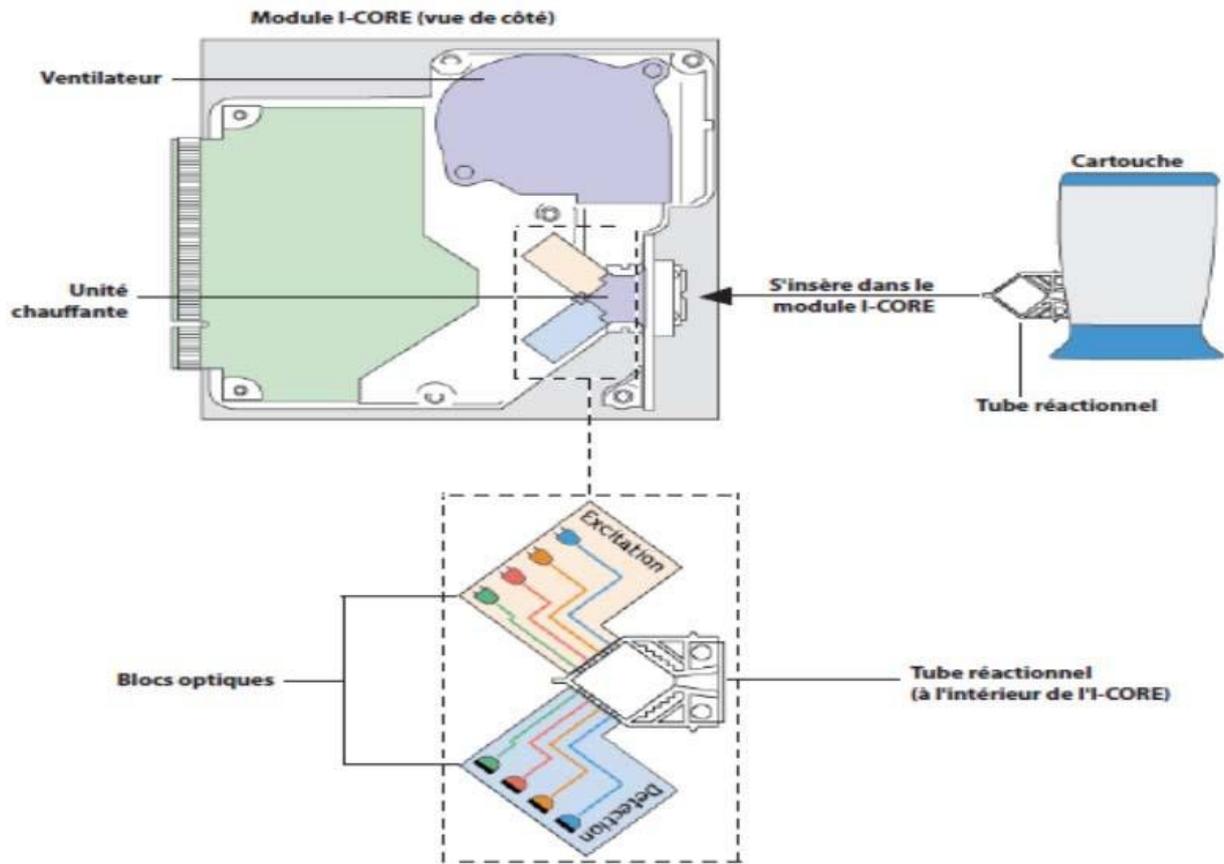


Figure 13 : Composition du module I-CORE (14)

ii. **Présentation de la cartouche GeneXpert :**

La cartouche GeneXpert comporte (Figure 14) : (14)

- 11 chambres réactionnelles possédant une porte. Le transfert du liquide de l'une vers l'autre se fait grâce à un système de vanne (Figure 16).
- L'emplacement du piston de la seringue se trouve au centre de la partie supérieure.
- Le tube PCR se trouve au niveau de la région postérieure.
- Le corps de la valve se trouve au niveau de la partie inférieure.

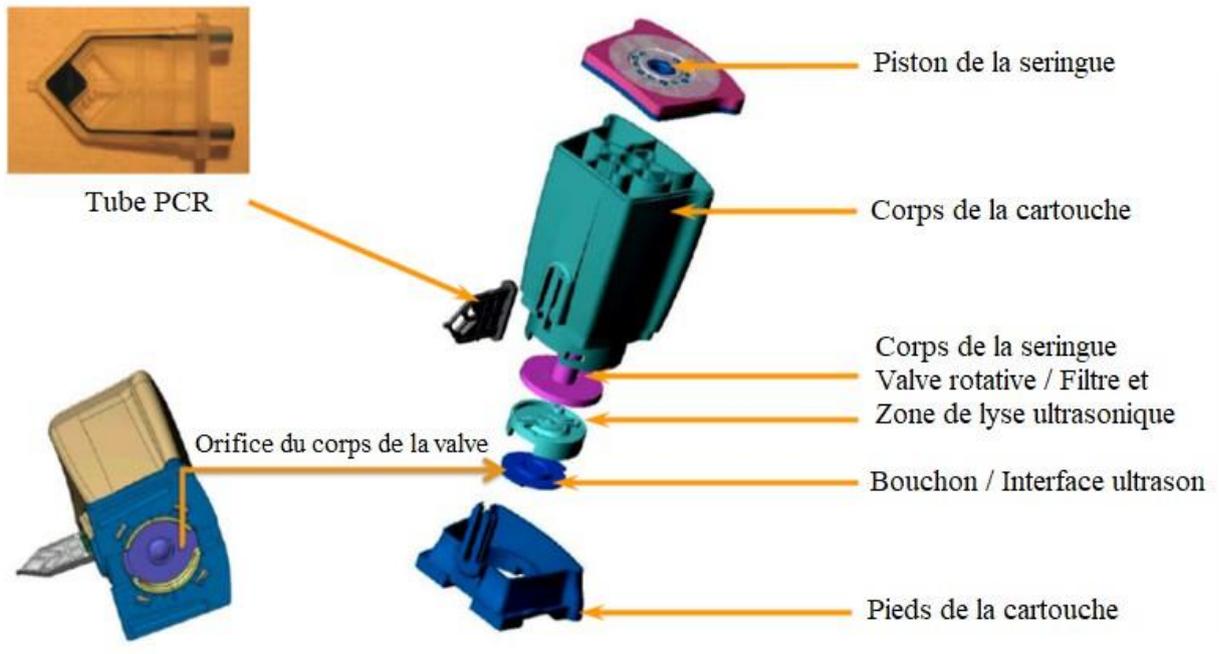


Figure 14 : Configuration de la cartouche du système GeneXpert (14)

Les rôles des différents éléments composants la cartouche du système GeneXpert sont résumés dans la figure 15 :

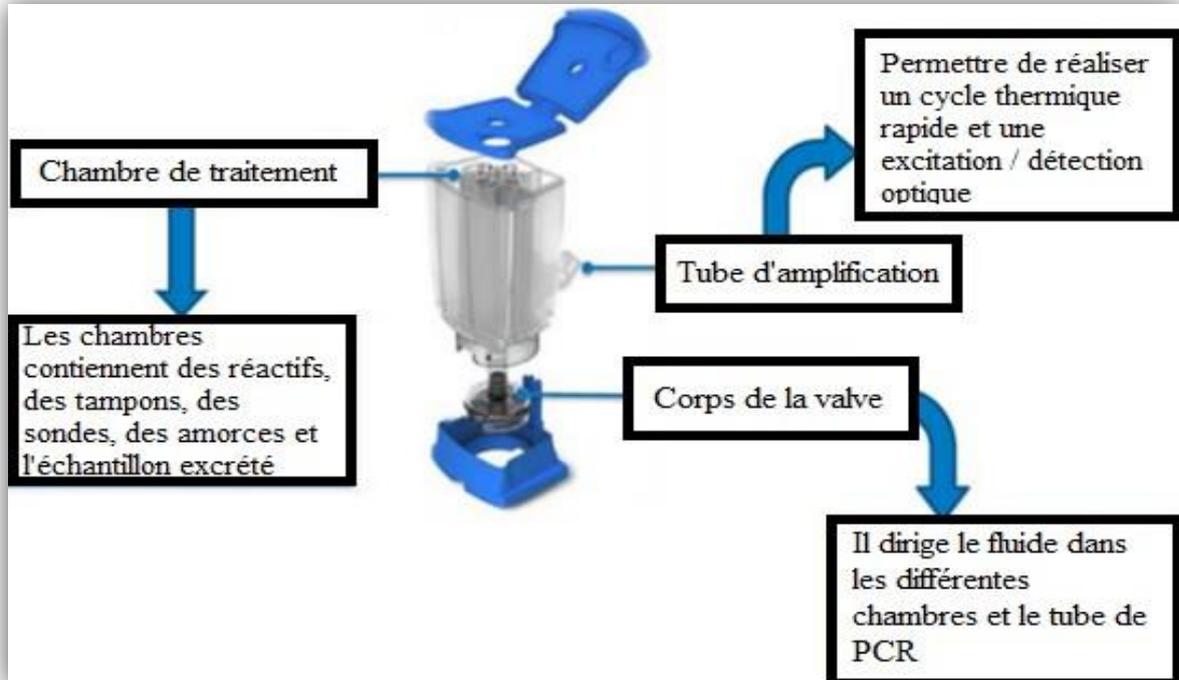


Figure 15 : Rôles des différents composants de la cartouche (14)

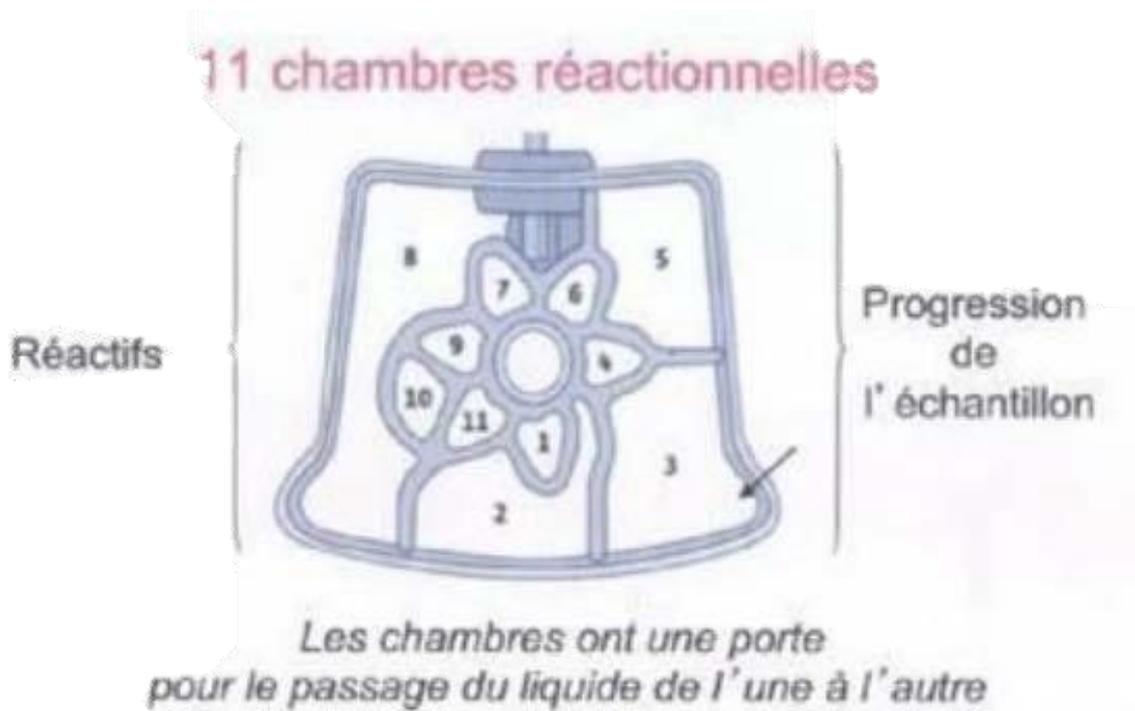


Figure 16 : Coupe horizontale de la cartouche montrant les différentes chambres (14)

iii. **Protocole automatisé (14) :**

Une fois la cartouche remplie avec l'échantillon préparé est insérée dans l'outil GeneXpert, l'analyse se fait selon un processus totalement automatisé, tout en respectant l'enchaînement suivant :

- L'échantillon se combine avec le contrôle du traitement de l'échantillon (SPC)
- Le filtre capture l'échantillon et le SPC
- Les cellules lysées par ultrasons libèrent l'ADN
- L'ADN élué se mélange avec les billes des réactifs déshydratés
- L'amplification simultanée et la détection de la fluorescence
- Les résultats sont prêts en moins de 2 heures

iv. **Contrôle interne de la qualité : (14)**

La sonde de contrôle (PCC) est un test fondamental de lecture de la fluorescence à différentes températures avant le démarrage du cycle thermique pour évaluer la réponse des substances chimiques qu'un récipient contient. La PCC vérifie :

- La réhydratation des billes.
- Le remplissage du tube PCR.
- L'intégrité des sondes.
- La stabilité d'un colorant ou du réactif/désactif.
- Les résultats de la vérification seront comparés de façon automatique aux réglages standards usine du logiciel.
- Un test est interrompu si la vérification de la sonde n'est pas passée.
- Contrôle du traitement de l'échantillon (SPC).
- Spores non infectieuses.
- Vérifie si la lyse des cellules a eu lieu avec succès.
- Détecte l'inhibition de l'amplification associée à l'échantillon : devrait être positive dans des échantillons négatifs et peut être négative ou positive dans les échantillons positifs.
- Le résultat n'est pas valide si le SPC est négatif dans un échantillon négatif.

e) **Mode opératoire de la réalisation du test Xpert MTB/RIF (14) :**

Le système test Xpert MTB/RIF automatise les 3 processus nécessaires pour le test génétique basé sur la PCR en temps réel (Figure 17) (14):

- Amplification par la méthode "Molecular beacon".
- Détection des séquences cibles.

- Interprétation des résultats.



Figure 17 : Description des différentes étapes du GeneXpert (14)

i. Préparation des échantillons (14):

- Protocoles des préparations des échantillons :

Le protocole de préparation des échantillons diffère selon la nature de ce dernier : Crachat directe, Sédiment des expectorations traitées ou Echantillon extra pulmonaire.

- Protocole de préparation d'un échantillon de Crachat directe (Figure 18) :

- Dévissez avec précaution le couvercle du récipient à expectoration ;
- Versez 2 volumes de réactif d'échantillon (SR) directement dans 1 volume d'expectoration dans le récipient à expectoration (1 ml d'expectoration est la quantité minimale, tandis que 3 à 4 ml est la quantité optimale demandée) ;

- Pour les échantillons de volume plus grand (plus de 4 ml), une partie de la RS d'une deuxième bouteille serait nécessaire, car chaque bouteille contient 8 ml de SR ;
- Bien fermez le couvercle et secouez vigoureusement le mélange 10 – 20 fois, en agitant le récipient ou par vortex ;
- Incubez à température ambiante pendant 10 min ;
- Après 10 min d'incubation, secouez l'échantillon de nouveau (ou par vortex) vigoureusement 10 - 20 fois ;
- Après plus de 5 min d'incubation, l'échantillon doit être parfaitement fluide avant le test, sans aucun agrégat visible d'expectoration Si toujours visqueux, attendez 5 à 10 minutes de plus avant d'inoculer dans la cartouche (2 à 4 ml de la solution finale).

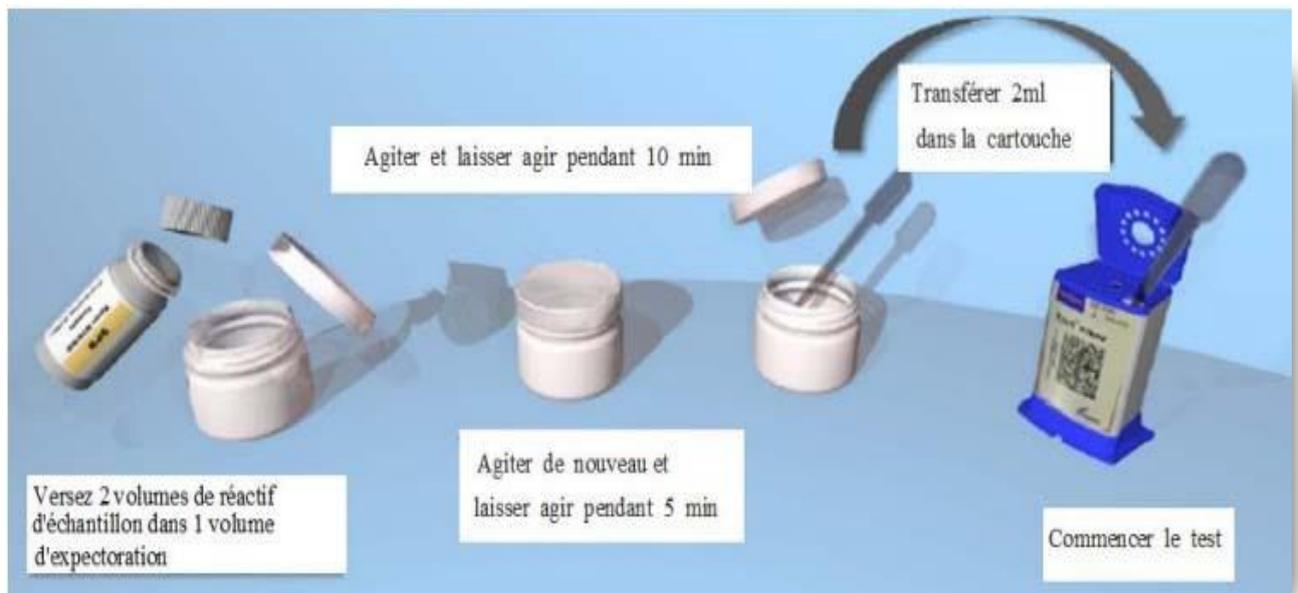


Figure 18 : Protocole de préparation d'un échantillon à partir de crachat direct (14)

- Protocole de préparation d'un échantillon de sédiment des expectorations traitées :
 - Ajoutez 1,5 ml de réactif d'échantillon à 0,5 ml de sédiments en suspension de l'échantillon d'expectoration concentré et digéré/décontaminé (Remarque : ratio de SR à échantillon 3 : 1) ;
 - Bien fermez le couvercle et secouez vigoureusement le mélange 10 – 20 fois, en agitant le récipient ou par vortex ;
 - Incubez à température ambiante pendant 10 min ;
 - Après 10 min d'incubation, secouez l'échantillon de nouveau (ou par vortex) vigoureusement 10 - 20 fois ;
 - Après plus de 5 min d'incubation, l'échantillon doit être parfaitement fluide avant le test, sans aucun agrégat visible d'expectoration ;
- Protocole de préparation d'un échantillon extra pulmonaire : Les échantillons tachés de sang peuvent interférer avec le test Xpert :

Le choix du protocole de préparation des échantillons extra pulmonaires se fait selon la nature de l'échantillon : Les ganglions lymphatiques, les tissus, ou le LCR. Les échantillons liquides doivent être préparés dans une hotte pour le test Xpert. Quant aux échantillons de tissus, ils exigent une homogénéisation en utilisant des broyeurs spéciaux qui peuvent créer des aérosols. Ces échantillons doivent être préparés également dans une hotte.

- Protocole de préparation du LCR : (14)

Les échantillons du LCR sont généralement pauci bacillaires et doivent être traités comme du crachat. Cependant, la concentration par centrifugation peut fournir des meilleurs résultats du test. Un

laboratoire avec une hotte est nécessaire pendant l'ouverture de la centrifugeuse et la décantation du surnageant.

Le protocole de préparation du LCR, dépend du volume de l'échantillon reçu :

- Volume supérieur à 5 ml du LCR :
 - Transférer la totalité de l'échantillon dans un tube conique, et concentrer l'échantillon par centrifugation à 3000 g pendant 15 minutes ;
 - Décanter le surnageant dans une solution désinfectante (Hotte obligatoire) ;
 - Suspendre le sédiment dans un volume de 2 ml avec le réactif échantillon Xpert MTB/RIF ;
 - À l'aide d'une nouvelle pipette de transfert, transférer 2 ml de l'échantillon de LCR concentré dans la cartouche de test Xpert MTB/RIF ;
 - Charger la cartouche dans l'appareil GeneXpert.

- Volume compris entre 1 et 5 ml du LCR :
 - Ajouter un volume égal de réactif de l'échantillon Xpert MTB/RIF ;
 - Ajouter 2 ml du mélange de l'échantillon directement dans la cartouche de test Xpert MTB/ RIF ;
 - Charger la cartouche dans l'appareil GeneXpert

- Volume compris entre 0.1 et 1ml du LCR :
 - Ajouter 2ml de réactif de l'échantillon Xpert MTB/RIF ;
 - Ajouter 2ml du mélange dans la cartouche et procéder à des tests de Xpert.

- Volume inférieur à 0.1ml : l'Echantillon est insuffisant pour le test Xpert MTB/RIF.

ii. Préparation des cartouches :

- Précaution d'utilisation de la cartouche :
 - Avant d'utiliser la cartouche il faut s'assurer que :
 - La date d'expiration n'est pas dépassée.
 - Elle ne soit pas mouillée.
 - Le sceau du couvercle n'est pas brisé ou ouvert.
 - La paroi du tube de réaction ne soit pas endommagée
 - Elle n'a pas été déjà traitée : chaque cartouche est à usage unique seulement.
 - Et que l'emballage (un sachet avec 10 cartouches) n'a pas été ouvert il y a plus de 6 semaines.
 - Etiquetage de la cartouche :

L'étiquetage est une étape importante qui a pour but l'identification de l'échantillon, et se fait comme suit :

- Retirez toujours la cartouche par le côté droit et gauche. Ne pas toucher le couvercle, le code-barres sur la partie d'avant, ou le tube de réaction sur la partie postérieure.
- Posez une étiquette sur la cartouche indiquant le numéro d'identification de l'échantillon ou en attachant l'étiquette sur le côté gauche ou droit de la cartouche.
- Ne pas appliquer l'étiquette sur le couvercle et ne pas cacher le code-barres 2D existant sur la cartouche (Figure 19).



Figure 19 : Exemple d'étiquetage non conforme de la cartouche (14)

- Inoculation :

Après étiquetage, on procède à l'inoculation de l'échantillon préparé dans la cartouche

(Figure 20) :

- Ouvrir la cartouche et pipeter 2 à 4 ml d'échantillon préparé à l'aide de la pipette en plastique ;
- Pipeter l'échantillon avec attention pour éviter la création d'aérosols et des bulles ;
- Ne pas transférer de particules solides dans la cartouche ;
- Bien fermer le couvercle ;
- Démarrer le test.

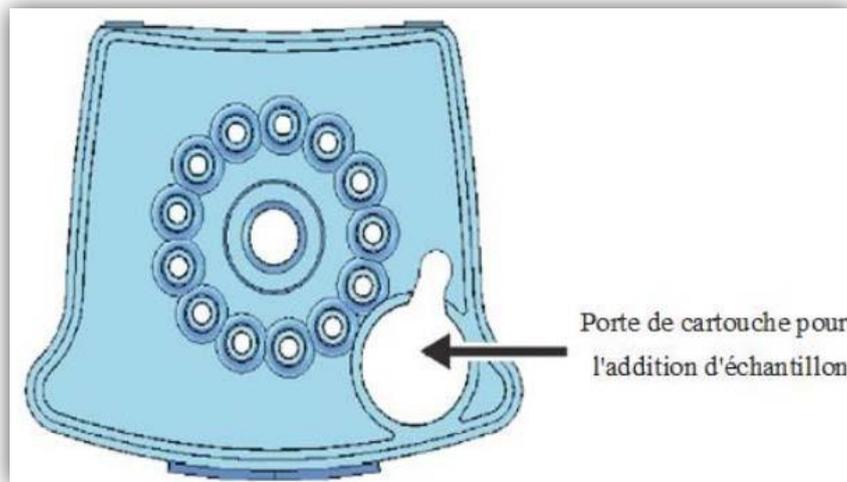


Figure 20 : Vue supérieure de la cartouche mettant en évidence la zone d'introduction de l'échantillon préparé.(14)

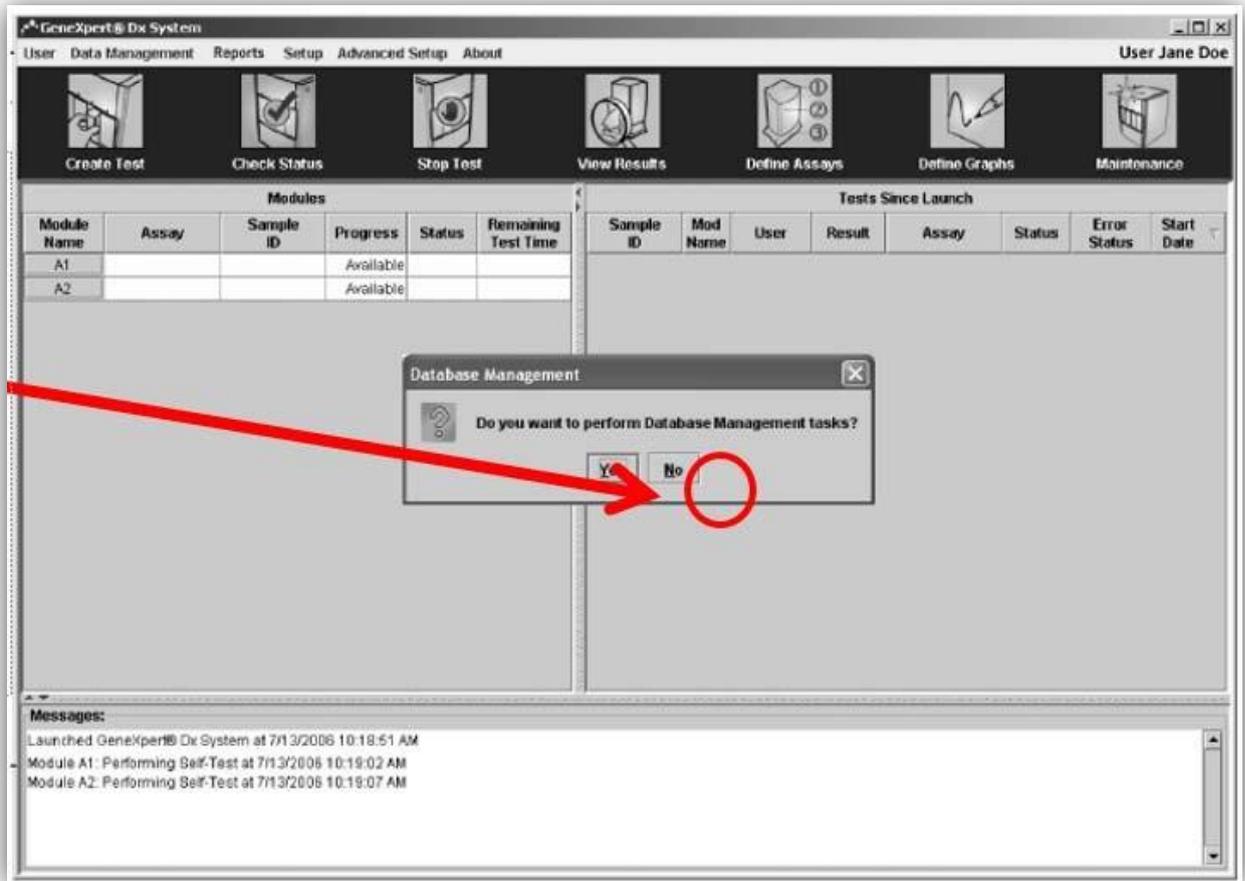
- Démarrage du test :

Pour démarrer le test, il faut :

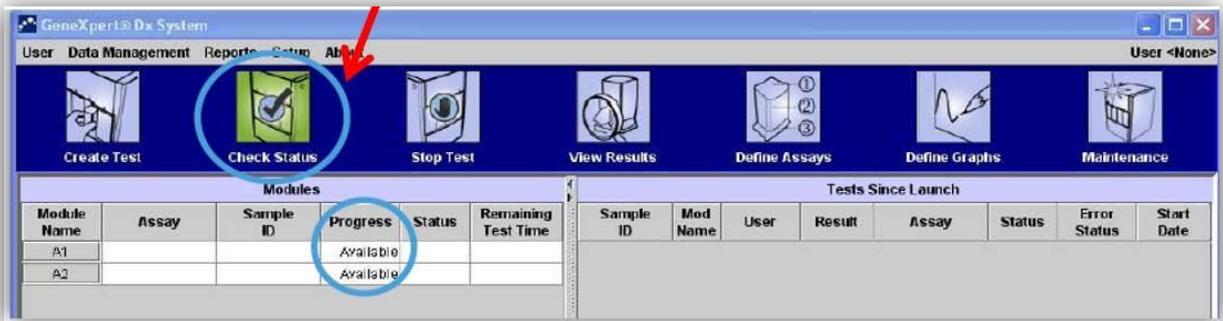
- Mettre en marche l'outil GeneXpert. ;
- Après installation du logiciel GeneXpert DX sur l'ordinateur, double-cliquer sur l'icône « GeneXpertDx » ;



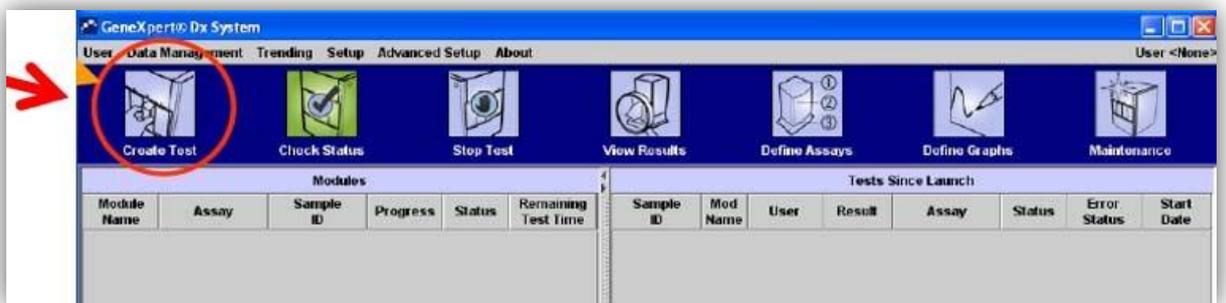
Cliquer sur « Non » dans la boîte de dialogue « Database Management » (gestion de la base de données) pour commencer la session de travail.



- Cliquer sur « CheckStatus » (vérifier l'état) pour confirmer tous les modules disponibles ;



Cliquer sur « CREATE TEST » ;



- Une fenêtre s'affiche demandant de lire le code-barres de la cartouche ;



- Lire le code-barres de la cartouche en maintenant enfoncé le bouton jaune du lecteur code à barres ou cliquer sur « Manual entry » et insérer manuellement le code ;



- Entrer l'ID du Patient = nom ;
- Entrer l'ID d'échantillon = numéro de série du laboratoire ;
- Cliquer sur « Start test ».

Create Test

Patient ID

Sample ID

Select Assay	Name	Version
Xpert MTB-RIF G3		3

Select Module

Reagent Lot ID* Expiration Date* Cartridge SN*

Test Type

Sample Type Other Sample Type

Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode Cancel

f) Résultats :

Le système GeneXpert MTB/RIF génère les résultats à partir des signaux de fluorescence mesurée et des algorithmes utilisés. Une interprétation correcte des résultats permet au personnel de santé et aux cliniciens de prendre les décisions correctes pour une meilleure prise en charge des patients.

Le résultat de ce test indique la présence ou l'absence de l'ADN de *Mycobacterium tuberculosis complex* et indique la détection ou non de la résistance à la rifampicine. Les résultats sont affichés sur la fenêtre « afficher les résultats » comme suit (Figures 21, 22, 23, 24) (15).

- **MTB NOT DETECTED**
 - **MTB DETECTED** : Le résultat MTB affiche Hight (élevé), Medium (moyen), Low (faible) ou very low (très faible), selon la valeur de Ct de la cible MTB présente dans l'échantillon (Figure 21) :
 - Elevé : inférieur à 16 Ct
 - Moyen : compris entre 16 et 22 C
 - Bas : compris entre 22 et 28 Ct
 - Très bas : supérieur à 28 Ct
- **RIF Resistance DETECTED**
- **RIF Resistance NON-DETECTED**

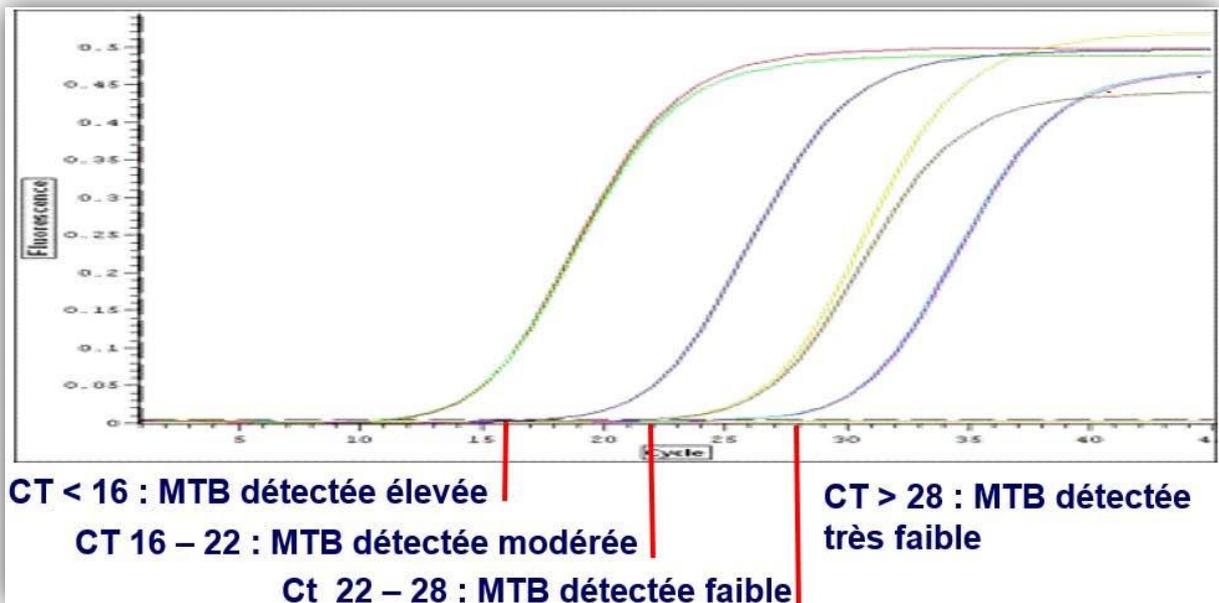


Figure 21 ; Courbes sigmoïdes témoignant les résultats de la PCR en temps réel (15)

Dans des cas rares, certains problèmes peuvent entraver le fonctionnement du système GeneXpert et le rendu des résultats, ce qui justifie la nécessité de répéter le test à l'aide d'une nouvelle cartouche avec le recours à d'autres procédures : (15)

- Un résultat "INVALID" (résultat non validé) : indique que le contrôle du traitement de l'échantillon a échoué secondairement à un traitement incorrect de celui-ci ou à la présence d'un inhibiteur de la PCR (sang, aliments...).
- Un résultat "ERROR" (erreur) : indique l'échec du contrôle de la sonde et l'interruption du test (limites maximales de pression dépassées à cause d'un volume incorrect ou d'une viscosité excessive) ou d'une défaillance du module GeneXpert.

- Un résultat "MTB NO RESULT" (pas de résultat) : dû à un échec secondaire à une coupure du courant électrique, un défaut de ventilation à l'arrière de l'automate ou à l'interruption volontaire du test en cours.

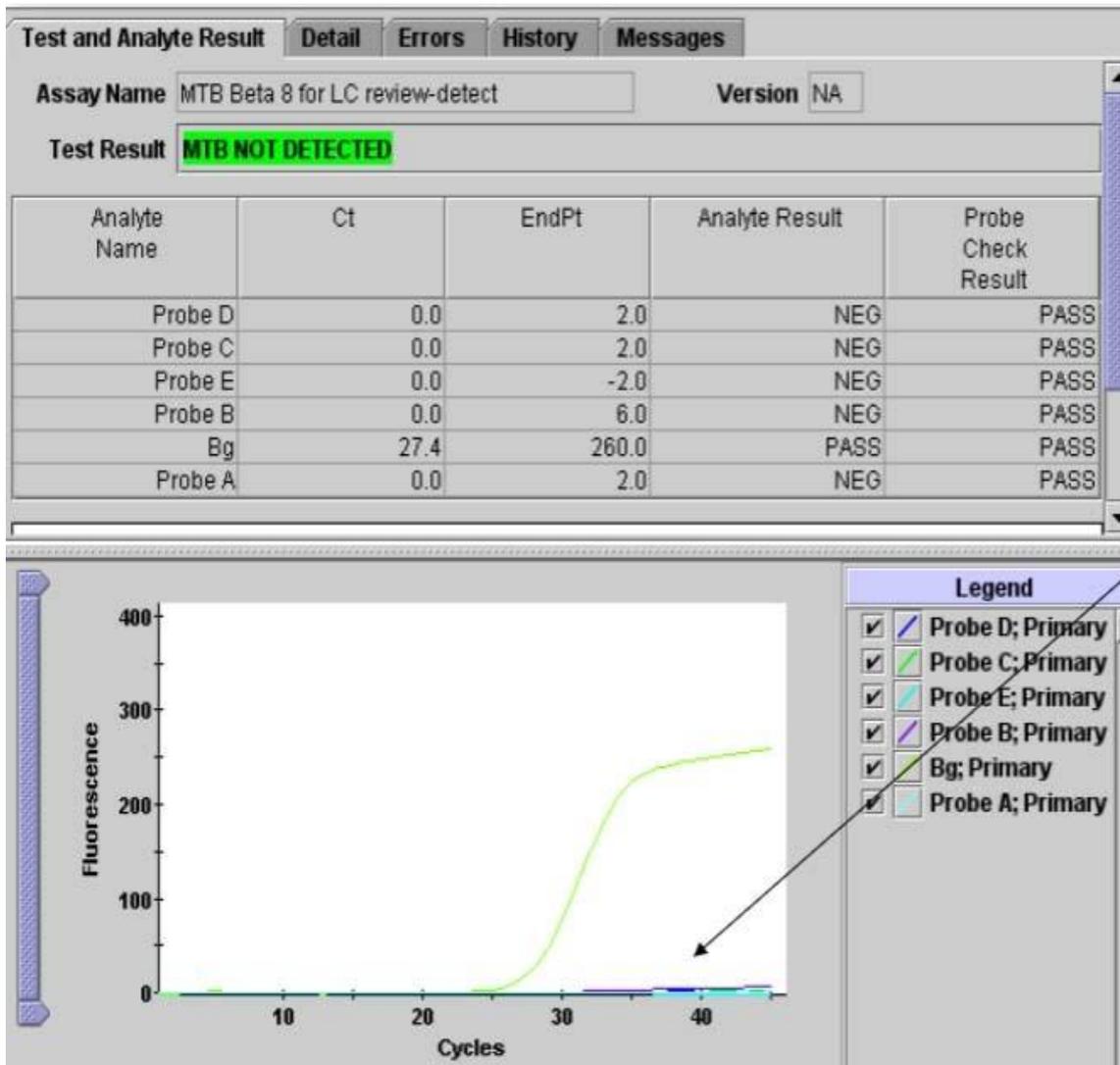


Figure 22 : Absence de détection du *M. tuberculosis* (14)

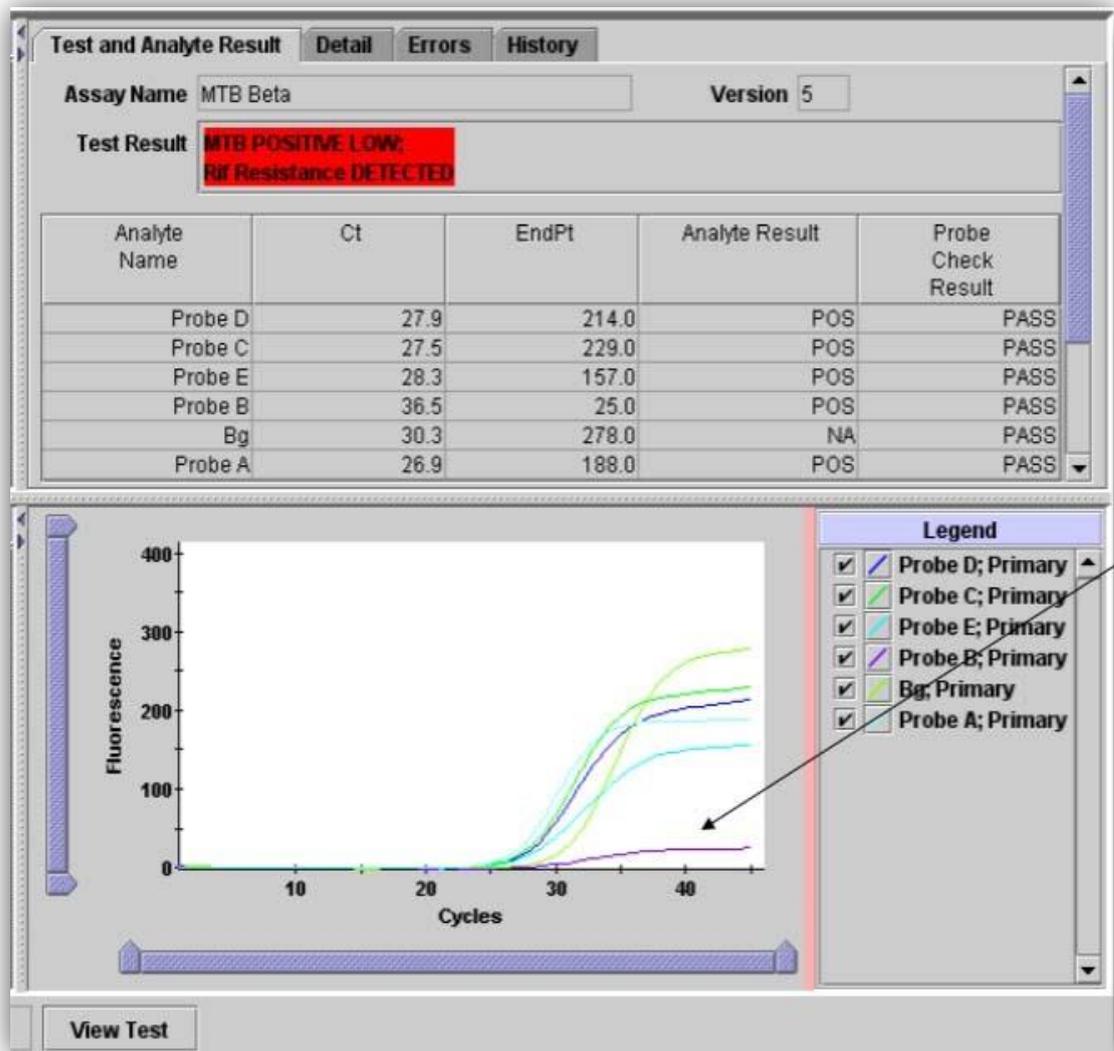


Figure 23 : Détection du *M.tuberculosis* en faible quantité et de la résistance à la Rifampicine (14)

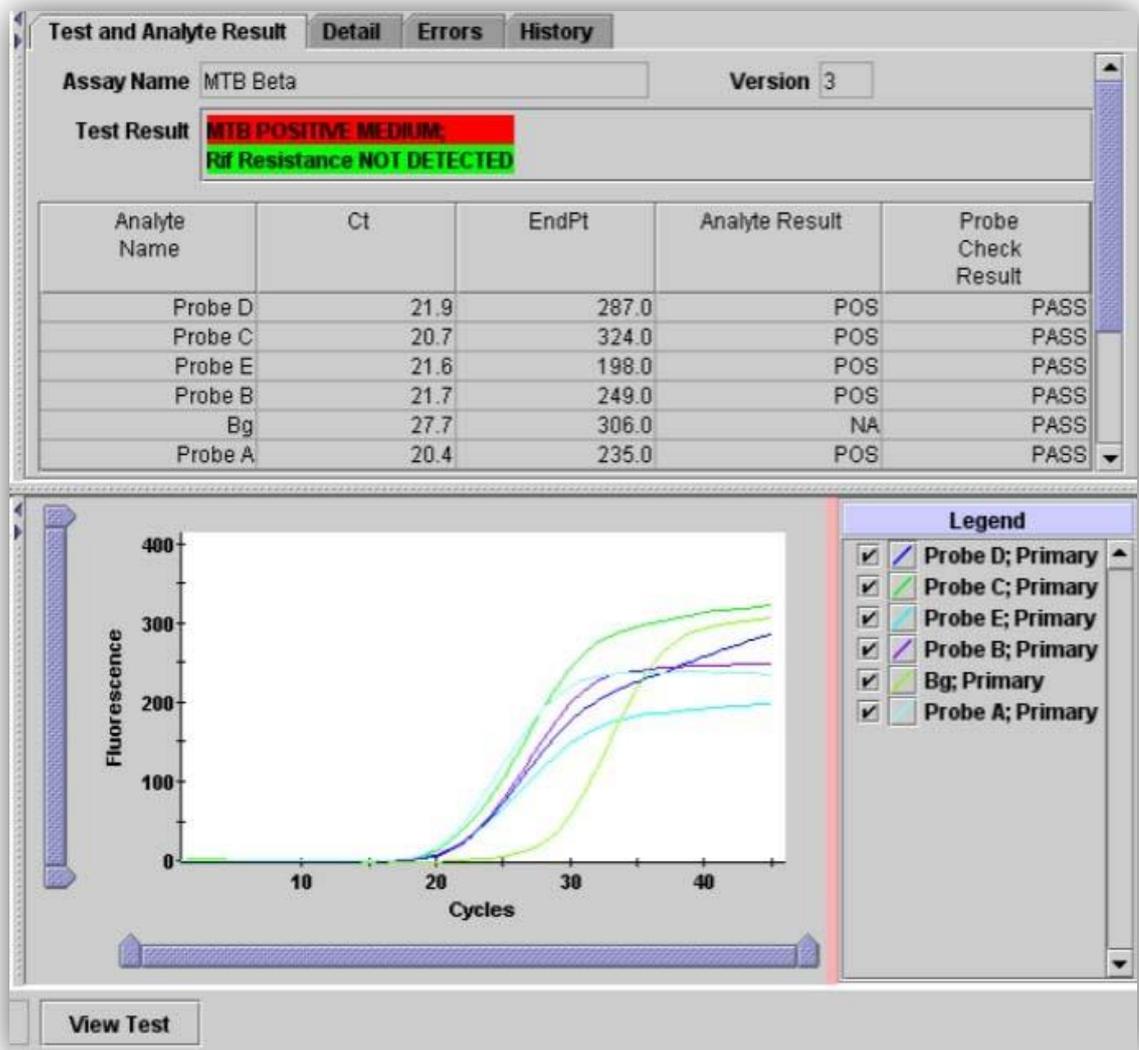


Figure 24 : Détection du *M.tuberculosis* en quantité moyenne et l'absence de la résistance à la Rifampicine (14)

Tableau 3 : Résultats possibles du test GeneXpert et leur signification

Résultat	Interprétation
MTB non détectée	Aucun ADN de <i>M. tuberculosis</i> n'a été identifié dans l'échantillon
MTB détectée / résistance à la RIF non détectée	La bactérie est présente, mais aucune mutation associée à la résistance à la rifampicine n'a été trouvée.
MTB détectée / résistance à la RIF détectée	La bactérie est présente et une mutation dans le gène <i>rpoB</i> est identifiée, indiquant une résistance à la rifampicine.

g) Interprétation des résultats (Figure 25) : (14)

Lorsque le test Xpert MTB/RIF ne détecte pas *M. tuberculosis* : il est presque toujours possible d'exclure la tuberculose, sauf si celle-ci reste fortement suspectée. Dans ce cas, il peut être justifié de réaliser une évaluation plus approfondie à l'aide par exemple d'une radiographie pulmonaire, d'une mise en culture, d'un autre test Xpert MTB/ RIF ou d'un traitement antibiotique d'essai.

Lorsque le test Xpert MTB/RIF détecte *M. tuberculosis* sans détecter de résistance à la rifampicine : le patient doit être orienté vers un service spécialisé pour recevoir le schéma

thérapeutique de première intention recommandé par l’OMS et être enregistré comme cas de tuberculose confirmé bactériologiquement sensible à la rifampicine.

Lorsque le test Xpert MTB/RIF détecte *M. tuberculosis* et une résistance à la rifampicine, les décisions quant aux étapes ultérieures dépendent du risque que présente le patient :

- Un patient appartenant à un groupe considéré comme étant à risque élevé de tuberculose MR : doit être mis sous schéma thérapeutique recommandé par l’OMS pour la tuberculose MR avec ajout d’isoniazide. Il doit être enregistré comme ayant une tuberculose RR confirmée bactériologiquement. Un autre échantillon d’expectorations doit être collecté immédiatement et avant la mise en route du traitement ; cet échantillon supplémentaire doit être envoyé au laboratoire pour effectuer un DST phénotypique couvrant au moins l’isoniazide, les fluoroquinolones et les médicaments injectables de deuxième intention.
- Chez un patient considéré comme étant à faible risque de tuberculose MR : il est souvent peu probable d’observer une résistance à la rifampicine et le clinicien peut hésiter à commencer un schéma thérapeutique comprenant des médicaments de deuxième intention. Un résultat de test Xpert MTB/RIF inattendu peut être attribué à la VPP pour la résistance à la rifampicine dans un groupe où la prévalence sous-jacente est faible ou peut résulter d’erreurs non systématiques ou aléatoires au stade pré-analytique ou post-analytique du test (ces erreurs sont relativement fréquentes, même dans les laboratoires bénéficiant d’une assurance de la qualité). Il s’agit notamment d’erreurs d’écriture commises lors de l’enregistrement des informations relatives à l’échantillon ou des résultats de test, ou d’erreurs administratives avec une confusion entre différents échantillons ...etc.

Il peut être utile d'effectuer immédiatement un nouveau test Xpert MTB/RIF sur un nouvel échantillon afin d'éliminer les erreurs pré-analytiques et post-analytiques et d'améliorer la confiance du clinicien au moment de décider du traitement :

- Lorsque le deuxième test Xpert MTB/RIF confirme la présence d'une tuberculose mais ne montre pas de résistance à la rifampicine. Le patient doit être mis sous traitement de première intention recommandé par MANUEL DE MISE EN ŒUVRE DU TEST XPERT MTB/RIF et enregistré comme ayant une tuberculose confirmée bactériologiquement sensible à la rifampicine. Il n'est pas nécessaire de réaliser un autre DST phénotypique. Lorsque le deuxième test Xpert MTB/RIF réalisé sur un échantillon frais met à nouveau en évidence une résistance à la rifampicine, un schéma thérapeutique recommandé par l'OMS pour la tuberculose MR avec ajout d'isoniazide doit être mis en route sans plus tarder. Le patient doit être alors enregistré comme ayant une tuberculose RR confirmée bactériologiquement, et un autre échantillon d'expectorations doit être collecté afin de réaliser un DST phénotypique pour confirmer la résistance à la rifampicine et tester la sensibilité à l'isoniazide, aux fluoroquinolones et aux médicaments injectables de deuxième intention.
- Une fois obtenus les résultats du DST, le traitement doit être modifié si nécessaire et l'enregistrement du patient mis à jour en conséquence.

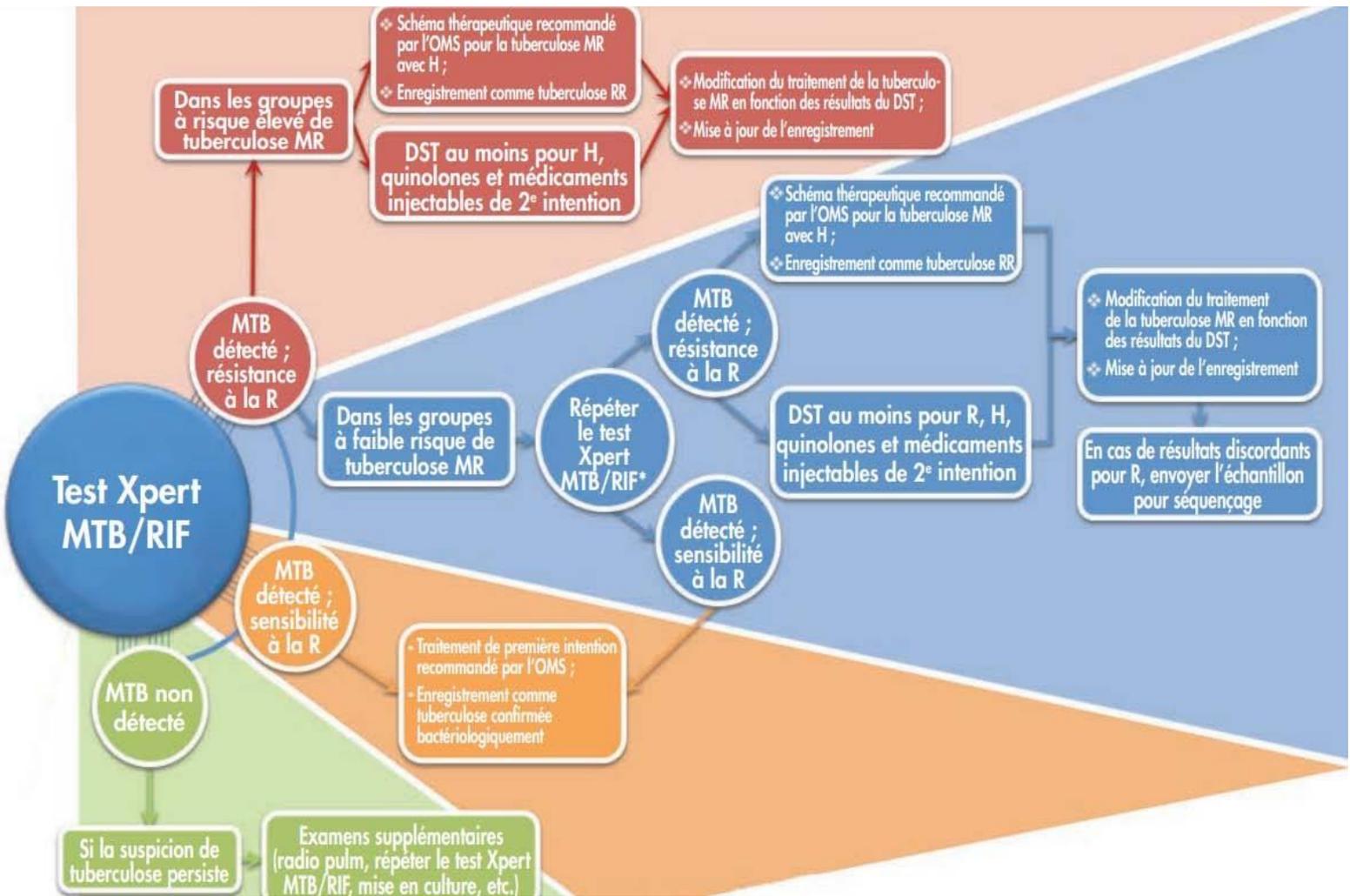


Figure 25 ; Interprétations des résultats du test Xpert MTB/RIF (15)

h) Avantages du test (14)

- **Rapidité** : Les résultats sont disponibles en moins de 2 heures.
- **Simplicité** : Le test est automatisé et ne nécessite qu'une préparation minimale de l'échantillon.
- **Sécurité** : Le système est fermé, réduisant le risque de contamination croisée.
- **Fiabilité** : Le test est hautement sensible et spécifique pour la détection de MTB et de la résistance à la rifampicine.

i) Limitations techniques (14)

- Le test ne doit pas être utilisé pour surveiller la réponse au traitement antituberculeux.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence de MTB (nécessité de confirmation par culture).
- Les souches résistantes à la rifampicine doivent être confirmées par un laboratoire de référence.

3. APPORT DU GENEEXPERT

Le test GeneXpert MTB/RIF marque une avancée significative dans le diagnostic de la tuberculose (TB) en permettant une détection rapide de *Mycobacterium tuberculosis* ainsi que de sa résistance à la rifampicine. Grâce à sa capacité à délivrer des résultats en moins de deux heures, il surpasse largement les méthodes traditionnelles, telles que la culture, qui nécessite plusieurs semaines (16).

Cette rapidité constitue un avantage majeur, surtout dans le cadre de la prise en charge clinique des patients, en accélérant les traitements et en réduisant les risques de transmission communautaire. L'importance d'un diagnostic rapide est d'autant plus

cruciale dans les régions à forte prévalence de tuberculose, où des retards peuvent exacerber la propagation de la maladie. En réduisant ces délais, le GeneXpert contribue à une gestion plus efficace de l'épidémie, améliore les perspectives de guérison des patients et limite les risques de contamination (15).

De nombreuses études ont confirmé l'efficacité de ce test pour un diagnostic rapide de la tuberculose. Plus récemment, des recherches ont souligné la remarquable sensibilité du test GeneXpert, notamment pour les formes pulmonaires de la maladie. Par exemple, l'étude menée par Salazar et al. (2023) a révélé une sensibilité de 92,4 % et une spécificité de 98,2 % chez les patients atteints de tuberculose pulmonaire, démontrant ainsi les performances remarquables de cette méthode par rapport aux techniques conventionnelles (17).

Ces résultats surpassent largement ceux obtenus par la microscopie classique, qui reste couramment utilisée mais s'avère moins performante, en particulier pour les cas où la charge bactérienne est faible. Effectivement, la microscopie peut échouer à identifier des formes de tuberculose avec une faible concentration de *Mycobacterium tuberculosis*, ce qui compromet le dépistage précoce (16).

Le test GeneXpert se démarque en offrant une solution efficace pour détecter les formes paucibacillaires, souvent difficiles à diagnostiquer avec des méthodes traditionnelles comme la coloration de Ziehl-Neelsen. Cette avancée réduit ainsi les risques de transmission des formes moins visibles de la tuberculose et facilite une prise en charge accrue des malades (3).

L'un des principaux avantages du test GeneXpert réside dans sa capacité à détecter rapidement la résistance à la rifampicine, un élément clé dans la prise en charge des cas de tuberculose multi-résistante (TB-MR). Cette fonctionnalité permet de démarrer

immédiatement un traitement de deuxième ligne, limitant ainsi la propagation des souches résistantes au sein des communautés (18).

D'après l'étude menée par Zhang et al. (2022), le GeneXpert affiche une sensibilité de 96 % et une spécificité de 99 % dans la détection de la résistance à la rifampicine, surpassant les tests de culture conventionnels qui nécessitent plusieurs semaines pour fournir des résultats (19).

La rapidité de détection est essentielle pour initier rapidement un traitement adapté et prévenir l'apparition de résistances secondaires. En réduisant considérablement le temps requis pour identifier les souches résistantes, le GeneXpert contribue à limiter la progression des épidémies de TB-MR, un enjeu majeur de santé publique dans de nombreux pays où l'incidence de cette maladie demeure élevée (20).

De plus, l'instauration d'un traitement précoce et ciblé pour les patients infectés par des souches résistantes améliore non seulement leurs chances de guérison, mais réduit également les coûts à long terme associés à la prise en charge des formes de tuberculose résistantes (21).

En complément de ses performances diagnostiques pour détecter la tuberculose pulmonaire et multi-résistante, le test GeneXpert a prouvé son efficacité dans les contextes à faibles ressources, où les infrastructures de santé sont souvent inadéquates. Sa simplicité d'utilisation en fait une solution idéale pour les établissements de santé périphériques ou ruraux, où la formation limitée des techniciens et la rareté des équipements posent des défis. Contrairement aux tests conventionnels, le GeneXpert ne requiert ni cultures complexes ni équipements de laboratoire sophistiqués, ce qui le rend particulièrement adapté aux régions où ces moyens sont insuffisants (22).

En Afrique du Sud, des études ont révélé que l'intégration du GeneXpert dans les cliniques communautaires a permis de réduire considérablement les délais de diagnostic tout en augmentant le dépistage de la tuberculose, principalement dans les zones rurales où l'accès aux soins est limité (23).

Ces résultats mettent en évidence l'impact positif du test sur le renforcement des systèmes de santé locaux et l'amélioration de l'accès au diagnostic pour les populations vulnérables. Sur cette base, l'OMS recommande aujourd'hui le GeneXpert comme méthode diagnostique de première ligne dans les pays à forte prévalence de tuberculose, notamment là où la résistance à la rifampicine représente une problématique critique (3).

Malgré ses nombreux atouts, le test GeneXpert présente certaines limites dans le diagnostic des formes extrapulmonaires de la tuberculose. Ces formes, caractérisées par des charges bactériennes souvent très faibles dans des sites tels que les ganglions lymphatiques, le système nerveux ou les os, augmentent le risque de résultats faussement négatifs. Néanmoins, des études ont montré que ce test offre une sensibilité bien supérieure à celle de la microscopie pour ces manifestations, ce qui suggère qu'il pourrait s'imposer comme un outil précieux pour un diagnostic précoce. Bien qu'imparfait dans tous les contextes, le test GeneXpert constitue une approche prometteuse, notamment dans les régions où l'incidence de la tuberculose reste élevée. Son efficacité est particulièrement notable lorsqu'il est utilisé en association avec d'autres méthodes diagnostiques, renforçant ainsi les chances de détection des formes les plus discrètes de la maladie (24).

En somme, bien que le test GeneXpert présente certaines limitations dans la détection des formes extrapulmonaires de la tuberculose, il reste un outil précieux pour un diagnostic

rapide et fiable de la tuberculose pulmonaire, tout en permettant de repérer efficacement la résistance à la rifampicine (25).

Son déploiement dans les pays disposant de ressources limitées, ainsi que dans les zones fortement touchées par la maladie, pourrait considérablement renforcer les capacités de dépistage et accélérer l'initiation des traitements. Poursuivre les efforts visant à améliorer son accessibilité et son efficacité jouera sans nul doute un rôle crucial dans la lutte mondiale contre cette pathologie, qui demeure un enjeu majeur malgré les progrès accomplis (26).

v. **CONCLUSION**

Le test GeneXpert MTB/RIF représente une avancée majeure dans le diagnostic de la tuberculose, en particulier grâce à sa capacité à fournir des résultats rapides, précis et capables de détecter la résistance à la rifampicine.

Cette rapidité est essentielle dans la gestion clinique des patients, en permettant une prise en charge rapide et appropriée, notamment pour les formes de tuberculose multi-résistantes (TB-MR), qui représentent un défi majeur de santé publique. Son utilisation dans les pays à forte prévalence de la maladie, notamment dans les régions les moins équipées, a permis d'améliorer l'accès au diagnostic et d'accélérer le traitement, réduisant ainsi les risques de transmission communautaire et améliorant les perspectives de guérison.

Cependant, malgré les nombreux avantages du test GeneXpert, plusieurs défis persistent. Le coût élevé des tests et des équipements requis pour leur mise en œuvre constitue un obstacle majeur, notamment dans les pays à faibles ressources, où l'accès aux technologies de pointe demeure restreint.

Par ailleurs, bien que ce test soit efficace pour la détection de la tuberculose pulmonaire et de certaines formes de résistance, son utilisation dans les formes extrapulmonaires est parfois jugée moins performante.

Toutefois, il convient de souligner que sa sensibilité dans ces formes reste comparable à celle observée dans les atteintes pulmonaires, garantissant ainsi une détection relativement fiable. Néanmoins, son emploi doit être associé à des méthodes diagnostiques conventionnelles afin d'assurer une prise en charge optimale.

Ainsi, bien que le test GeneXpert ait un potentiel indéniable pour transformer le paysage du diagnostic de la tuberculose à l'échelle mondiale, il est crucial de surmonter ses limitations actuelles par une approche combinée avec d'autres techniques et une réduction de son coût afin de rendre cette technologie accessible à un plus grand nombre de patients, en particulier dans les régions les plus affectées par la tuberculose.

Des efforts concertés au niveau des politiques de santé publique et des partenariats internationaux seront nécessaires pour maximiser l'impact de ce test dans la lutte contre la tuberculose et ses formes résistantes

Bibliographie

1. (WHO), W. H. (2023). *Global Tuberculosis Report 2023*. Geneva.
2. A. Houde, E. P. (2002). La PCR en temps réel: principes et applications.
3. Boehme, C. C. (2010). Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance. *New England Journal of Medicine*, 363(11), 1005–1015.
4. C. M. Denkinger, S. G. (2014). Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *European Respiratory Journal*, vol. 44, pp. 435-446.
5. C. Tse, J. C. (2003). Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. *Vol. 61, p. 3.*
6. Cepheid. (2014). Technologie GeneXpert et procédure de test Xpert MTB/RIF.
7. Dheda, K. B. (2016). Tuberculosis. *The Lancet*, 387(10024), 1211–1226.
8. Diallo, A. B. (2016). Performance du GeneXpert MTB/RIF® dans le diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire à Dakar: 2010-2015. *Pan African Medical Journal*, 25.
9. Lawn, S. D. (2011). Xpert®MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiology*, 6(9), 1067–1082.
10. Mahomed, H. e. (2021). GeneXpert MTB/RIF in rural South Africa: Diagnostic impact and programmatic challenges. *Journal of Infection in Developing Countries*, 15(7), 865-872.

11. Marais, B. J. (2023). Future prospects in tuberculosis diagnostics: Enhancing the performance of GeneXpert.» *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases* . 30, 100242.
12. maroncain, m. d., & santé, o. m. (2020). *PLAN STRATÉGIQUE NATIONAL POUR LA PRÉVENTION ET LE CONTRÔLE DE LA TUBERCULOSE AU MAROC*. Rabat.
13. Mathys, V. L. (2007). La PCR en temps réel : principe et application en infectiologie. *Antibiotiques*. 9(3), 205–211. .
14. OMS. (2014). *Manuel de mise en œuvre du test Xpert MTB/RIF*.
15. OMS. (2014). *Manuel de mise en œuvre du test Xpert MTB/RIF*.
16. OMS, o. m. (6 décembre 2023). *Stratégie pour mettre fin à la tuberculose*.
17. Organization, W. H. (2016). *The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs*.
18. S. Maiouak, H. B. (s.d.). Apport du GeneXpert dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire. *Revue des Maladies Respiratoires* , vol. 33, p. A155.
19. Salazar, M. J. (2023). Performance of GeneXpert MTB/RIF in a high-burden tuberculosis setting: A comprehensive review. *The Lancet Infectious Diseases*, 23(2), 123-131.
20. Santé, M. D. (2017). *Santé en chiffre*.
21. Sebitloane, M. e. (2022). Implementing GeneXpert for tuberculosis diagnosis in low-resource settings. *African Health Sciences* , 22(2), 435-440.

22. Tortoli, E. R. (2012). Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *European Respiratory Journal*, 40(2), 442–447.
23. Tshiani, L. R. (2023). Evaluation of GeneXpert for detection of multidrug-resistant tuberculosis in Sub-Saharan Africa . *The Lancet Global Health*, 11(5), e673-e680.
24. WHO, w. h. (2021). *WHO consolidated guidelines on tuberculosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection. Third edition.*
25. Y.Piro. (2018). *Plan stratégique national pour la prévention et le contrôle de la tuberculose au Maroc 2018-2021.*
26. Zhang, X. e. (2022). Xpert MTB/RIF for detection of rifampicin resistance in tuberculosis: A meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*, 108, 113-118.

