

BACTERIOLOGIE

DEPISTAGE ACTIF DE LA TUBERCULOSE CHEZ LES IMMIGRANTS A ABIDJAN EN 2008 PAR EXAMEN MICROSCOPIQUE

N'GUESSAN K¹, AKA N¹, OUATTARA D², OUATTARA A²,
ACHY-BROU A², ASSANDE JM¹, BAUDRYARD A¹, COULIBALY B¹, DOSSO M¹

RESUME

Malgré sa relative sensibilité, l'examen microscopique de l'expectoration demeure la pierre angulaire du diagnostic de la tuberculose dans les pays en développement. Ce travail réalisé à Abidjan avait pour objectif de comparer la proportion de frottis positifs pour la recherche des Bacilles Acido-Alcoolo-Résistants avant et après concentration de l'expectoration de candidats à l'immigration aux Etats-Unis d'Amérique.

97 frottis ont été réalisés sans concentration de l'expectoration. En parallèle 97 autres ont été réalisés après décontamination par la méthode de Petroff modifiée. Les frottis séchés et fixés ont été colorés au Ziehl-Neelsen et examinés à l'objectif à immersion. A l'examen microscopique 6 (6.2%)

(IC_{95%} [0.01 ; 0.11]) et 27 (27.8%) (IC_{95%} [0.19 ; 0.37]) frottis avaient été déclarés positifs pour la recherche des BAAR respectivement à l'examen direct et après concentration. La différence observée entre les proportions obtenues était statistiquement significative (P<5%). L'examen microscopique après concentration a révélé que 15 des 17 frottis positifs avec de Rares BAAR avaient été identifiés négatifs pour la recherche des BAAR à l'examen direct.

L'examen microscopique des BAAR après concentration de l'expectoration ciblé peut contribuer à améliorer les indicateurs du programme de lutte contre la tuberculose.

Mots-clés : BAAR- EXPECTORATION - CONCENTRATION-
TUBERCULOSE

SUMMARY

Although his relative sensitivity, smear microscopy examination stills the cornerstone of tuberculosis diagnosis in the developing countries. This work realized at Abidjan objective was to compare proportion of smear positive for AFB obtained with or without concentration of sputum collected from candidate to immigration in USA. 97 direct smears were realized. In parallel, 97 others were made after a decontamination of sputum by modified Petroff's method. After air drying and fixing of smears, Ziehl-Neelsen staining was performed on direct and concentrated smears. Smears were read with 100x objective. At microscopy examination 6 (6.2%) (IC_{95%} [0.01;

0.11]) and 27 (27.8%) (IC_{95%} [0.19; 0.37]) smears were declared positive for AFB research respectively for direct and concentrated smears. Comparison of proportion was statistically significant (P<5%). Microscopy examination after sputum concentrated revealed 15 of 17 smears with scanty AFB were identified negative by direct sputum examination. Sputum concentration oriented may contribute to improve the national control programme indicators.

KEY WORDS : AFB - SPUTUM - CONCENTRATION-
TUBERCULOSIS

1- Unité des Mycobactéries Tuberculeuses et Atypiques, Département de Bactériologie-Virologie,
Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, 01 BP 490 Abidjan 01

2- Département d'Epidémiologie, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, 01 BP 490 Abidjan 01

Tél : 225 22-48-53-05

Fax : 225 22-48-53-05

E mail: ngueskr@yahoo.fr

INTRODUCTION

L'examen direct pour la recherche des Bacilles Acido-Alcool-Résistants (BAAR) est un outil de diagnostic répandu et utilisé pour l'identification rapide des cas suspects d'une atteinte tuberculeuse. La sensibilité de cet examen est influencée par de nombreux facteurs que sont la qualité, la concentration bacillaire de l'expectoration, la méthode (directe ou concentration), la technique de coloration...¹⁻³. Face à ce qui pourrait être considérée comme une faiblesse de cet outil diagnostic, des mesures visant à améliorer sa sensibilité ont été proposées^{4,5}.

L'unité des Mycobactéries tuberculeuses et Atypiques de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire est engagée avec le concours d'une Organisation Non Gouvernementale dans le dépistage actif de la tuberculose chez des candidats à l'immigration aux USA⁶. Ce travail réalisé en routine à Abidjan en 2008, avait pour objectif de comparer la proportion de frottis positifs pour la recherche des Bacilles Acido-Alcool-Résistants avant et après concentration de l'expectoration de candidats à l'immigration aux Etats-Unis d'Amérique.

MATERIEL ET METHODES

Dans le cadre du dépistage actif de la tuberculose pulmonaire chez les candidats à l'immigration aux Etats-Unis d'Amérique, il a été systématiquement réalisé une radiographie pulmonaire et un examen microscopique pour la recherche des BAAR.

Les expectorations spontanées ont été collectées selon la rythmique deux directs et un nocturne. Après un contrôle de non-conformité de l'échantillon, il a été confectionné un frottis sans concentration de l'expectoration.

Dans un tube conique de 50 ml, ont été déposées 2ml de l'expectoration. A l'échantillon ont été ajoutés 2 ml d'une solution de soude à 4% contenant un mucolytique (acétyl-cystéine). La préparation a été homogénéisée au vortex à la vitesse de 1.000 tours/min pendant une minute.

La suspension obtenue a été mise dans une étuve à 37° pendant 20 minutes. Après incubation, la suspension a été centrifugée à 3.000 tours/min pendant 20min. Le culot de centrifugation a été recueilli et a servi à la réalisation en parallèle d'un second frottis.

Les frottis séchés à l'air libre ont été fixés après trois passages bref à la flamme et colorés par la méthode conventionnelle de Ziehl-Neelsen (ENARSON).

L'examen microscopique pour la recherche des BAAR a été fait avec l'objectif x100 à l'aveugle par deux techniciens. Les frottis ayant donné des résultats discordants ont fait l'objet d'une relecture par un troisième technicien. Le Khi-2 corrigé de Yates a été utilisé pour comparer les proportions de frottis positifs obtenues à l'examen microscopique direct et après concentration.

RESULTATS

De Novembre 2007 à Septembre 2008, 97 échantillons d'expectorations provenant de 18 candidates et 16 candidats au voyage ont été analysés en routine au laboratoire.

L'âge moyen des candidats de sexe féminin et masculin était respectivement de 41.7 et 48.3 ans. A l'examen microscopique direct, 6 (6.2%) (IC_{95%} [0.01 ; 0.11]) frottis avaient été déclarés positifs pour la recherche des

BAAR. Après concentration, le nombre de frottis positif pour la recherche des BAAR est passé à 27 (27.8%) (IC_{95%} [0.19 ; 0.37]). La comparaison des proportions observées est statistiquement significative (P<5%).

A l'examen microscopique sans concentration, 4 (4.1%) des 6 frottis positifs avec présence de BAAR avaient été identifiés comme frottis avec de Rares BAAR⁷.

Tableau I : Résultats de l'examen microscopique avant et après concentration de l'expectoration

Cotation	Sans concentration n=97	Après concentration n=97
Rares BAAR	4 (4.1%)	17 (17.5%)
1+	2 (2.2%)	10 (10.3%)
2+	-	-
3+	-	-
Absence de BAAR	91	70

L'examen microscopique après concentration a révélé que 15 des 17 frottis déclarés contenir de Rares BAAR avaient été identifiés négatifs pour la recherche des BAAR à l'examen microscopique direct.

Après concentration, l'examen microscopique a détecté 9 (26.5%) cas de tuberculose évolutives parmi les 34 candidats, là où l'examen direct de l'expectoration n'a dépisté que 2 (5.9%).

DISCUSSION

Les infections à Mycobactéries dues à *M. tuberculosis*, *M. ulcerans* et *M. leprae* constituent des problèmes sanitaires dans de nombreux pays notamment dans les pays pauvres. La DOTS, première stratégie initiée pour réduire l'impact de la tuberculose repose sur 5 piliers dont l'examen microscopique⁸ qui est un outil diagnostique rapidement accessible¹. Les résultats des examens microscopiques effectués ont montré que le nombre de frottis déclarés positifs pour la recherche des BAAR après concentration de l'expectoration était 4 fois plus important que dans les frottis analysés sans concentration de l'expectoration.

Cette observation confirme dans une certaine mesure que la méthode de concentration améliore la sensibilité de l'examen microscopique des BAAR. En effet, il est acquis que la méthode de concentration utilisée en stratégie passive^{9,10} et active⁵ permet d'améliorer le dépistage de la tuberculose pulmonaire. En considérant la valeur prédictive de l'examen microscopique des BAAR¹¹ d'une part, en appliquant d'autre part la définition d'un cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive basée sur l'existence d'au moins 2 frottis positifs⁸, ce sont 9 cas de tuberculose pulmonaire évolutive qui ont été détectés par l'examen microscopique après concentration contrairement aux 2 diagnostiqués après l'examen direct.

Selon Van Deun A et al, la concentration contribue à améliorer le diagnostic dans une faible mesure si tous les autres facteurs susceptibles d'interférer avec la microscopie des BAAR sont optimisés¹². En considération de ce qui précède, les 15 frottis déclarés contenir de Rares BAAR à l'examen après concentration et négatifs à l'examen direct incitent dans une certaine mesure à une implémentation ciblée de l'examen microscopique après concentration de l'expectoration.

Si au cours du diagnostic microscopique de la tuberculose, la présence de frottis faiblement positifs n'est pas rare¹³, il apparaît ainsi que la méthode de concentration pourrait améliorer dans une certaine mesure le dépistage au niveau de certaines cibles. En l'occurrence, Il s'agit des personnes infectées par le VIH¹⁴ et des cas de tuberculose pulmonaire à microscopie négative. Dans les deux cas de figure, l'amélioration du diagnostic contribuera à accroître les indicateurs de résultats d'un programme national de lutte contre la tuberculose¹⁵.

Bien que le contexte épidémiologique incite à évoquer la tuberculose comme la principale affection diagnostiquée chez ces candidats, une mise en culture des expectorations aurait permis de confirmer l'étiologie tuberculeuse ou non de leur affection dans la mesure où la présence de BAAR dans un frottis est spécifique du genre *Mycobacterium*¹.

CONCLUSION

L'examen microscopique pour la recherche des BAAR après concentration de l'expectoration orienté peut contribuer à l'amélioration du diagnostic de la tuberculose et des indicateurs de résultats du programme de lutte contre la tuberculose.

REFERENCES

1. Somoskövi A, Hotaling JE, Fitzgerald M, O'Donnell D, Parsons LM, Salfinger M. Lessons from a proficiency testing event for acid Fast Microscopy. *Chest* 2001;120:250-57.
2. Peterson EM, Nakasone A, Platon-DeLeon JM, Jang J, De la Maza LM, Desmond E. Comparison of direct and concentrated acid fast smears to identify specimens culture positive for Mycobacterium spp. *J Clin Microbiol* 1999;37:3564-68.
3. Rickman TW, Moyer NP. Increased sensitivity of acid fast smears. *J Clin Microbiol* 1980;11:618-20.
4. Makunde WH, Makunde RA, Kamugisha LM, Mgema SG, Liwa A. Improved microscopy diagnosis of pulmonary tuberculosis using sodium hypochlorite concentration technique in Tanga, Tanzania. *Tanzan Health Res Bull* 2007 ;9:87-93.
5. Mutha A, Tiwari S, Khubnani H, Mall S. Application of bleach method to improve sputum smear microscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Indian J Pathol Microbiol* 2005;48:513-17.
6. N'guessan K, Nahoua I, Aka N, Ekaza E, Aney N, Baudryard A, et al. M. Direct sputa examination limits in Tuberculosis active detection in 200 immigrant candidates in United States Of America. *Bull Soc Path Exo* 2006;99:202-03.
7. Enarson DA, Rieder HL, Arnadottir T, Trebucq. A Management of Tuberculosis. A guide for low income countries. Paris: Cinquième édition, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2000.
8. Raviglione MC. Révisions des définitions internationales pour la lutte contre la tuberculose. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:213-15
9. Habeenzu C, Lubasi D, Fleming AF. Improved sensitivity of direct microscopy for detection of acid-fast bacilli in sputum in developing countries. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998;92:415-16.
10. Gebre N, Karlsson U, Jönsson G, Macaden R, Wolde A, Assefa A, et al. Improved microscopical diagnosis of pulmonary tuberculosis in developing countries. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995;89:191-93.
11. Lipsky BA, Gates J, Tenover FC, Plorde JJ. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid fast bacilli. *Rev Infect Dis* 1984;6:214-22
12. Van Deun A, Maug AK, Cooreman E, Hossain MA, Chambaganj N, Rema V, et al. Bleach sedimentation method for increased sensitivity of sputum smear microscopy: does it work? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4:371-6
13. Van Deun A, Salim AH, Cooreman E, Daru P, Das APK, Aung KJM et al. Frottis avec «rares» BAAR : qu'a-t-il derrière ce mot? *Int J Tuberc Lung Dis* 2004 ;8:816-23.
14. Bruchfeld J, Aderaye G, Palme IB, Bjorvatn B, Källenius G, Lindquist L. Sputum concentration improves diagnosis of tuberculosis in a setting with a high prevalence of HIV. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000;94:677-80.
15. Luelmo F, Frieden T, éd. Case Detection, Treatment and Monitoring. Geneva: second edition World Health Organization, 2004.