

# BACTÉRIOLOGIE

## Évaluation de la densité bacillaire avant et après traitement des expectorations par l'hypochlorite de sodium dans le diagnostic de la tuberculose.

S. Diandé (1, 2), L. Sangaré (3, 4), S. Kouanda (3), I.B. Dingtounda (2) & S.A. Traoré (2)

(1) UFR des sciences de la vie et de la terre, Université de Ouagadougou, BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

(2) Centre national de lutte antituberculeuse (CNLAT), Ouagadougou, Burkina Faso.

(3) UFR des sciences de la santé, Université de Ouagadougou, BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

(4) Service de bactériologie-virologie, CHU Yalgado-Ouédraogo, BP 7022 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

Tél: +226 50 31 16 55/56/57; fax: +226 50 31 18 48; e-mail: lsangare@univ-ouaga.bf

Courte note n° 3140. "Bactériologie". Reçue le 26 juillet 2007. Acceptée le 17 juin 2008.

**Summary:** Evaluation of the acid-fast bacilli gradations before and after treatment of the expectorations by sodium hypochlorite in the tuberculosis diagnosis.

To assess the impact of the sputum samples treatment by sodium hypochlorite (NaOCl) 5% on the acid-fast bacilli (AFB) gradations in the tuberculosis diagnosis, 516 sputum samples were collected in 244 patients. The sputum smears made before and after expectorations treatment with NaOCl 5%, were stained by Ziehl-Neelsen hot method. The values obtained from the two microscopic readings were compared by using the  $\chi^2$  test of McNemar. The statistical significance was set at  $p < 0.05$ . The results obtained before using NaOCl 5% showed that 357 samples were negative, while 41 were AFB scanty (gradation 1-9), 28, 40 and 50 were positive 1+, 2+ and 3+. After treatment, among 357 AFB negative expectorations, 14 (3.9%) were AFB-positive, while the AFB gradation increased for 77 (48.4%) in the 159 positive specimens. The two microscopic readings differ significantly ( $p = 0.001$ ). The application of the process on a routine basis in the laboratory will require a reorganization of the tasks in order to give back the results to the patients in time. It is necessary to take into account the aspect of the samples.

tuberculosis  
direct microscopy  
acid-fast bacillus  
sodium hypochlorite  
laboratory  
Ouagadougou  
Burkina Faso  
Sub Saharan Africa

tuberculose  
microscopie  
bacille alcool-resistant  
hypochlorite de sodium  
laboratoire  
Ouagadougou  
Burkina Faso  
Afrique intertropicale

### Introduction

La microscopie directe est mise en exergue par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires (UICTRM) pour identifier les patients tuberculeux contagieux (3). Elle est recommandée en priorité comme outil clé du diagnostic de la tuberculose (TB) dans les pays démunis, chez les malades symptomatiques toussant et crachant depuis plus de deux semaines. L'examen est rapide et peu coûteux, mais il manque de sensibilité.

L'amélioration de la microscopie de la TB reste une préoccupation : elle a suscité des études sur l'homogénéisation fluidification des crachats (1). Les différents résultats obtenus sont restés peu connus dans la lutte contre la TB. Des auteurs recommandent la prudence dans l'application du procédé et souhaitent des investigations plus approfondies, sans en avoir donné les orientations (4). Nous avons entrepris cette étude pour évaluer l'amélioration induite par la solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) 5 % sur la densité bacillaire à l'examen microscopique direct des frottis d'expectoration pulmonaire.

### Matériel et méthodes

Les patients suspects de tuberculose ou en cours de traitement sont recrutés de décembre 2007 à mars 2008 au

Centre national de lutte antituberculeuse (CNLAT) de Ouagadougou. Durant cette période, 516 expectorations matinales non provoquées, visqueuses ou mucopurulentes, sont recueillies chez 244 patients, à raison de 3 échantillons par participant chez 80 malades, 2 par patient chez 112 sujets et 1 chez 52 autres. Les échantillons sont adressés au laboratoire des mycobactéries du CNLAT pour le diagnostic microscopique ou le contrôle de la TB. La détection de bacilles par la technique fluorescente a été confirmée par la méthode de Ziehl-Neelsen (ZN) à chaud. Les résultats ont été quantifiés comme suit : négatif pour 0 bacille acido-alcool-résistant (BAAR)/100 champs; rares pour 1 à 9 BAAR/100 champs; 1+ pour 10 à 99 BAAR/100 champs; 2+ pour 1 à 10 BAAR/champ et 3+ pour plus de 10 BAAR/champ (3). Après la bacilloscopie conventionnelle (examen 1), les crachats ont été soumis à la fluidification-homogénéisation par NaOCl 5 % et à la microscopie après coloration de ZN (examen 2). La solution de NaOCl 5 % et les expectorations ont été mélangées à volume égal (v/v : 2 ml/2 ml) dans un tube à centrifuger. Le mélange a été homogénéisé vigoureusement pendant environ 35 secondes et incubé à température ambiante pendant 15 mn. Puis 0,5 ml d'eau distillée a été additionné à la préparation avant centrifugation à 2000 g pendant 15 mn.

Figure 1.

**Comparaison des gradations des bacilles acido-résistants avant et après traitement des produits de crachats par NaOCl 5 %.**

Comparison acid-fast bacilli gradations before and after treatment of the smears by sodium hypochlorite.

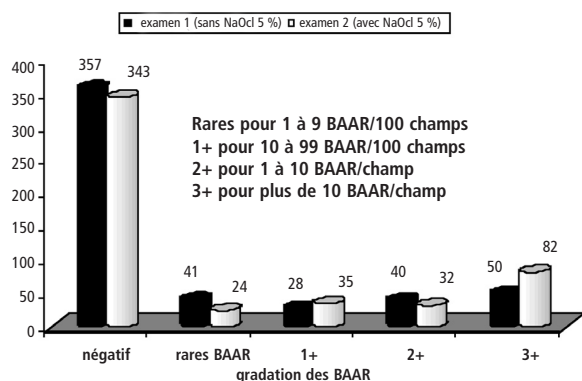


Tableau 1.

**Comparaison des résultats de la microscopie avant (examen 1) et après traitement des crachats au NaOCl 5 % (examen 2).**

Comparison acid-fast bacilli gradations before and after treatment of the smears by sodium hypochlorite.

		examen 2				total	
		négatif	1-9 BAAR	1+	2+		3+
examen 1	négatif	343	11	3	-	-	357
	1-9 BAAR	-	11	24	5	-	41
	1+	-	2	5	15	6	28
	2+	-	-	3	11	26	40
	3+	-	-	-	-	50	50
<b>total</b>		<b>343</b>	<b>24</b>	<b>35</b>	<b>32</b>	<b>82</b>	<b>516</b>

La valeur de p = 0,001

Examen 1 : avant traitement des échantillons par le NaOCl 5 %

Examen 2 : après traitement des échantillons par le NaOCl 5 %

Le culot a été remis en suspension dans 0,1 ml de surnageant pour la réalisation des frottis, la coloration au ZN à chaud et la quantification des BAAR. Le test de  $\chi^2$  selon McNEMAR, a été utilisé pour comparer les paires de résultats au seuil de signification p = 0,05.

## Résultats

Des 244 patients inclus dans l'étude, 30 consultaient pour un contrôle bactériologique des expectorations pulmonaires. La microscopie avant traitement des 516 échantillons (examen 1) a été positive pour 159 d'entre eux, avec une fréquence de frottis paucibacillaires (66/159) (figure 1). Après l'homogénéisation-fluidification au NaOCl 5 %, suivie de la centrifugation (examen 2), 14 (3,9 %) des 357 échantillons précédemment négatifs ont été détectés positifs. Par ailleurs, la densité bacillaire a statistiquement augmenté sur 77 des échantillons traités par NaOCl 5 % (p = 0,001 tableau 1).

## Discussion

Le nombre d'expectorations sans bacilles en microscopie directe des produits bruts (examen 1) était plus important qu'après traitement au NaOCl 5 % (examen 2) qui a permis d'avoir un gain de 3,9 %. De même, à la première analyse, la fréquence des expectorations paucibacillaires était plus importante. Cela peut être dû à des éliminations intermittentes et/ou insuffisantes des bacilles dans les expectorations ou surtout à la faible sensibilité de la bacilloscopie elle-même. La densité bacillaire s'est nettement améliorée après traitement au

NaOCl 5 % (examen 2). La digestion chimique des expectorations a permis de libérer les bacilles des fragments muqueux ou mucopurulents. L'élimination de la substance fluidifiante après centrifugation a concentré les bacilles dans le culot et accru les degrés de positivité des frottis.

Le traitement des crachats par le NaOCl 5 % pourrait donner une nouvelle dimension à la microscopie dans le diagnostic de la TB. Ce procédé, simple, peu coûteux, applicable dans les centres de dépistage des structures sanitaires périphériques, a l'avantage d'améliorer la détection des patients contagieux. La détection précoce de ces patients est un élément essentiel pour limiter la transmission du bacille tuberculeux et assurer la prise en charge thérapeutique à temps. Ceci augmente le succès au traitement et contribue à une meilleure performance des programmes de lutte contre la TB, notamment à travers une chimiothérapie appropriée et l'interruption de la chaîne de dissémination du bacille dans la collectivité. Toutefois, l'application du procédé dans les laboratoires entraînerait un décalage horaire du rendu des résultats aux malades et obligerait à réorganiser les tâches.

Contrairement à des auteurs qui ont trouvé que le procédé au NaOCl était dépourvu de risques de contamination au laboratoire (2), nous avons noté qu'il existe des manipulations à risque qui précèdent le mélange des expectorations à ce produit, notamment le transfert des crachats dans les tubes à centrifuger. Cependant, le manipulateur pourrait réduire ces risques de contamination en ajoutant directement le NaOCl 5 % au prélèvement dans le flacon de prélèvement. Après liquéfaction, la quantité nécessaire du mélange serait transférée dans un tube.

## Conclusion

Le procédé de traitement des expectorations par l'hypochlorite de sodium est contributif pour le diagnostic de la TB et à la mise en œuvre des programmes de lutte antituberculeuse dans les pays à ressources limitées. Sa recommandation à l'heure actuelle pourrait se limiter aux cas paucibacillaires, après un seul examen positif dans la série de 3 prélèvements consécutifs ou si les 3 échantillons sont négatifs alors que la TB est fortement suspectée.

## Remerciements

Au Professeur Armand VAN DEUN (IMT d'Anvers) et à « Sécuriser le futur / Fondation Bristol-Myers and Squibb » pour le financement du projet.

## Références bibliographiques

1. ANGEY KAK, HOFFNER SE & DIWAN VK – Should "the bleach microscopy method" be recommended for improved case detection of tuberculosis? Literature review and key person analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2004, **8**, 806-815.
2. ANGEY KAK, ALVARADO-GALVEZ C, PINEDA-GURCIA L & HOFFNER SE – Improved sputum microscopy for a more sensitive diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2000, **4**, 684-687.
3. ENARSON DA, RIEDER HL, THURIDUR A & TREBUCQ A – *Prise en charge de la tuberculose. Union Internationale Contre la Tuberculose*, 2000, **5e Ed**, 99 pp.
4. RAMSAY A, SQUIRE SB, SIDDIQI K, CUNNINGHAM J & PERKINS MD – The bleach microscopy method and case detection for tuberculosis control. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2006, **10**, 256-261.