

Frottis avec « rares » BAAR : qu'y a-t-il derrière un mot?

A. Van Deun,^{*†} A. Hamid Salim,[‡] E. Cooreman,[‡] P. Daru,[‡] A. P. K. Das,[‡] K. J. M Aung,[‡]
H. L. Rieder[†]

* Mycobacteriology Unit, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium ; † International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, Paris France ; ‡ Damien Foundation Bangladesh, Dhaka, Bangladesh

RESUME

CONTEXTE : Un projet de lutte antituberculeuse au Bangladesh.

OBJECTIF : Documenter la fréquence et la valeur diagnostique des frottis comportant de rares bacilles acido-résistants (échelle UICTMR/OMS : <10 BAAR/100 champs à fort grossissement) et évaluer le caractère approprié du seuil actuel de positivité.

SCHEMA : Analyse des bases de données des registres de laboratoire, des dossiers de patients et étude du rendement diagnostique des stratégies de recueil des expectorations.

RESULTATS : Les frottis faiblement positifs représentent environ 10% des cas suspects et près de 50% des frottis de suivi. Dans les séries de suspects, 10% de cas comportant de 1 à 9 bacilles/100 champs ne sont pas confirmés par une autre analyse positive ou faiblement positive pour les BAAR par comparaison avec 7,5% des résultats obtenus avec la valeur-seuil actuelle de 10/100 champs. Si l'on considérait comme positifs des résultats adoptant une valeur-seuil plus faible, par exemple aussi faible que 1/100 champs utilisée dans l'échelle de l'American Thoracic Society (ATS), on ajouterait au maximum 1,5% de faux positifs. En retour, le bénéfice en cas positifs confirmés monterait jusqu'à 10% et le gain de résultats positifs dépasserait le rendement complémentaire d'un troisième échantillon d'expectoration pour diagnostic. La signification de frottis faiblement positifs de suivi à la fin de la phase intensive est suggérée par leur association à des échecs du traitement et à un résultat globalement défavorable.

CONCLUSIONS : Les résultats faiblement positifs (échelle UICTMR/OMS) ne sont pas rares et ne doivent pas être négligés. L'adoption d'un seuil de positivité nettement plus bas devrait être adéquate dans les programmes de lutte antituberculeuse où les conditions basales pour une microscopie valable des BAAR sont présentes, y compris des contrôles de qualité réguliers.

MOTS CLE : bacilles acido-résistants ; microscopie ; quantitatif

LA RECOMMANDATION ACTUELLE faite par l'Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires (UICTMR) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) aux Programmes Nationaux de Lutte contre la Tuberculose (PNTs) est de ne considérer un frottis comme certainement positif seulement lorsque l'examen microscopique révèle au moins 10 bacilles acido-résistants (BAAR) pour 100 champs au fort grossissement (CFG). Si un nombre de BAAR plus faible est observé, leur nombre réel doit être signalé, une observation qui est fréquemment désignée comme résultat « rare » ou « douteux ». En présence d'un tel résultat, un examen de confirmation d'échantillons complémentaires s'impose.^{1,2} Dans cet article, la mise en évidence d'un nombre de BAAR inférieur au nombre requis pour désigner le résultat comme « positif » est dénommé « rares » bacilles. En raison de leur ambiguïté, de tels résultats ont tendance à susciter la confusion ou l'irritation. Les techniciens peuvent être réticents à rapporter un résultat limite et peuvent donc préférer

les transformer en négatifs ou positifs ; des médecins ne savent pas toujours comment interpréter un tel résultat, ce qui conduit à un diagnostic erroné de tuberculose ou à l'absence de traitement pour des cas réels ou à une déclaration erronée de guérison bactériologique ; les patients peuvent se lasser de porter des échantillons pour répétition des examens et peuvent alors passer du secteur public au secteur privé pour leur traitement. Il en résulte que cette valeur-seuil n'est souvent pas appliquée strictement ou, comme alternative, que les PNT ont fixé leur propre limite pour la déclaration d'un résultat certainement positif.³ Ce problème se complique par ailleurs vu l'existence d'une autre échelle de quantification largement appliquée, celle de l'American Thoracic Society (ATS),⁴ où la limite de positivité n'est que de 1 BAAR/100 CFG et qu'il en résulte une définition autre de résultats « rares bacilles ». De plus dans le passé, l'OMS avait proposé une échelle légèrement différente avec une valeur-seuil de 4 BAAR/100 CFG et une interprétation des résultats pour 1-3 BAAR comme

Auteur pour correspondance: Armand Van Deun, Mycobacteriology Unit, Institute of Tropical Medicine, Nationalesstraat 155, B2000-Antwerpen, Belgium. Tel: (+32) 3 2476548-6336. Fax: (+32) 3 2476333. e-mail: avdeun@itg.be

[Traduction de l'article "Scanty AFB smears: what's in a name?" *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8(7): 816-823.]

« rares bacilles négatifs » et pour 4-9 comme « rares bacilles positifs »⁵.

Au mieux de nos connaissances, n'ont été publiées jusqu'ici ni une analyse détaillée de la distribution des fréquences ni la signification de résultats « rares » avant et pendant le traitement. Nous avons tenté de le faire en utilisant des données provenant des projets de la Fondation Damien au Bangladesh qui consistaient en un réseau bien fonctionnel comportant environ 80 centres de microscopie pour BAAR au cours de la période couverte. Ce réseau inclut un contrôle externe de qualité (CEQ) avec supervision et relecture aveugle des frottis de routine en accord avec les directives mondiales actuelles⁶ et comme nous l'avons décrit précédemment.^{7,8} Utilisé depuis 1996, ce contrôle de qualité persiste avec comme conséquence un taux inférieur à 1% de sérieux faux négatifs et faux positifs. La population recrutée est rurale avec un accès relativement aisé aux centres de diagnostic (distance courte et services gratuits), mais les gens sont très pauvres et des coûts inapparents peuvent constituer une barrière à un diagnostic porté en temps utile.

Les objectifs de ces analyses ont été les suivants : 1) déterminer la distribution de fréquence des résultats quantifiés des frottis de BAAR avant et pendant le traitement avec une attention particulière pour les résultats « rares » et 2) déterminer la valeur diagnostique et pronostique des résultats « rares » et évaluer dans ce contexte le caractère approprié de la valeur-seuil de positivité de l'échelle de l'UICMR/OMS.

METHODES

Un résultat négatif a été défini comme un frottis où aucun BAAR n'est présent sur 100 CFG. Les résultats non-négatifs ont comporté les résultats « rares » définis comme un nombre signalé de BAAR inférieur au seuil de positivité (en l'occurrence 10 BAAR/100 CFG sur l'échelle de l'UICMR/OMS), et les résultats positifs ont été définis comme la présence de nombres de BAAR égaux ou supérieurs à ce seuil. Les frottis de diagnostic étaient ceux pratiqués lors de la consultation d'un patient suspect de tuberculose et les frottis de suivi ceux effectués au cours du traitement.

Les frottis ont été colorés par la méthode de Ziehl-Neelsen à chaud en conformité avec les directives standard,^{1,2} sauf pour une concentration plus élevée de fuchisine basique (1%) et plus faible de bleu de méthylène (0,1%). En règle, on lit seulement 100 CFG, mais pour obtenir une quantification plus précise, l'examen de frottis donnant un résultat « rares » lors des 100 premiers CFG a été poursuivi jusqu'à 300 CFG. Le contrôle de qualité externe se poursuit avec échantillonnage mensuel

et rétro-information vers tous les centres.⁶

Pour le traitement des cas à bacilloscopie positive, on a utilisé des régimes standard comme le recommande l'UICMR¹ : le régime de Catégorie 1 pour les cas qui n'ont jamais été traités auparavant, (c'est-à-dire éthambutol [E], isoniazide [H], rifampicine [R] et pyrazinamide [Z] pendant 2 mois, suivis par H et thioacétazone [T] pendant 6 mois ; 2EHRZ/6HT), et le régime de Catégorie 2 (c'est à dire 2SEHRZ/1EHRZ/5E₃H₃R₃ ; S = streptomycine) pour les cas déjà traités antérieurement. Les phases initiales de traitement ont été prolongées d'un mois lorsque les lames restaient positives à la fin programmée (c'est à dire après 2 ou 3 mois). A la fin de la prolongation, on a examiné un autre frottis d'expectoration et la phase de continuation a été mise en route quel que soit ce dernier résultat. Les phases de continuation et leur durée sont restées inchangées même après prolongation de la phase initiale. Des contrôles complémentaires de frottis d'expectoration au cours de la phase de continuation ont été pratiqués après 3 mois et à son achèvement. En règle, lors de chaque examen de suivi, on prélevait seulement une expectoration. Les résultats du traitement ont été basés uniquement sur les données cliniques et la bacilloscopie des frottis et ont été classifiés selon les critères et définitions standard.¹ Après évaluation du résultat du traitement de la cohorte, les données pertinentes provenant de toutes les cartes de traitement ont été introduites dans un logiciel Epi Info (US Centers for Disease Control and Prevention, version 6, Atlanta, GA, USA, 1995). On a fait de même pour toutes les séries d'examens d'expectoration de diagnostic à la recherche de BAAR avec au moins un résultat non-négatif dans le cadre d'une étude des stratégies de recueil des expectorations rapportée ailleurs.⁹ D'autres bases de données informatisées étaient disponibles ; elles contenaient tous les dossiers successifs provenant d'une sélection randomisée de registres d'examens d'expectoration. La comparaison des proportions a été faite de manière appropriée par le test χ^2 de Pearson ou le test exact de Fisher.

RESULTATS

Fréquence des résultats « rares » des examens de frottis

Les fréquences des résultats quantifiés des BAAR figurent au Tableau 1, stratifiées selon qu'il s'agit de frottis de diagnostic ou de suivi. Plus de 10% des frottis de diagnostic non-négatifs et 47% des frottis de suivi non-négatifs ont été classés comme « rares » (échelle UICMR/OMS). La Figure 1 révèle la répartition détaillée des fréquences des résultats de diagnostic « rares » pouvant aller jusqu'à 30 BAAR/300 CFG. La distribution des valeurs indi

Tableau 1 Fréquence des résultats quantifiés pour les frottis de suspects ou de suivi

Résultat quantifié *	Frottis des suspects n (%)	Frottis de suivi n (%)
1-2/300 CFG	413 (1,0)	NR [†]
1-3/100 CFG	1566 (3,6)	2100 (27,5)
4-9/100 CFG	2410 (5,6)	1477 (19,3)
1+	10461 (24,2)	3014 (39,5)
2+	15361 (35,6)	857 (11,2)
3+	12929 (30,0)	192 (2,5)
Total	43140 (100)	7640 (100)

* 1+, 2+, 3+ sont définis selon l'échelle de quantification de l'UICTMR/OMS.

[†] Les enregistrements dans la base de données du suivi ont été exprimés seulement sur 100 champs et 1-2/300 a été enregistré comme 1/100.

CGP = champ à fort grossissement ; NR = non enregistré ; UICTMR = Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires ; OMS = Organisation Mondiale de la Santé.

viduelles a été relativement homogène, excepté pour des pics précédés par des creux au niveau de 12 et de 30 BAAR/300 CFG.

Pour les frottis de suivi, une analyse détaillée de ce type n'a pas été possible car les valeurs n'étaient exprimées que par 100 CFG dans la base de données. La Figure 2 montre la totalité de leur marge de répartition à 2-4 mois (fin de la phase initiale), à 5-6 mois (milieu du traitement) et à 7 mois ou plus (fin du traitement). On note une proportion légèrement plus faible des lectures BAAR « rares » et une proportion légèrement plus élevée des lectures fortement positives à la fin du traitement.

Signification des résultats bacilloscopiques « rares »

La signification des frottis de diagnostic « rares » a dès lors été déterminée à partir du résultat du frottis le plus positif dans des séries consistant en au moins trois examens. La Figure 3 révèle la répartition de fréquence de cet autre frottis dans les mêmes séries sous forme d'une courbe pour chacun des résultats primaires « rares » de l'UICTMR/OMS depuis 1-9/100 CFG ainsi que pour la valeur-seuil

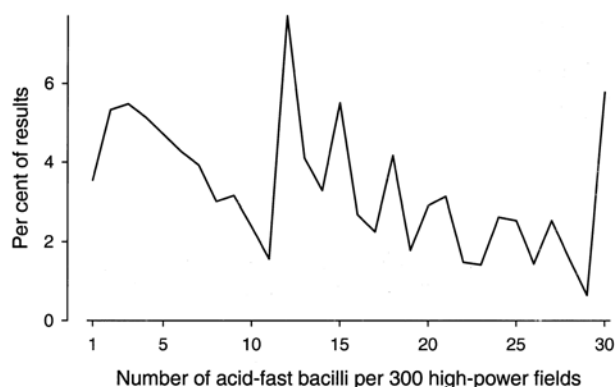


Figure 1 Répartition de la fréquence des résultats « rares » de la bacilloscopie des frottis dans les examens d'expectoration pour le diagnostic. Les résultats (exprimés par 300 champs au fort grossissement) s'étalent de 1 à 30, cette dernière valeur indiquant le nombre minimum de bacilles exigés pour un résultat 1+.

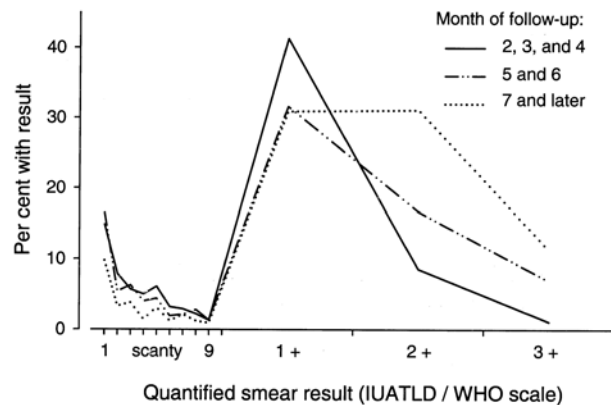


Figure 2 Répartition des fréquences des résultats de la bacilloscopie des frottis non-négatifs au cours des examens d'expectoration de suivi à 2, 3 et 4 mois (6.236 examens), à 5 et 6 mois (822 examens) et à 7 mois ou plus tard (582 examens).

de 10 BAAR/100 CFG. Ces courbes sont très proches l'une de l'autre, ce qui indique une signification similaire de chacune des valeurs « rares » individuelles. Des résultats « rares » non confirmés (absence de BAAR dans n'importe quelle autre expectoration) ont été très peu fréquents (10,1% pour l'ensemble des résultats « rares ») et ce n'est que pour l'observation de 1 ou 2 BAAR/100 CFG que ce pourcentage a dépassé le niveau seuil de 10/100 CFG (respectivement 22,5% ou 11,4% vs. 7,5%). Si l'on exclut les résultats allant jusqu'à 2 BAAR/100 CFG à titre de confirmation, la proportion de résultats non confirmés s'élève à 31,2% pour 1 BAAR/100 CFG, à 16,9% pour 2 BAAR/100 CFG et à 15,3% pour tous les résultats primaires de 1-9/100 CFG par comparaison avec 11% pour la valeur-seuil (données détaillées non présentées).

Comparaisons des rendements entre les seuils UICTMR/OMS et des seuils alternatifs de positivité

Au Tableau 2, on voit les implications d'un seuil de positivité plus bas pour la détection des cas en

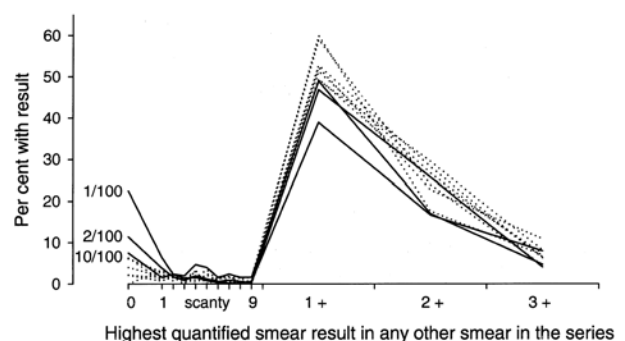


Figure 3 Confirmation des résultats de bacilloscopie des frottis de diagnostic où l'on avait trouvé de 1-10 BAAR/100 CFG par n'importe quel autre frottis dans la même série (2.100 examens). Chacune des 10 lignes représente une mise en évidence initiale de 1-10 BAAR, et montre à quelle fréquence les autres échantillons d'expectoration de la série contenaient un certain nombre de BAAR ou aucun. L'échelle de quantification utilisée est celle de l'UICTMR/OMS. BAAR = bacilles acido-résistants ; UICTMR = Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires ; OMS = Organisation Mondiale de la Santé.

Tableau 2 Implications de l'application de différentes limites de positivité pour le rendement de frottis positifs et de cas confirmés

	Valeur limite BAAR/100 CFG		
	1	4	10
Nombre total de suspects positifs identifiés*	5109	5017	4865
Pour cent de positifs identifiés sur le premier frottis [†]	90,3	86,9	82,5
Pour cent de cas confirmés par au moins deux résultats positifs [‡]	96,3	93,4	86,6

* Total de suspects positifs : tous les suspects consécutifs avec au moins un examen positif sur les trois résultats de bacilloscopie enregistrés ont été inclus en utilisant différentes valeurs-seuil.

[†] Le pourcentage de cas positifs se réfère au premier frottis trouvé comme positif, indépendamment des autres résultats de frottis, sur le total trouvé comme positif dans au moins un des trois frottis.

[‡] Le pourcentage de cas identifié se réfère aux suspects avec au moins deux échantillons d'expectoration dans leurs séries parmi lesquels le frottis s'avère contenir des BAAR à la limite de positivité ou au-dessus. Le dénominateur consiste en tous les suspects avec au moins un résultat positif ou « rare » dans une série de trois frottis.

BAAR = bacilles acidorésistants ; CFG = champ au fort grossissement.

utilisant les résultats des différentes stratégies d'examen des expectorations dont nous avons fait état antérieurement.⁹ Les résultats principaux avec la stratégie traditionnelle de recueil (sur place, petit matin et sur place) ont été mis en tableau en utilisant les critères de positivité de l'UICTMR/OMS, les critères antérieurs de l'OMS et les critères de l'ATS (c'est-à-dire au minimum respectivement 10, 4 ou 1 BAAR/100 CFG).

La proportion de suspects qui peuvent être confirmés comme positifs quand on dispose d'au moins deux échantillons complémentaires d'expectoration a été de 6,8% ou de 9,7% supérieurs aux 86,6% de confirmation après utilisation du seuil UICTMR/OMS de 10 BAAR/100 CFG. De plus, on a pu enregistrer grâce à ces valeurs-seuil plus faibles un plus grand nombre de résultats positifs, respectivement 152 (3,1% de gain supplémentaire) ou 244 (5,0% de gain supplémentaire), et le rendement de la première expectoration a augmenté respectivement de 4,4% et de 7,8%. Avec la valeur-seuil de 1/100 CFG, six groupes de cas de trois frottis de diagnostic ont eu des résultats « rares » à répétition (et aussi dans certains des groupes de cas contenant un résultat négatif) contre 92 en utilisant la valeur-seuil de 4/100, et pas moins de 422 en utilisant la valeur-seuil de l'UICTMR/OMS (données non fournies). Nous avons signalé antérieurement que 5% de ces derniers ne pouvaient pas être confirmés par une relecture de ces lames ou par examen d'échantillons complémentaires.⁹ Enfin, il peut être utile d'insister sur le fait que par l'application d'une valeur-seuil plus faible, ces

gains supplémentaires tombent à environ 50% par l'utilisation d'une stratégie de recueil des trois échantillons du matin (détails non fournis).

Résultats « rares » dans les frottis de suivi et leur relation avec le résultat du traitement

Les Figures 4 à 7 exposent la signification des résultats « rares » (et plus fortement positifs) dans les frottis précoces de suivi en examinant les relations entre le degré de positivité des frottis et le résultat défavorable du traitement pour tous les cas de tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive enregistrés successivement de 1995 à 1998. Un résultat défavorable a été défini comme la somme des échecs, des rechutes détectées passivement (les deux reposant sur des frottis BAAR), des abandons et des décès au cours du traitement. Les échecs et les rechutes sont également montrés séparément. L'association entre le résultat et les frottis à 2 mois pour le traitement de catégorie 1 apparaît à la Figure 4, et à 3 mois à la Figure 5. Au deuxième mois, la différence entre les frottis négatifs et « rares » ou légèrement positifs (jusqu'à 1+) semble très faible, particulièrement lorsque l'on additionne les échecs et les rechutes, même si elle est hautement significative sur le plan statistique à cause des nombres très élevés ($P < 0,00001$). Les frottis négatifs et les frottis « rares » contenant 4-9 BAAR/100 CFG ont prédit presque la même proportion d'échecs et de rechutes (3,9% vs. 4,0% ; $P = 0,9$) mais la proportion a été plus élevée pour les résultats « rares » avec 1 à 3 BAAR/100 CFG (6,8% ; $P < 0,00001$). Par comparaison avec les résultats « rares » avec 4-9 BAAR/100 CFG, l'issue du traitement pour les résultats « rares » avec 1-3 BAAR/100 CFG est toujours significativement différente ($P < 0,01$). Au troisième mois de traitement (après prolongation

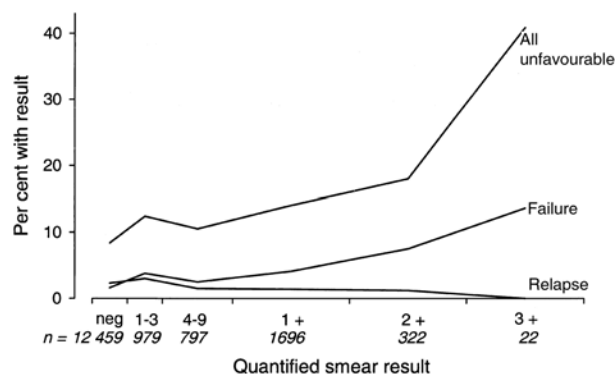


Figure 4 Le résultat du traitement en fonction de la quantification des résultats de la bacilloscopie des frottis après 2 mois de traitement par le régime de Catégorie 1. L'échelle de quantifications utilisée est celle de l'UICTMR/OMS, où les résultats « rares » sont regroupés en 1-3 et 4-9 BAAR/100 champs au fort grossissement. La variable « Tous les défavorables » additionne les échecs, les rechutes, les abandons et les décès au cours du traitement. UICTMR = Union internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires ; OMS = Organisation Mondiale de la Santé ; BAAR = bacilles acidorésistants.

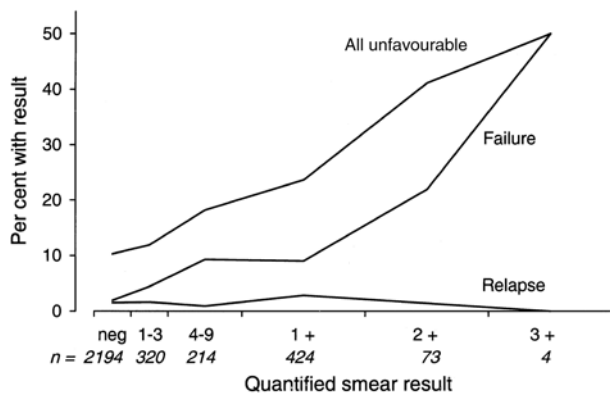


Figure 5 Résultat du traitement en fonction des résultats quantifiés de bacilloscopie des expectorations après 3 mois de traitement avec le régime de Catégorie 1. L'échelle de quantification utilisée est celle de l'UICTMR/OMS, les résultats « rares » étant regroupés en 1-3 et 4-9 BAAR/100 champs au fort grossissement. La variable « Tous les défavorables » additionne les échecs, les rechutes, les abandons et les décès au cours du traitement. UICTMR = Union internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires ; OMS = Organisation Mondiale de la Santé ; BAAR = bacilles acidorésistants.

de la phase intensive) le risque d'une issue défavorable, et particulièrement d'un échec, augmente proportionnellement au degré de positivité du frottis dans toute son étendue, et les différences entre les négatifs et les deux groupes de résultats « rares » atteignent une signification statistique.

A la Figure 6, on voit la corrélation pour les traitements de Catégorie 2 et les frottis à 3 mois et à la Figure 7, celle pour la Catégorie 2 et les frottis à 4 mois. Particulièrement à 4 mois et plus clairement pour le résultat « échec », la relation est ici presque linéaire. Si l'on considère la somme des échecs et des rechutes, les résultats « rares » correspondent bien et la différence par comparaison avec les cas où le résultat est négatif est statistiquement significative à l'exception du petit groupe avec 1-3 BAAR/100 CFG au 4^{ème} mois.

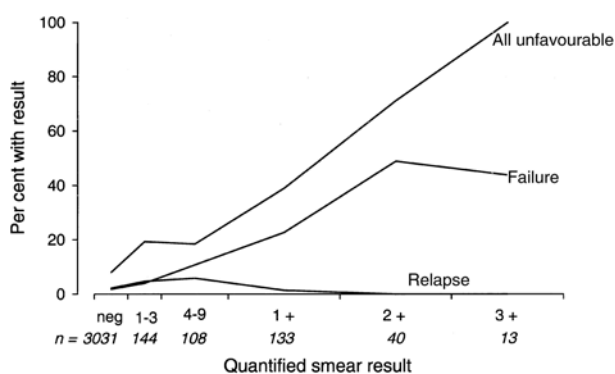


Figure 6 Résultat du traitement en fonction des résultats quantifiés de bacilloscopie des expectorations après 3 mois de traitement avec le régime de Catégorie 2. L'échelle de quantification utilisée est celle de l'UICTMR/OMS, les résultats « rares » étant regroupés en 1-3 et 4-9 BAAR/100 champs au fort grossissement. La variable « Tous les défavorables » additionne les échecs, les rechutes, les abandons et les décès au cours du traitement. UICTMR = Union internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires ; OMS = Organisation Mondiale de la Santé ; BAAR = bacilles acidorésistants.

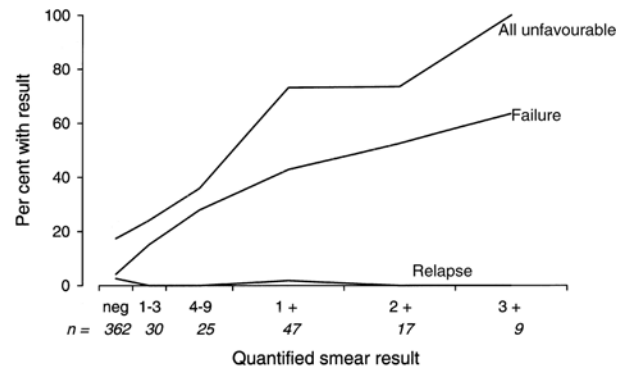


Figure 7 Résultat du traitement en fonction des résultats quantifiés de bacilloscopie des expectorations après 4 mois de traitement avec le régime de Catégorie 2 pour le retraitement des cas à bacilloscopie positive. L'échelle de quantification utilisée est celle de l'UICTMR/OMS, les résultats « rares » étant regroupés en 1-3 et 4-9 BAAR/100 champs au fort grossissement. La variable « Tous les défavorables » additionne les échecs, les rechutes, les abandons et les décès au cours du traitement. UICTMR = Union internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires ; OMS = Organisation Mondiale de la Santé ; BAAR = bacilles acidorésistants.

DISCUSSION

Différentes échelles ont été proposées pour la quantification des frottis de BAAR, mais aujourd'hui seules celles recommandées par l'UICTMR/OMS et l'ATS sont largement utilisées, la première surtout dans les pays à faibles revenus et à haute prévalence, et la seconde essentiellement dans les pays industrialisés. La différence principale entre ces deux échelles est la définition de la limite de positivité, placée à 10 BAAR/100 CFG dans la première et dix fois plus bas, c'est-à-dire à 1 BAAR/100 CFG dans la seconde. Par conséquent, ce qui est appelé 1+ dans l'échelle UICTMR/OMS est déjà 2+ dans l'échelle ATS et la portée de l'ATS s'étend jusqu'à un score maximum de 4+ plutôt que de 3+. Avec les deux échelles, les résultats inférieurs à la limite de positivité sont considérés comme non fiables (donc traditionnellement appelés « rares » ou « douteux »), et la confirmation par un examen d'échantillons complémentaires est dès lors recommandée.^{1,2,4} Il n'y a pas de directives et beaucoup d'incertitudes au sujet du comportement à recommander lorsque ces examens d'expectoration complémentaires restent négatifs ou donnent également des résultats « rares ». Les résultats en dessous de la valeur-seuil de l'ATS sont vraiment exceptionnels et peut-être pour cette raison, on pense souvent que c'est aussi le cas pour les résultats « rares » dans l'échelle UICTMR/OMS. Cela n'a jamais été démontré de façon non équivoque.

La justification d'une valeur-seuil pour définir sans ambiguïté la positivité est de se mettre à l'abri de résultats faussement positifs, mais la valeur-seuil de 10 BAAR/100 CFG pour l'échelle de l'UICTMR/OMS semble avoir été choisie arbitrairement (S R Pattijn, communication personnelle).

Kubica a montré que la corrélation entre les frottis et la culture était faible lorsque moins de trois BAAR étaient présents sur l'ensemble du frottis (il n'a toutefois pas donné une définition précise de « l'ensemble du frottis »).¹⁰ Cela a été une des conclusions principales d'une étude multicentrique conduite dans des contextes à faible prévalence. Il est remarquable que presque exactement la même valeur-seuil avait été observée par Raj Narain et coll. pour les microscopistes en Inde.¹¹ La corrélation avec la culture, tout comme le suivi des cas, les ont conduits à conclure qu'un résultat de frottis ≤ 3 BAAR n'était pas fiable. Dans une étude d'Algérie, utilisant également la culture comme « gold standard », 50% des frottis avec ≤ 10 BAAR/frottis s'accompagnaient de cultures négatives.¹² Les auteurs ont recommandé la culture ou un autre examen de frottis pour la confirmation. C'est probablement en se basant sur ces rapports que les modules de formation de l'OMS antérieurement utilisés ont introduit un élément interprétatif aux résultats « rares » de l'échelle UICTMR/OMS en considérant que les frottis avec 4-9 BAAR /100 CFG étaient « positifs rares ».⁵

En estimant qu'un « frottis » comporte 300 champs,¹² ces rapports suggèrent que le seuil UICTMR/OMS de 1 BAAR/10 CFG peut être de trois à dix fois trop élevé même sans prendre en compte qu'un frottis vraiment positif avec culture négative est un phénomène bien connu.^{13,14}

Dans la présente étude, nous avons trouvé que de tels résultats ne sont pas rares puisqu'ils représentent un dixième des frottis non-négatifs de diagnostic et presque la moitié des résultats non-négatifs des frottis de suivi. Sur l'échelle de l'ATS, les résultats « rares » ne constituaient que 1% de ces frottis de diagnostic alors que la base de données ne nous permet pas de déterminer cette proportion pour les frottis de suivi.

Quel pourrait dès lors être un seuil optimisé de positivité dans les frottis de diagnostic? Notre analyse détaillée des fréquences jusqu'à la valeur-seuil de l'UICTMR/OMS montre que les valeurs individuelles sont, en gros, réparties de manière homogène. Les pics à 12 et 30 BAAR/ 300 CFG précédés par des creux sont probablement causés par la préférence du lecteur pour ces points seuil (respectivement pour une interprétation de positivité et un score à 1+). Dans cette étude, la culture n'était pas disponible localement et les délais dans le transport des échantillons et les effets bactéricides des processus de décontamination auraient pu faire craindre des cultures faussement négatives, particulièrement dans les échantillons contenant de très rares bacilles. Alors que cela correspond exactement à la stratégie recommandée sur le terrain, nous avons donc choisi

d'interpréter les résultats comme faussement « rares » en nous basant sur l'absence de résultats « rares » ou positifs dans les frottis complémentaires dans les séries de diagnostic. Ceci a révélé des différences très faibles entre les quantifications individuelles des « rares » puisque l'ensemble de la série ne restait négatif que dans 10% seulement des cas par comparaison avec 7,5% pour les valeurs-seuil de 10 BAAR/100 CFG. Cette proportion n'était considérablement plus élevée que pour la valeur de 1BAAR/100 CFG et restait vraie lorsqu'on n'acceptait pas comme confirmation des résultats « rares faibles » (1 ou 2/100). Avec cette définition, un tiers seulement environ des résultats avec 1 BAAR/100 CFG pourrait avoir été faux, ce qui semble en bonne corrélation avec les études mentionnées plus haut et utilisant la culture comme « gold standard ».

Si l'on applique une proportion d'environ 15% d'absence de confirmation (absence d'autres frottis contenant au moins 3BAAR/100 CFG) à la fréquence observée de 10% de « rares » (1-9 BAAR/100 CFG) pour les frottis de diagnostic, une valeur-seuil de 1 BAAR/100 CFG pourrait dès lors ajouter au maximum 1,5% de faux positifs. Une valeur-seuil de 4 BAAR/100 CFG n'en ajouterait pratiquement aucun puisqu'elle n'a pas montré plus de résultats confirmés que la valeur de 10 BAAR/100 CFG dans notre analyse. Par comparaison avec les résultats faussement positifs trouvés avec d'autres méthodes de diagnostic comme les clichés thoraciques ou la sérologie qui sont fréquemment utilisées en cas de résultats microscopiques non concluants, ces proportions semblent négligeables. D'autre part, dans une nouvelle analyse de notre comparaison publiée antérieurement sur les rendements de diagnostic, une valeur-seuil plus basse pourrait entraîner des avantages importants. Un seuil de 4 BAAR/100 CFG permet de confirmer près de 7% de cas supplémentaires par deux résultats positifs, de détecter 3% de positifs en plus sur n'importe quelle expectoration et d'augmenter de 4,4% le rendement du premier frottis. Cela signifie un rendement nettement plus élevé que celui obtenu par l'examen d'un troisième échantillon d'expectoration. L'application du seuil de 1 BAAR/100 CFG entraînerait un avantage encore plus important—presque 10% de cas confirmés en plus, 5,0% de cas positifs en plus sur n'importe quelle expectoration et une augmentation du rendement de la première expectoration de 7,8%. Dans la même analyse, à la fois la relecture et les résultats de l'augmentation du nombre de frottis d'une série pour diagnostic ont suggéré un faible taux de faussement positifs parmi les résultats « rares » sur l'échelle de l'UICTMR/OMS. Environ un tiers des résultats « rares » isolés mais seulement

10% des résultats « rares » répétés se sont avérés négatifs à la relecture des frottis correspondants et respectivement 22% et 3% n'ont pas été confirmés par l'examen d'un plus grand nombre d'échantillons. De plus les résultats qui s'avéraient « rare » à répétition sur l'échelle de l'UICMR/OMS se sont avérés plus fiables qu'un résultat positif isolé dont 8% n'ont pas pu être confirmés par l'examen d'échantillons complémentaires d'expectoration.

Il est peu probable que la proportion considérable de résultats « rares » identifiés ait été due à une déficience de la coloration. La méthode de coloration utilisée (Ziehl-Neelsen à chaud), avec la concentration originale de fuchsine à 1% devrait normalement rendre les BAAR plus visibles qu'une coloration à froid,^{15,16} et au moins aussi visibles que la méthode plus couramment utilisée avec une concentration de 0,3% du colorant fuchsine. On s'attendrait également à ce que la prévalence des frottis « rares » soit plus élevée dans les frottis de diagnostic des patients co-infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH),^{17,18} mais ceci n'a pas été le cas dans notre population puisque le VIH est très rare au Bangladesh.

Comme une prévalence plus élevée de frottis positifs attribue une valeur prédictive plus élevée à un frottis positif et fournit des conditions meilleures pour le maintien de la compétence, le fait de recommander un seuil plus élevé de positivité dans les pays à faibles revenus apparaît paradoxal et inapproprié. La littérature publiée à ce sujet¹³ et les résultats présentés ici suggèrent que de fixer un seuil uniformément bas pour indiquer la positivité peut ne pas poser de problème, pourvu que les conditions élémentaires de formation, de supervision et d'équipement soient remplies. De plus, un contrôle externe de qualité par relecture externe des frottis venant de la périphérie pourrait aisément aider à l'identification des centres fournissant trop de résultats faussement positifs. Au cours des supervisions de routine, de tels laboratoires éveilleront également souvent la suspicion à cause d'une proportion anormalement élevée de résultats « rares ».

L'examen microscopique à la recherche de BAAR comporte de sérieuses limitations lors de l'examen des échantillons d'expectoration de suivi, car il ne peut pas différencier les bacilles viables des cadavres bacillaires. Des taux régulièrement plus faibles de culture par comparaison avec les frottis positifs ont été signalés en cours de traitement et s'étalent d'environ 60% qui étaient également positifs à la culture à la fin de la phase intensive jusqu'à environ un tiers vers la fin du traitement.¹⁹ Pour cette raison, Kubica a proposé de placer la valeur limite pour un frottis positif de suivi à 10 BAAR/frottis.¹⁰ Certains PNT exigent deux ou même trois échantillons d'expectoration

pour chaque examen de suivi, ce qui entraîne des incertitudes en cas de résultats discordants. Dans notre expérience, cela a souvent pour conséquence que des résultats de frottis de suivi « rares » ou positifs soient considérés ou même enregistrés comme négatifs quand les BAAR ne sont pas retrouvés dans plusieurs expectorations. En raison de la reproductibilité nécessairement moins bonne des résultats « rares », cela ne peut pas se justifier.

Comme la culture n'était pas disponible en routine, il n'a pas été possible de définir une valeur-seuil optimale pour la positivité dans les expectorations de suivi, mais une analyse descriptive et qualitative peut garder une signification. Dans ce projet, les frottis de suivi « rares » et positifs surviennent à une fréquence globale d'environ 10%, mais plus fréquemment à la fin de la phase intensive. Les presque 50% de frottis avec résultats « rares » sont relativement plus fréquents à un stade plus précoce du traitement. Si l'on compare les résultats quantifiés des frottis de suivi avec les résultats du traitement, on observe pour les traitements de Catégorie 1 une association satisfaisante et pour la Catégorie 2, une association même remarquablement linéaire avec des résultats défavorables, en particulier les échecs de traitement et les rechutes. L'association devient plus étroite quand la quantification est plus élevée, le traitement de plus longue durée et la catégorie de traitement plus élevée. Bien que l'absence de confirmation par culture des échecs et des rechutes reste une limitation importante, les résultats « rares » concordent globalement bien avec ces tendances, indiquant l'importance réelle de frottis de suivi « rares ». La tendance inverse observée pour le groupe avec 1 à 3 BAAR par comparaison avec celui comportant 4-9 BAAR/100 CFG après 2 mois de traitement de Catégorie 1 n'est pas contradictoire avec cette attitude. En fait, elle correspond parfaitement aux indications de prolongation de la phase intensive qui a été pratiquée à partir de la valeur-seuil de 4 BAAR/100 CFG si l'on suppose que la prolongation a eu quelque effet sur ces résultats défavorables.

CONCLUSIONS

Les frottis « rares » en dessous de la ligne de positivité de l'échelle UICMR/OMS ne sont pas exceptionnels dans les frottis diagnostic et sont fréquents dans les frottis de suivi. Chez les suspects de tuberculose, ils suggèrent une authentique positivité pourvu que la technique de microscopie respecte les standards minimum de formation et d'équipement. Nous recommandons l'adoption d'une valeur-seuil basse à 4 ou même à 1 BAAR/100 CFG, comme dans les échelles antérieures de l'OMS et de l'ATS, une modification qui pourrait améliorer de façon importante l'efficacité

de la détection des cas. L'augmentation concomitante inévitable des résultats faussement positifs paraît être un problème relativement mineur qui peut être contrôlé par un contrôle de qualité régulier plutôt que par l'adoption d'une valeur-seuil élevée dont l'efficacité est douteuse.

La signification et dès lors la limite la plus appropriée de positivité dans les frottis de suivi restent obscures en raison de la proportion élevée mais variable de tels frottis liée à des cadavres bacillaires. Des études complémentaires sont nécessaires pour comparer les résultats des frottis et des cultures dans différentes catégories de patients et à différents moments au cours du traitement. Toutefois, nos données suggèrent que des résultats « rares » ne devraient pas être simplement ignorés, même dans les frottis de suivi.

Références

- Enarson D A, Rieder H L, Arnadottir T, Trébuq A. Management of tuberculosis: a guide for low income countries. 5th ed. Paris, France: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2000.
- World Health Organization. Laboratory services in tuberculosis control. WHO/TB/98.258. Geneva, Switzerland: WHO, 1998.
- Programme National Anti-tuberculeux Intégré aux soins de santé de base 'P.A.T.I. 3'. Kinshasa, Congo: Bureau National de la Tuberculose, 1996.
- American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1376-1395.
- World Health Organization. Managing tuberculosis at district level, a training course. Supporting laboratory services. Geneva, Switzerland: WHO, 1994.
- Aziz M A, Ba F, Becx-Bleumink M, et al. External quality assessment for AFB smear microscopy, Washington, DC: Association of Public Health Laboratories, 2002.
- Van Deun A, Portaels F. Limitations and requirements for quality control of sputum smear microscopy for acid-fast bacilli. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 756-765.
- Van Deun A, Roorda F A, Chambugonj N, Hye A, Hosain A. Reproducibility of sputum smear examination for acid-fast bacilli: practical problems met during cross-checking. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 823-829.
- Van Deun A, Hamid Salim A, Cooreman E, et al. Optimal tuberculosis case detection by direct sputum smear microscopy: how much better is more? *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6: 222-230.
- Kubica G P. Correlation of acid-fast staining methods with culture results for mycobacteria. *Bull Int Union Tuberc* 1980; 55: 117-124.
- Raj Narain, Nair S S, Naganna K, Chandrasekhar P, Ramanatha Rao G, Pyare Lal. Problems in defining a 'case' of pulmonary tuberculosis in prevalence surveys. *Bull World Health Organ* 1968; 39: 701-729.
- Mokhtari Z, Larbaoui D. Corrélation entre les résultats d'un examen direct très faiblement positif et ceux de la culture - résultats préliminaires. *Bull Union Int Tuberc* 1973; 48: 88-89.
- Levy H, Feldman C, Sacho H, van der Meulen H, Kallenbach J, Koornhof H. A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 1989; 95: 1193-1197.
- Maso Dominguez J, Saida Vivas E. Smear-positive and culture-negative results of routine sputum investigations for the detection and therapy control of pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1977; 58: 217-220.
- Somoskövi A, Hotaling J E, Fitzgerald M, O'Donnell D, Parsons L M, Salfinger M. Lessons from a proficiency testing event for acid-fast microscopy. *Chest* 2001; 120: 250-257.
- Vasanthakumari R, Jagannath K, Rajasekaran S. A cold staining method for acid-fast bacilli. *Bull World Health Organ* 1986; 64: 741-743.
- Smith R L, Yew K, Berkowitz K A, Aranda C P. Factors affecting the yield of acid-fast sputum smears in patients with HIV and tuberculosis. *Chest* 1994; 106: 684-686.
- Karstaedt A S, Jones N, Khoosal M, Crewe-Brown H H. The bacteriology of pulmonary tuberculosis in a population with high human immunodeficiency virus seroprevalence. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 312-316.
- Al-Moamary M S, Black W, Bessuille E, Elwood R K, Vedal S. The significance of the persistent presence of acid-fast bacilli in sputum smears in pulmonary tuberculosis. *Chest* 1999; 116: 726-731.