

ARTICLE ORIGINAL

Evaluation de la microscopie à fluorescence à lampe LED dans le diagnostic de la tuberculose

Evaluation of LED fluorescence microscopy in the diagnosis of tuberculosis

Salma Maalej¹,
Amal Chakroun¹,
Salma Smaoui^{1,2},
Salma Hachicha^{1,2},
Nesrine Ben Said¹,
Asma Ghorbel^{1,2},
Férièle Messadi-Akrout^{1,2}

1 Faculté de Pharmacie de
Monastir, Université de Monastir,
Tunisie

2 Laboratoire régional d'hygiène,
Sfax, Tunisie

Reçu le 17 Janvier 2022
accepté le 4 Avril 2022

Auteur correspondant :
Dr Salma Maalej

Adresse :
Route Tunis km6 - SakietEzzit Sfax

Courriel :
maalejsalma91@yahoo.fr

Résumé

Introduction :

La tuberculose (TB) restel'une des pathologies les plus courantes dans le monde. Pendant longtemps, la coloration de Ziehl-Neelsen (ZN) a été la technique de référence pour l'examen direct mais actuellement l'auramine(AUR) tend à la remplacer. Notre étude avait comme objectif d'évaluer l'apport de la coloration à l'AUR par rapport à la coloration de ZN dans le diagnostic de la TB.

Patients et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période allant du 1^{er} juillet 2013 au 31 juillet 2016, qui a inclus tous les prélèvements d'origine pulmonaire et extra-pulmonaire ayant bénéficié de la coloration de ZN et celle à l'AUR (n=4583).

Résultats :

Un total de 38892 prélèvements d'origine pulmonaire et extra-pulmonaire a été examiné dont 4583 frottis ont été examinés à l'AUR soit un taux de 11,8%. La comparaison de l'AUR par rapport à ZN a montré un taux de concordance de 97,7%. Par rapport à la coloration de référence ZN, l'AUR était significativement plus sensible pour les crachats et les prélèvements ganglionnaires (p<0,05). La sensibilité de l'AUR augmente surtout pour les formes pauci-bacillaires (PB). En considérant la culture comme technique de référence, nos résultats montrent que le microscope à fluorescence est significativement plus sensible que la microscopie optique ZN (49,5% *versus* 41,5%), alors que la spécificité et la VPN des deux méthodes sont comparables. En considérant la PCR comme méthode de référence, notre étude montre un gain non significatif en sensibilité de l'AUR par rapport à ZN de 8% (44% *versus* 36%). La spécificité est bonne avec un taux de 98,9% pour les deux colorations.

Conclusion :

La généralisation de la méthode de coloration par l'AUR dans notre laboratoire permettrait d'améliorer les performances diagnostiques ce qui aurait un impact positif sur la prise en charge des patients.

Mots-clés : Tuberculose, Auramine, Ziehl-Neelsen

Abstract

Introduction :

Tuberculosis (TB) remains one of the most common pathologies in the world. For a long time, Ziehl-Neelsen (ZN) staining was the reference technique for direct examination, but currently auramine (AUR) tends to replace it. Our study aimed to evaluate the contribution of AUR staining compared to ZN staining in the diagnosis of TB.

Patients and methods :

This is a retrospective study over a period from July 1st, 2013 to July 31st, 2016, which included all the samples of pulmonary and extra-pulmonary origin having benefited from ZN staining and that at the AUR (n=4583).

Results :

A total of 38892 samples of pulmonary and extra-pulmonary origin were examined, of which 4583 smears were examined with the AUR, i.e. a rate of 11.8%. The comparison of AUR *versus* ZN showed a concordance rate of 97.7%. Compared to the ZN reference stain, AUR was significantly more sensitive for sputum and lymph node samples (p<0.05). The sensitivity of the AUR increases especially for the pauci-bacillary forms. Considering culture as the reference technique, our results show that the fluorescence microscope is significantly more sensitive than ZN optical microscopy (49.5% *versus* 41.5%), while the specificity and the VPN of the two methods are comparable. Considering PCR as the reference method, our study shows a non-significant gain in sensitivity of AUR compared to ZN of 8% (44% *versus* 36%). The specificity is good with a rate of 98.9% for both stains.

Conclusion :

The generalization of the AUR staining method in our laboratory would improve diagnostic performance which would have a positive impact on patient care.

Keywords : Tuberculosis, Auramine staining, Ziehl-Neelsen

INTRODUCTION

La tuberculose (TB) reste l'une des pathologies les plus courantes dans le monde entier. Malgré les progrès médicaux qui ont contribué à l'amélioration de la situation épidémiologique de la TB, son incidence reste élevée vu les mauvaises conditions socio-économiques dans certains pays (1). Le diagnostic de la TB repose dans un premier temps sur l'examen direct (ED). En effet, ce dernier permet de fournir des résultats rapides en moins d'un jour (2). Pendant longtemps, la coloration de Ziehl-Neelsen (ZN) a été la technique de référence grâce à la rapidité de diagnostic, sa spécificité élevée et son faible coût (3). Cette technique est de moins en moins utilisée et tend à être remplacée par d'autres colorations afin d'améliorer la sensibilité et de réduire le temps de lecture des frottis (4). La coloration à l'auramine (AUR) a bénéficié de progrès technologiques en faisant recourir à un microscope à fluorescence avec des lampes à diodes électroluminescentes (LED) comme alternative à la lampe classique à vapeur de mercure (5). Dans ce contexte, nous avons mené cette étude dont l'objectif était d'évaluer l'apport de la coloration à l'AUR par rapport à la coloration de ZN dans le diagnostic de la TB.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Prélèvements

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au laboratoire régional d'hygiène de Sfax sur une période de 3 ans allant du 1^{er} juillet 2013 au 31 juillet 2016. L'étude a inclus tous les prélèvements d'origine pulmonaire et extra-pulmonaire ayant bénéficié de la coloration de ZN et celle à l'AUR (n=4583). Les prélèvements reçus provenaient de patients suivis dans les services cliniques

des centres hospitaliers universitaires (CHU) de Sfax (Hédi Chaker et Habib Bourguiba), des autres CHU (Sousse et Mahdia), des hôpitaux régionaux (Tataouine, Médenine, Gabes et Sidi Bouzid) et de médecins de libre pratique.

Traitement des prélèvements

Tous les prélèvements d'origine pulmonaire (autres que les crachats) et extra-pulmonaire ont bénéficié d'une coloration ZN et d'une coloration à l'AUR (Double coloration). Seuls les crachats provenant de services cliniques dans lesquels l'incidence de la TB est élevée (service de pneumologie ou service de maladies infectieuses) ou provenant de CHU ou hôpitaux régionaux hors gouvernorat de Sfax (Tataouine, Médenine, Gabès, Sidi Bouzid, Sousse et Mahdia) ont eu une double coloration. Les prélèvements d'origine extra-pulmonaire comprenaient les liquides de ponctions (liquide pleural, liquide d'ascite, liquide céphalo-rachidien (LCR), liquide articulaire, liquide péricardique, liquide péritonéal, moelle osseuse et liquide amniotique), les tissus (ponction ou biopsie ganglionnaire, biopsie disco-vertébrale, biopsie vésicale...), l'urine et le sang.

Lors de la réception, l'aspect macroscopique de ces prélèvements a été noté (clair, purulent, muco-purulent, hématisé). Pour chaque échantillon, deux frottis ont été confectionnés sous un poste de sécurité microbiologique. Tous les prélèvements tissulaires (biopsies ou ponctions) ont bénéficié d'un broyage dans un mortier stérile en respectant les conditions rigoureuses d'asepsie. La lecture a été faite selon l'échelle de Ridley pour la coloration de ZN. La lecture des frottis colorés à l'AUR était semi-quantitative et exprimée en nombre de croix. Les codes de lecture des deux colorations sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Code de lecture des frottis colorés par la méthode de Ziehl-Neelsen (Echelle de Ridley) et ceux colorés par la méthode à l'Auramine

Nombre de BAAR ZN	MF AUR (*25)	MF AUR (*40)	Résultat
Pas de BAAR pour 100 champs	Pas de BAAR dans la lame	Pas de BAAR dans la lame	Négative
1 à 9 BAAR pour 100 champs	1 à 29 BAAAR par lame	1 à 19 BAAR par lame	Nombre exact De BAAR
10 à 99 BAAR pour 100 champs	30 à 299 BAAR par lame	20 à 199 BAAR par lame	+
1 à 10 BAAR par champ	10 à 100 BAAR par champ	5 à 50 BAAR par champ	++
Plus de 10 BAAR par champ	Plus de 100 BAAR par champ	Plus de 50 BAAR par champ	+++

BAAR: bacille acido-alcool-résistant; MF: microscope à fluorescence; ZN : Ziehl-Neelson ; AUR: auramine.

Pour les échantillons d'origine pulmonaire, après décontamination selon la méthode de Pétroff, le culot a été ensemencé sur deux tubes Lowenstein Jensen (LJ). Quant aux prélèvements d'origine extra-pulmonaire, avant la décontamination, 200 µl de l'échantillon ont été ensemencés sur deux tubes LJ et un tube Coletsos. Après la décontamination par le kit Myco-prep[®], le culot de centrifugation a été ensemencé sur deux tubes LJ, un tube Coletsos et un tube MGIT 960. La lecture a été faite quotidiennement durant la première semaine afin d'éliminer les cultures contaminées puis de façon hebdomadaire pendant 2 mois pour les prélèvements pulmonaires et 3 mois pour les prélèvements extra-pulmonaires. Le milieu liquide MGIT 960 a été incubé à 37°C dans l'automate BACTEC MGIT pendant 42 jours. La lecture a été automatique et se faisait toutes les heures par comparaison à un calibrateur.

Une *Polymerase Chain Reaction* (PCR) GeneXpert[®] MTB/RIF a été faite devant toute suspicion clinique d'une TB ou d'une résistance aux antituberculeux et les résultats ont été exploités dans cette étude.

Acquisition et analyses des données

La base de données a été élaborée en utilisant le logiciel Excel dans sa version 2007. La génération des paramètres statistiques a été réalisée moyennant le logiciel Epi Info[™] version 7. Pour l'analyse statistique, le test Mac Nemar a été utilisé. Il consiste en un test Khi-deux (χ^2) pour échantillons appariés. Les paramètres statistiques (sensibilité, spécificité, VPN et VPP) ont été calculés par rapport à une méthode de référence (la culture puis la PCR). Une valeur prédéterminée de $p < 0,05$ a été considérée statistiquement significative pour l'ensemble de ces tests.

RÉSULTATS

1. Présentation des échantillons

Répartition des prélèvements selon la nature

Durant la période d'étude, un total de 4583 prélèvements pulmonaires et extra-pulmonaires a été examiné par la méthode de ZN et l'AUR. Les prélèvements pulmonaires étaient majoritaires ($n=2802$; 61,1%) et prédominaient par les prélèvements sous forme de crachat (43,9%).

Répartition des prélèvements par année

Durant la période d'étude, un total de 38892 prélèvements d'origine pulmonaire et extra-pulmonaire a été examiné au sein du laboratoire régional d'hygiène de Sfax. Seulement 4583 frottis ont été examinés à l'AUR soit un taux de 11,8%.

Le nombre d'échantillons ayant bénéficié d'une coloration à l'AUR a été multiplié par 4 au fur et à mesure des années passant de 6,3% (366/5826) durant le deuxième semestre de 2013 à 26,9% (2274/8440) durant les 7 premiers mois de l'année 2016.

2. Comparaison de la coloration à l'auramine par rapport à la coloration de Ziehl-Neelsen

Parmi 4583 échantillons ayant bénéficié d'une double coloration, 301 prélèvements se sont révélés positifs à l'examen direct par la coloration à l'AUR soit 6,6% et 228 échantillons étaient positifs par la coloration de ZN soit 5%. La comparaison des deux techniques de coloration a montré un taux de concordance de 97,7% ($n=4478$ cas).

3. Comparaison des deux colorations selon la nature du prélèvement

La coloration à l'AUR a permis un gain de sensibilité par rapport à ZN de 1,1% pour les prélèvements d'origine pulmonaire et de 1% pour les prélèvements d'origine extra-pulmonaire. Le gain en taux de positivité était statistiquement significatif aussi bien pour les prélèvements d'origine pulmonaire et extra-pulmonaire ($p < 0,00001$). Il était particulièrement significatif pour les crachats ($p < 0,0001$) et les prélèvements ganglionnaires ($p=0,003$). Le taux de positivité était plus élevé par la coloration à l'AUR pour tous les échantillons d'origine pulmonaire à l'exception du LBA ainsi que certains prélèvements d'origine extra-pulmonaire (liquide pleural, échantillons ganglionnaires, abcès). Seulement un prélèvement d'abcès de psoas ($n=1$) était positif avec la coloration de ZN mais négatif avec celle à l'AUR. Les deux méthodes ont montré le même taux de positivité pour le reste des échantillons (Tableau 2).

4. Comparaison des deux colorations selon la charge bacillaire

La coloration à l'AUR s'est avérée plus sensible que celle de ZN pour la détection de cas paucibacillaire (PB) et multi-bacillaire (MB). Le taux de frottis positifs à l'AUR était 1,2 fois plus élevé que celui trouvé avec ZN pour les prélèvements PB (4,1% versus 3,4%) alors qu'il était presque le double ($\times 1,9$) pour les cas MB (2,5% versus 1,3%). Parmi les prélèvements positifs par les deux méthodes, 151 étaient concordants dans la charge bacillaire soit 71,2% des cas. Une discordance a été notée pour 61 échantillons soit 28,8% des cas (Tableau 3). L'écart observé entre l'AUR et ZN était surtout élevé pour les formes PB présentant une très faible charge bacillaire (nombre exact de BAAR) (97 versus 27 soit un rapport de 3,5). Cet écart est moins élevé pour les prélèvements présentant un nombre de croix ≥ 1 (204 versus 201 soit un rapport de 1,01) (Tableau 4).

5. Evaluation de Ziehl-Neelsen et de l'auramine par rapport à la culture

Trente et un échantillons ont été exclus de notre étude à cause de la contamination de la culture sur tous les milieux utilisés. La culture a été positive dans 399 échantillons soit un taux de positivité de 8,8%. Ce taux est significativement supérieur à celui de l'ED ($p < 0,0001$). Parmi les 399 échantillons positifs à la cul-

Tableau 2 : Comparaison de la coloration à l'Auramine par rapport à celle de Ziehl-Neelsen selon la nature de prélèvement

	Nature du prélèvement (P)		Nombre total	Nombre de P AUR : pos ZN :	Nombre de P AUR : neg ZN: neg : pos	Nombre de P AUR : pos ZN : neg (%)	Nombre de P ZN : pos AUR ; neg	P
Prélèvements d'origine pulmonaire	Crachats		2010	170 (8,5)	1773 (8,6)	58 (2,9)	9 (0,4)	<0,0001
	Liquide bronchique		675	16 (2,4)	655 (97)	3 (0,4)	1	0,3
	Tubage gastrique		62	0	58 (93,5)	4 (6,4)	0	0,0625
	LBA		38	1 (2,6)	37 (97,7)	0	0	0,3
	PTD		17	0	16 (94,1)	1 (5,9)	0	0,479
	Total		2802	187 (6,7)	2539 (90,6)	66 (2,4)	10 (0,3)	<0,0001
Prélèvements d'origine extra-pulmonaire	Liquides de ponctions ^a		1157	10 (0,8)	1139 (98,4)	6 (0,5)	2 (0,17)	-
	P. ganglionnaire	Ponction	230	8 (3,5)	213 (92,6)	7 (3)	2 (0,9)	0,0898
		Biopsie	145	5 (3,5)	131 (90,3)	8 (5,5)	1 (0,7)	0,015
		Total	375	12	344	15	3	0,003
	Tissus ^b		70	1 (1,4)	69 (98,6)	0	0	0,317
	Abcès		52	1 (1,9)	49 (94,2)	2 (3,8)	0	0,25
	Os	Ponction	38	0	38 (100)	0	0	0,317
		Abcès de psoas	14	0	13 (92,9)	0	1 (7,1)	-
	Urine		31	0	31 (100)	0	0	-
	Moelle osseuse		25	0	25 (100)	0	0	-
	Autres ^c		19	0	19 (100)	0	0	-
	Total		1781	25 (1,4)	1727 (97)	23 (1,3)	6 (0,3)	0,001
	Total			4583	212 (4,6)	4266	89 (1,94)	16 (0,3)

P : prélèvement, Neg: négative, Pos: positifs, AUR: auramine, ZN: Ziehl-Neelsen, LBA: Lavage broncho-alvéolaire, PTD: prélèvement trachéo-distal, LCR: Liquide Céphalo-rachidien.

^a Liquides de ponctions incluent liquide pleural (n=421), LCR (n=343), liquide d'ascite (n=132), pus (131), liquide articulaire (n=93), liquide péricardique (n=34) et liquide péritonéal (n=3).

^b Tissus: incluent les biopsies et les ponctions des tissus autres que ganglionnaires

^c Autres: incluent le liquide amniotique, le sang, la sécrétion mammaire, le prélèvement vaginal et le sperme.

ture, 155 frottis étaient positifs par les deux méthodes de coloration et 44 frottis étaient positifs à l'AUR seulement soit quatre fois le nombre de positifs avec ZN (n= 10) (Tableau 5).

L'évaluation globale de la coloration à l'AUR et celle de ZN par rapport à la culture a montré une concordance

égale à 93,5%. Un gain de sensibilité de 8 % a été noté pour la coloration à l'AUR (49,5% versus 41,4%). La coloration à l'AUR s'est révélée significativement plus sensible que ZN par rapport à la culture (p<0,001) (Figure1).

Tableau 3: Comparaison des deux colorations selon la charge bacillaire

ZN	AUR	NEG(%)	PB(%)	MB(%)	Total (%)	p
NEG(%)		4266(93)	76(1,6)	13(2,8)	4365(95,3)	0.0015
PB(%)		14(0,3)	97(2,1)	46(1)	157(3,4)	
MB(%)		2(0,04)	15(0,03)	54(1,1)	61(1,3)	
Total (%)		4282(93,4)	188(4,1)	113(2,5)	4583(100)	

NEG : négatif, BAAR : bacilles acido-alcoolo-résistants, MB : multi-bacillaire, PB : pauci-bacillaire, AUR : auramine, ZN : Ziehl-Neelson

Tableau 4: Comparaison de Ziehl-Neelson et de l'auramine selon le nombre de croix

ZN	AUR	NEG	Nombre exact de BAAR	+	++	+++	Total
NEG		4266	57	19	10	3	4355
Nombre exact de BAAR		8	11	7	1	0	27
+		26	28	51	30	15	130
++		1	1	11	21	15	49
+++		1	0	3	5	13	22
Total		4282	97	91	67	46	4583

NEG : négatif, BAAR : bacilles acido-alcoolo-résistants, AUR : auramine, ZN : Ziehl-Neelson

Tableau 5: Comparaison des deux méthodes de coloration par rapport à la culture

	N de P AUR : neg ZN : neg %	N de P AUR : pos ZN : pos %	N de P AUR : pos ZN : neg %	N de P ZN : pos AUR : neg <%	N total de P	P
Culture+	190 (47,6)	155(38,8)	44(11)	10(2,5)	399	<0,0001
Culture-	4053(97,6)	52(1,3)	42(1)	6(0,1)	4153	<0,0001
Total	4243(93,2)	207(4,5)	86(1,9)	16(0,4)	4552	<0,0001

P : prélèvements, N : nombre, AUR : auramine, ZN : Ziehl- Neelsen, pos : positif, neg : négatif, + : positive, - : négative.

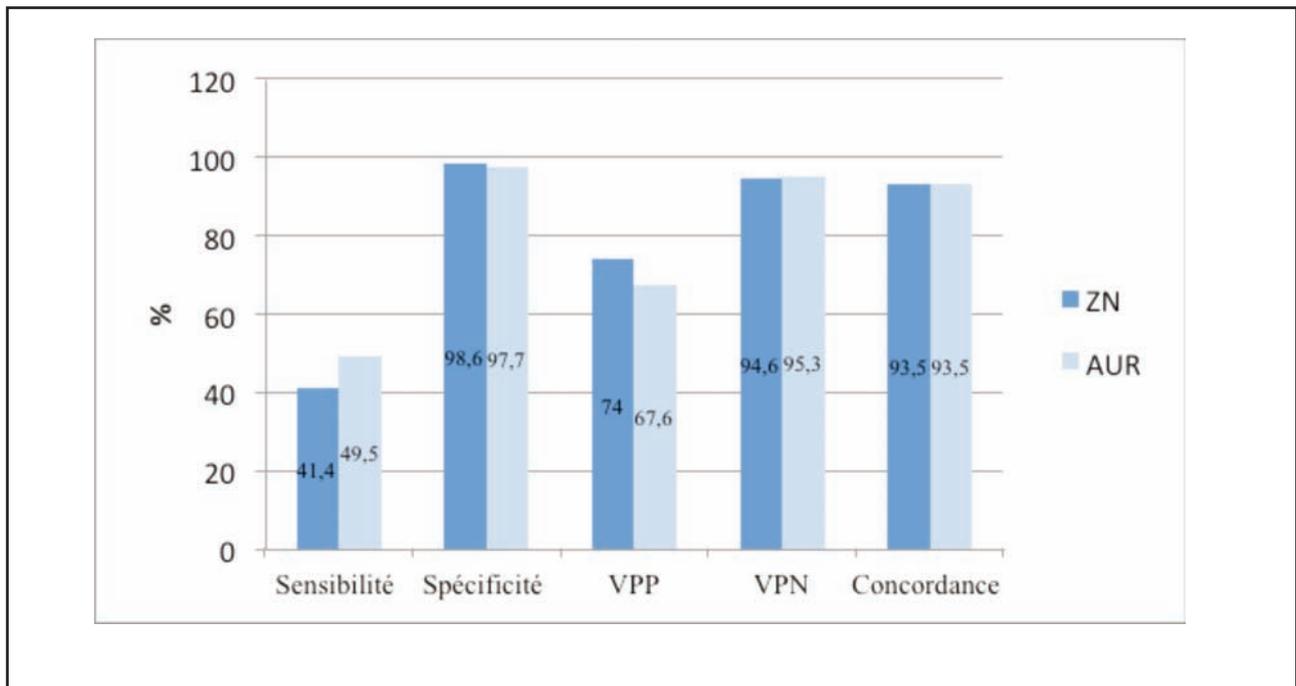


Figure 1 : Evaluation des performances de la coloration de Ziehl- Neelsen et de l'Auramine par rapport à la culture

6. Evaluation de la coloration de Ziehl-Neelsen et à l'auramine par rapport à la *Polymerase Chain Reaction GeneXpert®*

Sur 4583 échantillons, la PCR a été réalisée pour seulement 228 cas (175 prélèvements extra-pulmonaires et 53 prélèvements pulmonaires). Elle s'est révélée positive pour 50 prélèvements (21,9%) et négative pour le reste (n= 178, 78,1%). Une discordance entre l'ED et la PCR

a été notée dans 27 échantillons parmi lesquels 2 étaient positifs seulement à l'ED. La PCR a permis la détection de 25 cas négatifs avec l'AUR et ZN. Ce gain de positivité était non significatif (p= 0,3) (Tableau 6).

En considérant la PCR comme référence, on note un gain non significatif (p=0,17) de sensibilité de 8% pour la coloration à l'AUR (44 % pour l'AUR versus 36 % pour ZN) (Figure 2).

Tableau 6: Comparaison de l'examen direct par rapport à la *Polymerase Chain Reaction GeneXpert®*

ZN :neg	N de P AUR : neg ZN : pos %	N de P AUR : pos ZN : neg %	N de P AUR : pos AUR : neg %	N de P ZN : pos <%	N total de P	P
PCR+	25 (50)	15 (30)	7 (14)	3 (6)	50	0,3
PCR -	176 (98,9)	2 (1,1)	0	0	178	0,317
Total	201 (88,2)	17 (7,6)	7 (3,1)	3 (1,1)	228	0,3

P : prélèvement, N : nombre, AUR : auramine, ZN : Ziehl- Neelsen, pos : positif, neg : négatif, + : positif, - : négatif, PCR : *Polymerase Chain Reaction*.

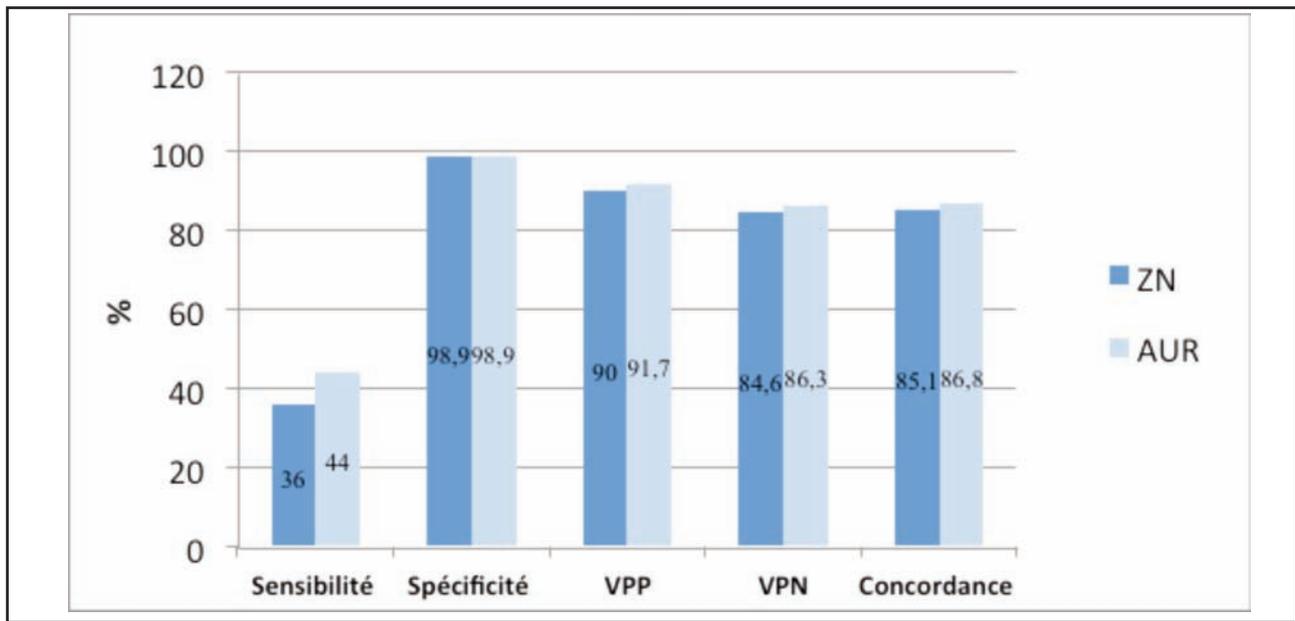


Figure 2 : Evaluation de la coloration de Ziehl-Neelsen et de l'Auramine par rapport à la *Polymerase Chain Reaction Gene Xpert*[®]

DISCUSSION

La TB reste un problème majeur de santé malgré le développement d'antibiotiques actifs et les programmes nationaux de lutte contre ce fléau (7, 8). En Tunisie, l'endémicité de la TB est intermédiaire. La tuberculose peut se manifester sous différentes formes selon la localisation de l'infection. Après orientation par les signes cliniques et radiologiques, le diagnostic est basé dans un premier temps sur l'ED à la recherche de BAAR. C'est un outil de diagnostic simple, rapide, peu coûteux et qui présente une bonne spécificité surtout dans les pays à haute endémicité (9). Cependant, l'ED présente des limites. La recherche microscopique des BAAR nécessite une coloration au préalable. Les deux méthodes de coloration faites au laboratoire d'hygiène de Sfax sont celles à l'AUR et de ZN moyennant des microscopes à fluorescence et des microscopes optiques respectivement.

Par rapport à la coloration de référence ZN, le nombre de faux négatifs à l'AUR était faible (16 cas) soit une proportion de 0,4%. Ces échantillons étaient sous forme de crachats, de LB et de prélèvements ganglionnaires. La concordance observée dans notre travail était de 97,7%. Le faible nombre de faux négatifs est expliqué par l'expérience du personnel examinant les lames avec une confirmation de la part d'un biologiste en cas de positivité. L'étude élaborée par Ba *et al* au laboratoire National de référence de la TB à Dakar était en cohérence avec nos résultats et a montré une concordance égale à 96,9% entre les deux méthodes de coloration (10). La microscopie à lampes LED est actuellement préconisée par l'OMS pour être évaluée et utilisée dans les

contextes de prévalence élevée de la tuberculose (11). Ces lampes s'adaptent à un microscope qui fonctionne à une lumière claire. Elles ne nécessitent donc pas le recours à une chambre noire comme pour les lampes à mercure ce qui permet de maximiser l'utilisation de l'espace au sein du laboratoire (12, 13). En plus, la coloration à l'AUR est simple et facile à réaliser avec des réactifs commercialisés qui nécessitent une seule étape de reconstitution. Elle permet de diminuer le temps de l'examen de 75% par rapport à la coloration au ZN, ce qui aurait d'énormes avantages pour les laboratoires surchargés et recevant un débit journalier important de prélèvements tel que le laboratoire d'hygiène de Sfax (Débit de 20 lames par technicien par jour, variable d'un jour à l'autre) (11). Conformément aux données de la littérature, la coloration à l'AUR a montré sa supériorité par rapport au ZN. Dans notre étude, le taux de positivité de l'AUR est supérieur ou égal à celui de la coloration de ZN quelle que soit la nature de l'échantillon (à l'exception de l'abcès psoas). L'AUR était significativement plus sensible que ZN pour les crachats et les prélèvements ganglionnaires ($p < 0,05$). La différence significative s'explique par le nombre relativement élevé de ces échantillons ($n = 2385$) qui représentent à eux seuls plus que la moitié de la totalité des cas ($n = 4583$). Dans notre étude, le gain en taux de positivité de l'AUR par rapport à ZN était plus marqué pour les prélèvements pulmonaires. Ce résultat est discordant avec celui publié dans les études de Krishna *et al* (14).

Toutes les études publiées s'accordent sur la performance de la coloration de l'AUR quelle que soit la charge

bacillaire. La sensibilité de l'AUR augmente surtout pour les formes PB. Ce gain en sensibilité apporte des avantages pour le diagnostic de la TB à faible charge bacillaire comme la TB infantile puisque l'expectoration volontaire est difficile chez les enfants moins de douze ans (15). C'est aussi le cas des prélèvements d'origine extra-pulmonaire provenant de cavités fermées et des frottis de personnes co-infectées avec le VIH. Dans notre étude, le taux de frottis PB positifs à l'AUR était plus élevé que celui trouvé avec ZN (4,1% versus 3,4%). Pour les formes MB, ce taux était nettement supérieur pour les frottis colorés à l'AUR (2,5% versus 1,3%). Nos résultats étaient en accord avec les données de la littérature (13, 16). Dans notre série, le taux de frottis positifs à l'AUR ayant un nombre exact de BAAR représentait 3,5 fois plus que celui obtenu avec ZN. La différence en taux de positivité de l'AUR par rapport à ZN était non significative pour les prélèvements présentant un nombre de croix supérieur ou égal à 1 avec un rapport de 1,01. Ceci s'accorde avec les résultats trouvés par Ba *et al.*, qui ont observé que l'écart entre le taux de positivité trouvé avec les deux colorations était faible pour les formes MB présentant au moins 10 bacilles pour 100 champs et particulièrement prononcé dans les cas à très faible charge bacillaire (un à trois bacilles par 100 champs) (10).

La culture reste la méthode de référence pour le diagnostic de certitude de la TB. Elle présente une haute sensibilité mais le délai d'obtention des résultats est long (11). En considérant la culture comme technique de référence, nos résultats montrent que le MF était significativement plus sensible que la microscopie optique ZN (49,5% versus 41,5%), alors que la spécificité et la VPN des deux méthodes étaient comparables. Ces résultats sont en cohérence avec les données de la littérature (10, 11, 17-20). En effet, la majorité des études comparant les deux colorations par rapport à la culture s'accordent sur le gain en sensibilité de la coloration à l'AUR par rapport à ZN aussi bien pour les prélèvements d'origine pulmonaire qu'extra-pulmonaire. Le gain en sensibilité de l'AUR par rapport à ZN varie de 0,12% à 31,38%. Dans certaines études, le gain en sensibilité s'accompagne d'une perte de spécificité (17, 21, 22). Dans d'autres, la spécificité est similaire pour les deux techniques (10, 11, 18, 19, 23-27). La perte de spécificité s'explique par le fait que les éléments inorganiques peu-

vent incorporer le colorant AUR et émettre une fluorescence comme les BAAR d'où l'induction à l'erreur (13). La PCR GeneXpert® a été approuvée par l'OMS comme un test de première intention pour le diagnostic de la TB pulmonaire, extra-pulmonaire et pédiatrique (11, 28). Ce test est en effet très fiable et permettra de faire des progrès considérables dans la détection précoce des cas de tuberculose et de tuberculose pharmacorésistante (29). De plus, il a montré son efficacité pour la détection des cas de TB chez la population co-infectée avec le VIH (30).

En considérant la PCR comme méthode de référence, notre étude montre un gain non significatif en sensibilité de l'AUR par rapport à ZN de 8% (44% versus 36%). Dans certaines études, une meilleure sensibilité de l'AUR a été notée (31, 32). La spécificité est bonne avec un taux de 98,9% pour les deux colorations. En comparaison avec l'examen microscopique, la sensibilité de la PCR est excellente en cas d'ED positif (100%). Elle est moins bonne en cas de négativité de l'ED (60 à 75%). Pour les prélèvements d'origine extra-pulmonaire, elle est encore plus faible (50 à 60%) (9). L'ED et la PCR constituent tous les deux des méthodes de diagnostic rapide de la TB. L'ED s'est révélé positif pour deux échantillons dont la PCR était négative chez une patiente sous traitement antituberculeux. Ce résultat peut être expliqué par la faible quantité de bactéries présentes dans les échantillons à caractère PB (31). Une autre hypothèse suggère que les faux négatifs sont dus à la présence d'inhibiteurs détectés dans les échantillons de tissus surtout. Chakravorty *et al.*, ont précisé que les variations de sensibilité de la PCR sont expliquées par le fait que l'extraction de l'ADN de certains échantillons tels que les ganglions lymphatiques est difficile. Elle entraîne donc une distribution non homogène de bacilles dans le spécimen d'où les résultats discordants par les différentes méthodes de diagnostic (33).

CONCLUSION

La microscopie à fluorescence à lampes LED s'est montrée plus sensible et aussi spécifique que la microscopie conventionnelle. La coloration à l'AUR a permis un gain considérable en temps de lecture. La généralisation de cette méthode dans notre laboratoire permettra d'améliorer les performances diagnostiques ce qui a un impact positif sur la prise en charge des patients.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Mejri I, Ben Saad S, Daghfous H, Ben Khelifa M, Tritar F. Facteurs de risque de tuberculose pulmonaire étendue. *Rev Mal Respir.* 2016;33:A148.
2. Caruba GC, Martinez V, Populairea FD. Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie. *Rev Med Int.* 2014;35:794-800.
3. Ninet B, Lombard PR, Schrenzel J, Janssens JP. Nouveaux tests pour le diagnostic de la tuberculose. *Rev Mal Respir.* 2011;28:823-33.
4. Loch C. La tuberculose, une histoire toujours d'actualité. *Med Sci.* 2016;32:535-6.
5. Rylance J, Pai M, Lienhardt C, Garner P. Priorities for tuberculosis research: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2010;10(12):886-892. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70201-2.
6. Mboup S, Gershy-Damet GM, Kane CT, Bélec L. In :

Biologie appliquée de l'infection à VIH et de ses comorbidités en Afrique. France: John LibbeyEurotext; 2015.

7. Cambanis A, Ramsay A, Wirkom V, Tata E, Cuevas LE. Investing time in microscopy: an opportunity to optimize smear-based case detection of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007;11:40-45.

8. Ajmi TH, Tarmiz H, Bougmiza I, Gataa R, Knani H, Mitraoui A. Profil épidémiologique de la tuberculose dans la région sanitaire de Sousse de 1995 à 2005. *RevTun Infect.* 2010;4:18-22.

9. Groupe de travail du conseil supérieur d'hygiène publique, France. Diagnostic clinique et bactériologique de la tuberculose. *Rev Mal Respir.*2003;20:741.

10. Ba F, Rieder HL. A comparison of fluorescence microscopy with the Ziehl-Neelsen technique in the examination of sputum for acid fast bacilli. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999;3(12):1101-1105.

11. Gulati H, Mawlong M, Agarwal A, Ranee K. Comparative evaluation of clinical, cytological and microbiological profile in abdominal vs. cervical lymph nodal tuberculosis with special emphasis on utility of Auramine-O staining. *J Cytol.* 2021;38(4):191.

12. Minion J, Pai M, Ramsay A, Menzies D, Greenaway C. Comparison of LED and conventional fluorescence microscopy for detection of acid fast bacilli in a low-incidence setting. *PLoS One.* 2011;6:e22495.

13. Steingart KR, Henry M, Ng V, Hopewell PC, Ramsay A, Cunningham J, et al. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2006;6:570-580.

14. Krishna M, Kumar A, Dayal S, Chaturvedi V. Determination of fluorescent stain and Ziehl-Neelsen stain for the demonstration of acid fast bacilli in cytological specimens. *Int J Res Med Sci.*2015;3:3749-3752.

15. Delacourt C. Particularités de la tuberculose chez l'enfant. *Rev Mal Respir.*2011;28:529-541.

16. Ulukanligil M, Aslan G, Tasci S.A comparative study on the different staining methods and number of specimens for the detection of acid fast bacilli. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2000;95:855-858.

17. Ibrahim AO, Elrayah E, Gameel F. LED fluorescent microscope in laboratory diagnosis of tuberculosis. *Rawal Med J.*2017;42:396-399.

18. BhallaM, SidiqZ, SharmaPP, SinghalR, Myneedu VP, Sarin R. Performance of light-emitting diode fluorescence microscope for diagnosis of tuberculosis. *Int J Mycobacteriol.* 2013;2:174-178.

19. Mistry Y, Rajdev S, Mullan S. Comparative study of Z N staining vs. fluochrome staining and impact of sample processing on diagnosis of tuberculosis from various clinical samples. *Adv Microbiol.* 2016;6:953-958.

20. KivihyaNdugga LE, Van Cleeff MR, Githui WA, Nganga LW, KibugaDK, Odhiambo JA, et al. Comparaison complète de l'examen microscopique par Ziehl-Neelsen et par fluorescence pour le diagnostic de la tuberculose dans un contexte urbain à faibles ressources. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;7:1163-71.

21. Rasool G, Siraj M, Naseem N, Anjum S, Lateef W, Nagi A. Detection of acid fast bacilli in tuberculous

lymph node tissue and touch preparations: A comparative study. *J Tuberc Res.* 2017;5:168-177.

22. Munot PP, Mhapuskar AA, Ganvir SM, Hazarey VK, Mhapuskar MA, Kulkarni D. Detection of Acid Fast Bacilli in Saliva using Papanicolaou Stain Induced Fluorescence Method Versus Fluorochrome Staining: An Evaluative Study. *J Int Oral Health.* 2015; 7(7):115-120. PMID: 26229384; PMCID: PMC4513763..

23. Chhina D, Gupta R, Chawla A. Comparison of Ziehl-Neelsen (ZN) and Auramine Phenol (AP) staining method to detect acid-fast bacilli in sputum smear. *Int J ResHealth Sci.*2018;6:1-5.

24. Rathod UD, Joshi A, Turbadkar S, Hirani N, Chawdhary A. Different methods of staining to optimize smear microscopy for diagnosis of pulmonary and extra pulmonary tuberculosis. *Indian J Microbiol Res.*2016;3:322-328.

25. Lawrence, Madhumita Debbarma M, Baveja C. P, Kumar S, Khanna A, Joseph Sapriina J. Comparative evaluation of fluorescent staining with Ziehl-Neelsen and Kinyoun staining in the diagnosis of clinically suspected cases of pulmonary tuberculosis. *International Journal of Contemporary Medical Research* 2016;3(7):1970-1974.

26. Noori MY, Ali F, Ali Z, Sharafat S. Comparison of Ziehl-Neelsen microscopy with fluorescent microscopy for tuberculosis diagnosis: an insight from a limited resource high burden setting. *J Jayub Med Coll Abbott abad.* 2017; 29(4):577-579. PMID: 29330981.

27. Ziaee M, Namaei M, Khazaei M, Azarkar G. Comparison of the value of twodifferentsputumstaining for diagnosis of acidfastbacilli. *Iran J ClinInf Dis.* 2008;3:99-102.

28. World Health Organization. Tuberculosis diagnostic technology and scape. 5th edition. Geneva: WHO; 2017.

29. World Health Organization. Tuberculose. [https:// www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis); 2021.

30. Faria MGBF, Andrade RLP, Camillo AJG, Leite KFS, Saita NM, Bollela VR, et al. Efetividade do GeneXpert® no diagnóstico da tuberculose em pessoas que vivem com HIV/aids. *Rev Saude Publica.* 2021;55:89. <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2021055003125>

31. Gulati H, Mawlong M, Agarwal A, Ranee K. Comparative evaluation of clinical, cytological and microbiological profile in abdominal vs. cervicallymph nodal tuberculosis with special emphasis on utility of Auramine-O staining. *J Cytol.* 2021;38(4):191.

32. Dzodanu EG, Afrifa J, Acheampong DO, Dadzie I. Diagnostic Yield of Fluorescence and Ziehl-Neelsen Staining Techniques in the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis: A Comparative Study in a District Health Facility. *Tuberc Res Treat.* 2019 Apr 10;2019:1-6.

33. Chakravorty S, Sen M, Tyagi J. Diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis by smear, culture and PCR using universal sample processing technology. *J Clin Microbiol.* 2005;43:4357-4362.