

Contrôle de qualité inter-laboratoires centraux pour le diagnostic microscopique de la tuberculose à Madagascar en 2000

Ramarokoto H^{1,2}, Rasolonalona T², Rakotoarisaonina A¹, Rasolofo Razanamparany V²,
Cauchoix B³, Chanteau S², Ralamboson M³, Rakotondramarina D³

RESUME : Depuis juin 1997, un contrôle de qualité trimestriel des examens de frottis d'expectorations pour le diagnostic de la tuberculose, basé sur le système de relecture des lames en double aveugle, entre les 2 laboratoires centraux du centre national de référence des mycobactéries à Madagascar (laboratoires des mycobactéries de l'Institut Pasteur de Madagascar et de l'Institut d'Hygiène Sociale) a été mis en place.

En 2000, 4 contrôles ont été effectués au cours desquels 240 lames de dépistage, colorées à l'auramine, tirées de façon aléatoire de l'IPM et de l'IHS et 80 lames de suivi, colorées selon la méthode de Ziehl-Neelsen provenant uniquement de l'IHS, ont été contrôlées.

Tous les résultats ont été concordants pour les lames de dépistage. Pour les lames de suivi, 2 faux négatifs faibles ont été observés. Ces résultats sont satisfaisants car le taux de fausse lecture a été bien au-dessous du seuil tolérable de 5% et aucun faux négatif ni positif élevé n'a été trouvé.

Le maintien de ce contrôle de qualité inter-laboratoires est indispensable pour assurer la fiabilité de leurs résultats et des contrôles effectués pour les laboratoires périphériques.

Mots-clés : Contrôle de qualité - Microscopie - Tuberculose - Madagascar.

ABSTRACT : "Tuberculosis diagnosis by microscopy in Madagascar : quality control comparison of the two central laboratories" : Since June 1997, a quarterly quality control of sputum smear exam for the tubercle diagnosis, depending on double reading of slides, was implemented between both central laboratories of the Mycobacteria National Reference Centre in Madagascar (mycobacteria laboratories of Institut Pasteur Madagascar [IPM] and Institut Hygiène Sociale [IHS] - Health Ministry).

In 2000, four controls were done, in the course of which 240 slides were coloured by auramine, coming both from IPM and IHS, and another 80 slides from IHS were coloured by Ziehl-Neelsen. All the results were in agreement for the samples stained with auramine, while two false negatives were found for the samples stained with Ziehl-Neelsen.

The maintenance of this quality control between the two laboratories is necessary to insure the reliability of their results and the controls that they make for the peripheral laboratories.

Key-words : Quality control - Microscopy- Tuberculosis- Madagascar.

INTRODUCTION

Le Programme National Tuberculose (PNT) de Madagascar est soutenu par le Centre national de référence des mycobactéries, lequel est constitué par l'association de deux laboratoires centraux : le laboratoire des mycobactéries de l'Institut d'Hygiène Sociale (IHS) du Ministère de la santé et celui de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Le premier est la référence pour la microscopie, les formations, les supervisions et le contrôle de qualité des laboratoires périphériques. Le second est la référence pour la culture, les identifications et les antibiogrammes. Depuis 1997, un contrôle

de qualité trimestriel a été instauré entre les deux laboratoires à la suite de nombreux résultats discordants [1].

Les résultats obtenus en 2000 sont rapportés dans cette étude.

METHODES

Au cours de l'année, 5 445 examens microscopiques ont été réalisés à l'IPM et 16 000 à l'IHS. Toutes les lames lues sont nettoyées au xylène et conservées dans des boîtes séparées pour les positives et les négatives. Deux types de lames sont contrôlés : les lames de dépistage effectuées pour les nouveaux malades suspects de tuberculose et les lames de contrôle effectuées pour le suivi des malades sous traitement antituberculeux (aux 2^{ème}, 5^{ème} et fin 7^{ème} mois de traitement).

¹ Institut d'Hygiène Sociale, 101 Antananarivo - Madagascar

² Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274 - 101 Antananarivo - Madagascar.

³ Programme National Tuberculose, Direction de la Lutte contre les Maladies Transmissibles (DLMT), Ministère Santé, BP 460 - 101 Antananarivo - Madagascar.

Les lames de dépistage sont colorées à l'auramine selon la méthode de double coloration fluorescente de Degommier et examinées au microscope à fluorescence à l'objectif x25 dans les deux laboratoires [2].

Les lames de contrôle, effectuées seulement à l'IHS sont colorées selon la méthode de Ziehl-Neelsen.

L'expression des résultats est la suivante [3] :

• **pour la coloration fluorescente, lecture à l'objectif x25**

- absence de BAAR sur la lame : négatif ou 0
- 1 à 10 BAAR : douteux
- moins de 1 BAAR par champ mais plus de 10 sur la lame : 1+
- 1 à 9 BAAR par champ : 2+
- 10 à 99 BAAR par champ : 3+
- plus de 100 BAAR par champ : 4+

• **pour la coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen, lecture à l'objectif x100**

- pas de BAAR pour 300 champs : 0
- 4 à 9 BAAR pour 100 champs : nombre exact
- 10 à 99 BAAR pour 100 champs : 1+
- 1 à 10 BAAR par champ : 2+
- plus de 10 BAAR par champ : 3+

A la fin de chaque trimestre, le chef du laboratoire tire au hasard de chaque laboratoire, 15 lames positives et 15 lames négatives colorées à l'auramine, soit 120 lames par an. 10 lames positives et 10 lames négatives colorées selon la méthode de Ziehl-Neelsen sont tirées uniquement du laboratoire de l'IHS, soit 80 lames de contrôle par an.

Au total, 200 lames par an ont été contrôlées pour l'IHS.

Les lames provenant de l'IPM sont contrôlées en aveugle par un technicien du laboratoire de l'IHS et celles de l'IHS par un technicien de l'IPM. Les résultats sont rendus au chef du laboratoire qui fait la confrontation. En cas de discordance, les lames sont contre-contrôlées, toujours en aveugle par un deuxième niveau de contrôle, constitué par soit un chercheur de l'IPM soit un médecin du laboratoire de l'IHS [4].

Le chef du laboratoire fait ensuite la confrontation et rédige la rétro-information. Les techniciens des 2 laboratoires peuvent vérifier ensuite les lames discordantes et corriger leurs erreurs.

RESULTATS

Tableau I : Comparaison qualitative des lames colorées à l'auramine de l'IPM

	Contrôle (référence)		Total
	+	-	
+	60	0	60
-	0	60	60
Total	60	60	120

Tous les résultats ont été concordants.

Tableau II : Comparaison qualitative des lames colorées à l'auramine de l'IHS

	Contrôle (référence)		Total
	+	-	
+	60	0	60
-	0	60	60
Total	60	60	120

Tableau III : Comparaison qualitative des lames colorées au Ziehl-Neelsen de l'IHS

	Contrôle (référence)		Total
	+	-	
+	38	0	38
-	2	40	42
Total	40	40	60

Ces 2 résultats faux négatifs correspondaient respectivement à un malade positif à (2+) au 5^{ème} mois et à un autre positif à (1+) au 7^{ème} mois de traitement antituberculeux.

Tableau IV : Comparaison quantitative des résultats de l'IPM (lames colorées à l'auramine)

	Contrôle (références)						Total
	0	1-10	1+	2+	3+	4+	
	BAAR						
0	60	0	0	0	0	0	60
1+	0	4	18	3		1	26
2+	0	0	6	3	6	0	15
3+	0	0	0	2	9	2	13
4+	0	0	0	0	2	4	6
Total	60	4	24	8	17	7	120

94 lames (en caractères gras) ont été notées de la même façon, soit un taux de concordance de 78,3%.

Tableau V : Comparaison quantitative des résultats de l'IHS (lames colorées à l'auramine)

	Contrôle (références)						Total
	0	1-10	1+	2+	3+	4+	
	BAAR						
0	61	0	0	0	0	0	61
1+	0	0	5	3	4	0	12
2+	0	0	0	5	11	1	17
3+	0	0	0	2	21	5	28
4+	0	0	0	0	0	2	2
Total	61	0	5	10	36	8	120

94 lames ont été également notées de la même façon, soit un taux de concordance de 78,3%.

Tableau VI : Comparaison quantitative des résultats de l'IHS (lames colorées au Ziehl-Neelsen)

	Contrôle (références)					Total
	0	1-10	1+	2+	3+	
	BAAR					
0	35	1	1	1	0	38
1+	0	0	1	3	0	4
2+	0	0	6	16	5	27
3+	0	0	0	6	3	9
4+	0	0	0	0	2	2
Total	35	1	8	26	10	80

49 lames ont été notées de la même façon, soit un taux de concordance de 61,2%.

DISCUSSION

Le nombre de lames de dépistage examinées par chaque laboratoire a été ainsi de 60 lames négatives et 60 lames positives pour l'année. Ce qui correspond au nombre minimum de lames requis à vérifier pendant une année pour un centre [5]. Comme aucune discordance n'a été observée (tableaux I et II), on peut dire à 95% de chances qu'il n'y pas eu plus de 5% de faux négatifs dans les lames déclarées négatives par les 2 laboratoires. Aucun résultat faux positif n'a été non plus trouvé.

Pour les lames de contrôle effectuées à l'IHS, deux résultats faux négatifs ont été observés (tableau III). Après investigation, ces 2 lames correspondent à des malades en contrôle de 5^{ème} et 7^{ème} mois de traitement antituberculeux. Les erreurs étaient dues à une lecture superficielle et hâtive des lames.

Les taux de concordance dans l'appréciation des richesses bacillaires ont été les mêmes pour

les lames de dépistage des deux laboratoires, 78,3% (tableaux IV et V) et de 61,25% pour les lames de contrôle (tableau VI).

Ces discordances sont d'importance minime, car elles n'influent pas sur la décision thérapeutique à prendre pour le malade.

Le maintien de ce contrôle de qualité inter-laboratoires centraux est indispensable pour assurer la fiabilité des résultats des 2 laboratoires centraux, ainsi que des contrôles qu'ils effectuent pour les laboratoires périphériques.

REFERENCES

- 1- **Ramarokoto H, Rakotoarisaonina A, Rasolonavalona T, Rakotondramarina D, Cauchoix B, Rasolofo V, Chanteau S, Razafinimanana J.** Contrôle de qualité inter-laboratoires centraux pour le diagnostic de la tuberculose par microscopie à Madagascar en 1997. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1998; **64** : 34-36.
- 2- **Degommier J.** Nouvelle technique de coloration des bacilles tuberculeux pour la recherche en fluorescence. *Ann Inst Past* 1957; **92** : 692-694.
- 3- **David H, Lévy-Frébault V, Thorel MF.** Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie clinique. Paris : Institut Pasteur, 1989; 87 p. (Commission des Laboratoires de Référence et d'Expertise de l'Institut Pasteur).
- 4- **Van Deun A, Portaels F.** Limitations and requirements for quality control of sputum smear microscopy for acid-fast bacilli. *Int J Tuber Lung Dis* 1998; **9** : 756-765.
- 5- **Rieder H, Martin Chonde T, Myking H et al.** The Public Health service national Tuberculosis reference laboratory and the national Laboratory network : minimum requirements, role and operation in a low income country. Paris : International Union Against Tuberculosis and Lung disease, 1998; 110 p.