

Ministère de l'éducation nationale

République du Mali

Université de Bamako

Un peuple – Un But – Une Foi

Faculté de Médecine de Pharmacie
et d'Odonto Stomatologie

Année universitaire 2005/2006
Thèse N°

TITRE

Contrôle de qualité des examens microscopiques dans le diagnostic et le suivi de la tuberculose dans un système décentralisé au Mali : Cas des centres de santé de référence de Kayes et des communes II, III et VI du District de Bamako.

Thèse

Présentée et soutenue publiquement le...../...../ 2006

Devant la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie

Par

Mr Souleymane Sanogo

Pour le grade de Docteur en pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

JURY

Président

Pr. Ousmane Doumbia

Membres

Dr. Diallo Alima Naco

Dr. Souleymane Diallo

Directeur de thèse

Pr. Flabou Bougoudogo

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2005 - 2006**

ADMINISTRATION

DOYEN **MOUSSA TRAORE** – PROFESSEUR
1^e ASSESSEUR **MASSA SANOGO** – MAITRE DE CONFERENCE
2^{eme} ASSESSEUR **GANGALY DIALLO** – MAITRE DE CONFERENCE AGREGE
SECRETAIRE PRINCIPAL **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** – MAITRE DE CONFERENCE AGREGE
AGENT COMPTABLE **MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL** – CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar Sall	Orthopédie Traumatologie Secourisme
Mr Souleymane Sangaré	Pneumo- phtisiologie
Mr Yaya Fofana	Hématologie
Mr Mamadou L Traoré	Chirurgie Générale
Mr Balla Coulibaly	Pédiatrie
Mr Mamadou Dembélé	Chirurgie Générale
Mr Mamadou Koumare	Pharmacognosie
Mr Mohamed Touré	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum Diallo	Médecine interne
Mr Aly Guindo	Gastro – Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R & PAR GRADE

D.E.R CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim Koumare	Chirurgie Générale
Mr Sambou Soumare	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane Touré	Orthopédie – Traumatologie chef de

D.E.R

Mr Kalilou Ouattara	Urologie
Mr Amadou Dolo	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseni Ag Mohamed	O.R.L

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye Diallo	Ophthalmologie
Mr Djibril Sangaré	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader Traoré dit Diop	Chirurgie Générale
Mr Abdoulaye Diallo	Anesthésie Réanimation
Mr Gangaly Diallo	Chirurgie viscérale
Mr Mamadou Traoré	Gynéco Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme Sy Aida Sow	Gynéco Obstétrique
Mr Salif Diakité	Gynéco Obstétrique
Mr Filifing Sissoko	Chirurgie Générale
Mr Sékou Sidibé	Orthopédie traumatologie
Mr Abdoulaye Diallo	Anesthésie Réanimation
Mr Tieman Coulibaly	Orthopédie Traumatologie
Mme Traoré J Thomas	Ophthalmologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme Diallo Fatimata S Diabaté	Gynéco Obstétrique
Mr Sadio Yena	Chirurgie générale et Thoracique

Mr Issa Diarra
Mr Youssouf Coulibaly
Mr Samba Karim Timbo
Mme Togola Fanta Konipo

Gynéco Obstétrique
Anesthésie Réanimation
O.R.L
O.R.L

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Dieneba Doumbia
Mr Mamadou L Diobana
Mr Nouhoum Ongoiba
Mr Zanafon Ouattara
Mr Zimogo Zié Sanogo
Mr Adama Sangaré
Mr Sanoussi Bamani
Mr Doulaye Sacko
Mr Ibrahim Alwata
Mr Lamine Traoré
Mr Mady Makalou
Mr Aly Témbély
Mr Niani Moukoro
Mr Tiemoko D Coulibaly
Mr Souleymane Togora
Mr Mohamed Keita

Anesthésie Réanimation
Stomatologie
Anatomie et Chirurgie générale
Urologie
Chirurgie Générale
Orthopédie Traumatologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Orthopédie Traumatologie
Ophtalmologie
Orthopédie Traumatologie
Urologie
Gynéco Obstétrique
Odontologie
Odontologie
O.R.L

D.E.R DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda Diallo
Mr Sinè Bayo
Mr Amadou Diallo
Mr Moussa Harama
Mr Ogobara Doumbo

Chimie Générale & Minérale
Anatomie Pathologie Histoembryologie
Biologie
Chimie Organique
Parasitologie Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert Dembélé
Mr Anatole Tounkara
Mr Amadou Touré
Mr Flabou Bougoudogo
Mr Magana Dolo

Chimie organique
Immunologie **Chef de D.E.R**
Histoembryologie
Bactériologie Virologie
Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M Cisse
Mr Abdourahamane S Maiga
Mr Adama Diarra
Mr Mamadou Kone
Mr Massa Sanogo
Mr Mahamadou Cisse
Mr Sékou F M Traoré
Mr Abdoulaye Dabo
Mr Ibrahim I Maiga

Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie
Chimie Analytique
Biologie
Entomologie Médicale
Malacologie Biologie Animale
Bactériologie Virologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdourahamane Tounkara
Mr Moussa Issa Diarra
Mr Kaourou Doucoure
Mr Bourema Kouriba
Mr Souleymane Diallo
Mr Cheik Bougabari Traoré
Mr Lassana Doumbia
Mr Mounirou Baby

Biochimie
Biophysique
Biologie
Immunologie
Bactériologie Virologie
Anatomie Pathologie
Chimie organique
Hématologie

Mr Mahamadou A Thera

Parasitologie

5. ASSISTANTS

Mr Mangara M Bagayogo

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Guimogo Dolo

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr A bdoulaye Touré

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Djibril Sangaré

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Mouctar Diallo

Biologie Parasitologie

Mr Bokary Y Sacko

Biochimie

D.E.R DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag Rhaly

Médecine Interne

Mr Mamadou K Touré

Cardiologie

Mr Mahamane Maiga

Néphrologie

Mr Baba Koumare

Psychiatrie **Chef de D.E.R**

Mr Moussa Traoré

Neurologie

Mr Issa Traoré

Radiologie

Mr Mamadou M Keita

Pédiatrie

Mr Hamar A Traoré

Médecine Interne

Mr Dapa Aly Diallo

Hématologie

Mr Moussa Y Maiga

Gastro – entérologie – Hépatologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani Sidibé

Pédiatrie

Mr Bah Keita

Pneumo – Phtisiologie

Mr Boubacar Diallo

Cardiologie

Mr Somita Keita

Dermato – Léprologie

Mr Abdel Kader Traoré

Médecine Interne

Mr Siaka Sidibé

Radiologie

Mr Mamadou Dembélé

Médecine Interne

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamady Kane

Radiologie

Mr Sahare Fongoro

Néphrologie

Mr Bakoroba Coulibaly

Psychiatrie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme Tatiana Keita

Pédiatrie

Mme Traoré Mariam Sylla

Pédiatrie

Mr Adama D Keita

Radiologie

Mme Sidibé Assa Traoré

Endocrinologie

Mme Habibatou Diawara

Dermatologie

5. ASSITANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou Diakité

Psychiatrie

Mr Bougouzie Sanogo

Gastro entérologie

Mr Kassoum Sanogo

Cardiologie

Mr Seydou Diakité

Cardiologie

Mr Mahamadou B Cisse

Pédiatrie

Mr Arouna Togora

psychiatrie

Mme Diarra Assetou Soucko

Médecine Interne

Mr Boubacar Togo

Pédiatrie

Mr Mahadou Touré

Radiologie

Mr Idrissa A Cisse	Dermatologie
Mr Mamadou B Diarra	Cardiologie
Mr Anselme Konate	Hépatogastro – Entérologie
Mr Moussa T Diarra	Hépatogastro – Entérologie
Mr Souleymane Diallo	Pneumologie
Mr Souleymane Coulibaly	Psychologie
Mr Daouda Minta Maladies	Infectieuses
Mr Soungalo Dao Maladies	Infectieuses
Mr Cheick Oumar Guindo	Neurologie

D.E.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki Cisse	Toxicologie
Mr Gaoussou Kanoute	Chimie analytique Chef de D.E.R

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane Doumbia	Pharmacie Chimique
Mr Drissa Diallo	Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boukassoum Haidara	Legislation
Mr Elimane Mariko	Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoit Koumare	Chimie Analytique
Mr Alou Keita	Galenique
Mr Ababacar I Maiga	Toxicologie
Mr Yaya Kane	Galenique

5. ASSISTANTS

Mme Rokia Sanogo	Pharmacognosie
Mr Saibou Maiga	Legislation
Mr Ousmane Koita	Parasitologie Moléculaire

D.E.R DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya Simaga	Santé Publique Chef de D.E.R
---------------------	-------------------------------------

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Moussa A Maiga	Santé Publique
-------------------	----------------

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sanoussi Konate	Santé Publique
--------------------	----------------

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G Touré	Santé Publique
Mr Adama Diawara	Santé Publique
Mr Hamadoun Sangho	Santé Publique
Mr Massambou Sacko	Santé Publique

Mr Alassane A Dicko

Sante Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba Diop

Anthropologie Médicale

Mr Seydou Doumbia

Epidémiologie

Mr Oumar Thiero

Biostatistique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'golo Diarra

Botanique

Mr Bouba Diarra

Bactériologie

Mr Salikou Sanogo

Physique

Mr Boubacar Kante

Galenique

Mr Souleymane Guindo

Gestion

Mme Dembélé Sira Diarra

Mathématique

Mr Modibo Diarra

Nutrition

Mme Maiga Fatoumata Sokona

Hygiène du Milieu

Mr Mahamadou Traoré

Génétique

Mr Yaya Coulibaly

Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr Doudou Ba

Bromatologie

Pr Babacar Faye

Pharmacodynamie

Pr Eric Pichard

Pathologie infectieuse

Pr Mounirou Ciss

Hydrologie

Pr Amadou Papa Diop

Biochimie

DEDICACES

DEDICACE

Je dédie ce travail

A ma mère bien aimée, Mme Sanogo Mariam Traoré, pour t'être toujours battue pour ces orphelins très tôt laissés entre tes mains. Puisse le bon Dieu te donner une longue vie pour profiter des fruits des arbres que tu a plantés.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENT

Je remercie ALLAH

Le tout puissant le miséricordieux, qui nous assiste depuis la naissance jusqu'à la mort toi qui par ta grâce m'a permis de réaliser ce travail

J'adresse mes remerciements a :

Mon père N'golo Sanogo qu'ALLAH le tout puissant t'accueil dans sa miséricorde.

Ma mère Mariam Traoré, chère maman les mots me manquent pour vous remercier. Vous ne m'a jamais abandonné une seconde, votre soutien et affection maternelle pour moi me valent l'honneur de vous remercier.

Mes frères et sœurs Oumar Sanogo, Aboubacar Sanogo, Adama Sanogo Mme Sanogo Fatoumata Sanogo, Mme Berthé Maminata Sanogo, Mme Sanogo Kadiatou Sanogo, Abibatou Sanogo et Awa Sanogo. Je vous dis affectueusement merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous serai infiniment reconnaissant. Je ne saurai vous apprécier à vos justes valeurs. Je vous demande de garder le sens que vous avez attribué à la fraternité.

Mes tantes Chata Traoré et Alimata Traoré. Je vous serai toujours reconnaissant pour tout ce que vous avez fait comme sacrifice pour ma cause, merci chères tantes.

Mes oncles Diakalia Traoré, Mamadou Konaté, Oumar Traoré, Saibou Traoré pour vos soutiens, disponibilités et encouragements.

Mr Amadou Diané

Monsieur vous n'avez jamais fait la différence entre vos frères et moi, vous m'avez toujours considéré comme un petit frère de lait, je vous remercie pour votre qualité exceptionnelle d'humanisme ; ce travail est le votre

Mr Mamadou Coulibaly

Mon cousin, grand frère et tuteur, bref mon tout, les qualificatifs me manquent pour te remercier, mais je prie le bon Dieu (ALLAH) le tout puissant de nous accorder longue vie, je remercie également ta femme Mme Coulibaly Mariam Berthé pour son humanisme.

Mon oncle Brahima Sanogo qui a élevé les enfants de son frère comme les siens, je te remercie pour avoir joué le rôle de père pour moi.

Mes amis Daouda Sanogo, Mohamed Traoré, Boubacar Dembélé, Drissa Coulibaly, Seydou Bamba. A chaque moment de la vie on fait des rencontres, celle avec vous a été l'un des plus beaux cadeaux de ma vie.

Mes chers amis je n'oublierai jamais tout ce que vous avez fait pour moi, vos encouragements, vos conseils ne m'ont fait que du bien. Je pris le bon Dieu le tout puissant qu'il nous donne longue vie et a nos enfants.

Mes amis et camarades de la FMPOS Yacouba Samaké, Ousmane Samaké, Younous Koné, Eve Tangara, Sibiry Samaké, Alassane Diamouténé, Boubacar Cissé dit De Gaulle pour les moments inoubliables vécus ensemble.

A la promotion (1998 – 2004) de la FMPOS.

Mes aînés Dr Diakalia Bamba Dr Amadou Dao Dr Amadou Sanogo Dr Noumouke Koné Dr Kassoum Sanogo pour vos conseils.

A mes maîtres du fondamental et du secondaire je me réserve de citer les noms pour ne pas oublier involontairement un nom, je vous remercie pour votre enseignement

Au corps professoral de la FMPOS. Pour votre enseignement scientifique de qualité, je suis fier d'être parmi vos apprenants. Trouvez dans ces propos toutes mes considérations.

A tout le personnel de l'INRSP

Au Pr. Flabou Bougoudogo, Dr Seydou Diarra, Mr. Tiéwary Dombia, (tonton Tié) Mr. Boubacar Traoré, Mr. Amadou Traoré, Mr. Alhousseini Maiga, Mr. Mamadou Diakité, Mme Sangaré Fanta Camara et tout le personnel du laboratoire de mycobactéries a l'INRSP.

A mes camarades thésard : mes cadets. Sékou Coulibaly, Setié Coulibaly, Tiemoko Kanté, Dominique Arama, Lamine Labasse Keita. Je n'oublierai en aucun moment le respect que vous avez eu pour moi en me considérant comme étant votre aîné, je vous serai toujours reconnaissant.

Je remercie tout le personnel de la clinique SALMADA à Sikasso, je remercie le personnel de la pharmacie TOUTCHOUMBE, de la pharmacie KENEYA SO et de la pharmacie la MALIENNE.

A mes amis et petits frères Aly Hadou Diallo et Boubacar Y Dembélé pour vos conseils, vos soutiens tant financiers que moraux au cours des études, je vous remercie sincèrement chers jeunes frères.

A mon grand frère aîné Mr Oumar Sanogo, il sera ingrat de ma part de ne pas te remercier cher grand frère, sans toi il serait difficile pour moi d'étudier, je suis reconnaissant pour tes faits.

Mr Sanogo je ne pourrai pas te remercier comme il le faut car ce que tu a fait et continu de faire pour moi est inestimable.

Ce travail est le tien car sans toi je ne pourrai jamais le réalisé.

A tous les agents des centres de santé de références de Kayes, des communes 2, 3 et 6 de Bamako.

A tous les tuberculeux, je vous souhaite meilleure santé.

A NOS MAITRES ET JUGES

Président du jury

Pr. Ousmane Doumbia, maître de conférence agrégé en pharmacie chimique responsable de l'enseignement de chimie thérapeutique à la FMPOS. Vous nous faites ce jour un grand honneur et beaucoup de plaisir en acceptant malgré vos multiples occupations, de présider notre jury.

Votre rigueur scientifique, votre sérieux dans le travail et votre disponibilité font de vous un maître exemplaire. Recevez à travers ces témoignages notre profonde reconnaissance.

A notre maître et juge :

Dr. Diallo Alima Naco, coordinatrice du Programme National de Lutte contre la Tuberculose.

Nous sommes touchés par votre simplicité et votre disponibilité, l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde reconnaissance.

A notre maître et juge :

Dr. Souleymane Diallo, assistant chef de clinique en pneumo-phtisiologie, chef service de la pneumo-phtisiologie de l'hôpital du point G.

Cher maître nous garderons de vous l'image d'un homme de science et un enseignant soucieux de la formation de ses élèves. Votre rigueur scientifique, votre amour pour le travail bien fait et votre disponibilité font de vous un maître respecté.

Nous vous prions d'accepter ici l'expression de notre profond respect et notre profonde gratitude.

A notre maître et directeur de thèse

Pr. Flabou Bougoudogo, maître de conférence agrégé en bactériologie virologie, responsable de l'enseignement de bactériologie et de virologie à la FMPOS, directeur de l'INRSP.

Cher maître nous vous remercions d'avoir nous confier ce travail et surtout de nous avoir aider dans sa réalisation. Votre connaissance scientifique, votre disponibilité permanente, votre rigueur scientifique, votre souci constant de la bonne formation de vos élèves et du travail bien fait font de vous un maître admirable.

Trouvez ici cher maître, l'expression de toute notre reconnaissance et de notre profond respect. Que le tout puissant vous accorde bonne santé et longévité

SOMMAIRES

Sommaire

	Pages
I Introduction	1 – 5
II Généralités	6
2.1 La tuberculose	6
2.1.1 Historique	6 – 8
2.1.2 Définition	8 – 9
2.1.3 Epidémiologie	9 – 12
2.1.4 Agent pathogène	12
2.1.4.1 Classification	12
2.1.4.2 Habitat	12
2.1.4.3 caractères bactériologiques	13
2.1.4.3.1 Morphologie	13
2.1.4.3.2 Caractères cultureux	13
2.1.4.4 Caractères biochimiques	13-14
2.1.4.5 Caractères antigéniques	14 – 15
2.1.4.6 Caractères immunologiques	15 – 16
2.1.4.7 La résistance aux antibiotiques antituberculeux	16
2.1.4.8 La transmission	17
2.2 Lutte contre la tuberculose	17
2.2.1 Le Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT)	17
2.2.1.1 Les objectifs du PNLT	18
2.2.1.2 Organisation du PNLT	18 – 20
2.2.1.3 Stratégies du PNLT	20
2.2.2 Le DOTS	20 - 21
2.3 Diagnostic de la tuberculose	21

2.3.1	Diagnostics bactériologiques	21
2.3.1.1	Examen microscopique	21
2.3.1.1.1	Matériels	21- 22
2.3.1.1.2	Confection du frottis	22
2.3.1.1.3	Fixation des frottis	22
2.3.1.1.4	Coloration	22 - 23
2.3.1.1.5	Lecture	23
2.3.1.1.6	Interprétation des résultats	23
2.3.1.2	Culture	24
2.3.1.3	Biologie moléculaire	24- 25
2.3.2	Diagnostics immunologiques	25
2.3.2.1	Test a la tuberculine	25 – 28
2.3.2.2	Test immunochromatographique (ICT)	28
2.3.3	Radiologie	28 - 29
2.4	Méthodes de diagnostics au Mali	29
2.5	Les exigences du contrôle de qualité	30
2.5.1	Définition	30
2.5.2	Différents procédures de contrôle de qualité de la Microscopie de la tuberculose	30 – 33
III	Méthodologie	34
3.1	Type et période d'étude	34
3.2	Lieux d'étude	34
3.2.1	Les laboratoires participants	34
3.2.2	Le laboratoire national de référence de la tuberculose a l'INRSP	34
3.3	Echantillonnage	34
3.3.1	Critères de choix des lames	35
3.3.2	Taille de l'échantillon	35 – 36
3.4	Microscopie	36

3.4.1 Matériels	36
3.4.2 Méthode de laboratoire	36
3.4.2.1 Prélèvement	36 – 37
3.4.2.2 Examen microscopique	37
3.4.2.2.1 Confection des frottis	37 – 39
3.4.2.2.2 Coloration des frottis	39 – 40
3.4.2.2.3 Lecture des lames et interprétation des résultats	41 – 42
3.5 Implantation d'un système de contrôle de qualité	42
3.5.1 Conservation des lames	42
3.5.2 Transport des lames	43
3.5.2.1 Des laboratoires des CSRef vers l'INRSP	43
3.5.2.2 De l'INRSP vers les laboratoires des CSRef	43
3.5.3 Contrôle de qualité des lames	43
3.5.3.1 Méthodes de contrôle de qualité externe	43 – 44
3.5.3.2 Planification	44
3.6 Questionnaire	45
3.7 Visites sur terrain	46
3.8 Système de score	46 – 47
3.9 Définition des termes	47
3.10 Recommandations de l'UICTMR pour la microscopie de la tuberculose	47
IV Résultats	48
4.1 Evaluation de la structure des laboratoires	49 – 60
4.2 Résultats de la microscopie des lames lues ou relues à l'INRSP	60 – 61
4.3 Résultats de la microscopie des lames lues ou relues par les laboratoires participants	61 – 62

4.4 Compatibilité des résultats et les erreurs de quantification des laboratoires participants	62 – 63
4.5 Qualité des frottis et de la coloration des lames de routine des laboratoires participants	64
V Commentaires et discussions	65
5.1 Evaluation des laboratoires des CSRef	65
5.1.1 Présentation physique des laboratoires	65
5.1.2 Matériels	65
5.1.3 Préparation des colorants	65
5.2 Recueil des crachats	66
5.3 Etalement coloration et lecture	67
5.4 Résultats de la lecture des lames	68
5.5 Santé sécurité	68 – 69
5.6 Prise en charge et suivi des malades	69
5.7 Microscopie des lames lues ou relues a l'INRSP	69
5.7.1 Lames faites et colorées par les CSRef et relues a l'INRSP	69 – 70
5.7.2 Lames faites aux CSRef, colorées et lues à l'INRSP	70
5.8 Microscopie des lames lues ou relues par les laboratoires participants	70
5.8.1 Lames faites et colorées à l'INRSP et relues par les CSRef	70
5.8.2 Frottis de lames faits à l'INRSP, colorés lus par les CSRef	70 – 71
5.9 Compatibilité des résultats et les erreurs de quantifications des laboratoires participants	71
5.9.1 Frottis de lames faits et colorés par	

les CSRef, et relus par l'INRSP	71
5.9.2 Frottis de lames faits aux CSRef colorés et lus à l'INRSP	71 – 72
5.9.3 Frottis de lames faits et colorés à l'INRSP, relus par les CSRef	72
5.9.4 Frottis de lames faits à l'INRSP, colorés et lus par les CSRef	72
5.10 Qualité des frottis et de la coloration des lames de routine des laboratoires participants	72
5.10.1 Qualité de la coloration des frottis faits par les laboratoires participants	72 – 73
5.10.2 Qualité de l'étalement des frottis faits par les laboratoires participants	73
VI Conclusion et recommandations	74
6.1 Conclusion	74
6.2 Recommandations	75
6.2.1 Au Laboratoire National de Référence de la Tuberculose	75
6.2.2 Au programme national de lutte contre la tuberculose	75
6.2.3 Aux Directions Régionales de la Santé de Kayes et de Bamako	75
VII Bibliographie	76 – 79
Localisation et résumé	80 – 82

GLOSSAIRES

GLOSSAIRE

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquis

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

VIH : Virus d'Immunodéficience Humain

AMS : Assemblée Mondiale de la Santé

DOT : Directly Observed Treatment

DAT : Dispensaire Antituberculeux

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique

TPM⁺ : Tuberculose Pulmonaire a frottis positif

TPM⁺nc : Tuberculose pulmonaire a frottis positif nouveau cas

PNLT : Programme National de Lutte contre la Tuberculose

RAI : Risque Annuel d'Infection

CSCom : Centre de Santé Communautaire

CQI : Contrôle de Qualité Interne

EEQ : Evaluation Externe de Qualité

AQ : Amélioration de Qualité

CSRef : Centre de Santé de Référence

CSRef CII : Centre de Santé de Référence de la Commune II

CSRef CIII : Centre de Santé de Référence de la Commune III

CSRef CVI : Centre de Santé de Référence de la Commune VI

CSRef Kayes : Centre de Santé de Référence de Kayes

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

BK : Bacille de Koch

BAAR : Bacille Acidoalcoolorésistant

ADN : Acide désoxyribonucléique

PCR : Polymerase Chain Reaction

ATK : Tuberculine Ancienne de Koch

PPD : Purified Protein Derivative

IDR : Intradermoréaction

IgG : Immunoglobuline G

ICT : Test Immunochromatographique

DRS : Direction Regionale de la Santé

UICTMR : Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies
Respiratoires

FPF : Faux Positif Faible

FPE : Faux Positif Elevé

EQ : Erreur de Quantification

H : isoniazide

S: streptomycine

R: rifampicine

APHL: Association of Public Health Laboratories.

CDC: Centers for Disease Control and prevention.

IUATLD: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease

KNCV: Association Royale Hollandaise de Lutte Contre la Tuberculose

RIT: The research institute of tuberculosis. Japan.

I INTRODUCTION

I INTRODUCTION

La tuberculose est une maladie infectieuse due à une bactérie, communément dénommée bacille tuberculeux (bacille de Koch) (9). Elle est l'une des maladies contagieuses commune aux hommes et aux animaux, qui touche principalement les poumons (2).

La tuberculose demeure encore un problème de santé publique dans les pays en voie de développement dont le notre. Elle est d'actualité dans les pays développés avec la pandémie du SIDA (11). Parmi les maladies contagieuses, la tuberculose est la cinquième cause de décès dans le monde et la deuxième cause de décès dû à un seul agent infectieux. L'OMS estimait à 1,9 millions de décès dus à la tuberculose en 1997, un million en Asie du Sud Est, moins de 42000 dans les pays industrialisés de l'Est et de l'Ouest. Les pays démunis sont les plus frappés par la tuberculose avec 95% des cas. Cela est dû à une insuffisance de la couverture sanitaire. Seulement une partie de ces malades est détectée et traitée.

La recrudescence de la tuberculose dans les pays aux revenus élevés est liée à la marginalisation sociale des groupes défavorisés, à l'épidémie du VIH, au démantèlement des structures de lutte antituberculeuse et à la migration provenant des pays ayant une proportion élevée des sujets infectés par la tuberculose.

L'augmentation de l'incidence de la tuberculose dans les pays pauvres s'explique par : l'accroissement démographique, l'urbanisation rapide, l'implantation récente des programmes nationaux de lutte antituberculeuses et enfin la survenue de l'épidémie du VIH (10).

Le poids mondial de la tuberculose a été estimé à environ neuf millions de nouveaux cas dont trois millions de cas mortels. *Mycobacterium tuberculosis* tue plus de personnes que tous les autres agents contagieux. Les décès dus à cette maladie comptent 25% de toutes les morts évitables dans les pays en voie de développement, qui enregistrent 95% des cas de tuberculose et 98% de décès. Toujours dans ces pays, 75% des cas de tuberculose surviennent dans la tranche d'âge économiquement productive (15 à 50ans).

L'accroissement du poids mondial est lié principalement aux raisons suivantes :

- croissance démographique,

- urbanisation rapide,
- accroissement de la pauvreté,
- propagation du VIH (dans certaines régions du monde),
- inefficacité de certains programmes de lutte antituberculeuse qui entraîne l'apparition de bacilles multi résistants.

On estime qu'un tiers de la population mondiale pourra être infecté par le bacille de la tuberculose (20).

La tuberculose est toujours un problème mondial, car les objectifs fixés pour l'an 2000 n'ont pas été atteints. Ces objectifs étaient les suivants : dépister 70% et guérir 85%. Il sera donc nécessaire d'appliquer une bonne stratégie pour atteindre en 2010 ou 2020 les objectifs mondiaux.

En 2002 l'OMS estimait qu'il y avait 8,8 millions de nouveaux cas de tuberculose, dont 3,9 millions étaient à frottis positif et que l'incidence mondiale de cette maladie progresse annuellement au rythme d'environ 1,1% et le nombre de cas de 2,4%.

Le taux de dépistage mondial des cas à frottis positif durant la même année était de 37%, ce qui correspond à plus de la moitié des 70% fixé pour cible, et l'augmentation enregistrée a été la plus rapide depuis 1995. Sur la base des tendances actuelles, on estime que le taux de dépistage des cas est de l'ordre de 50%(5).

Vers la fin de l'année 2003 l'Afrique faisait toujours face à une épidémie grandissante de la tuberculose. Pendant que l'OMS, en collaboration avec les partenaires, soutenait au cours de cette même année les pays membres à intensifier leurs efforts dans le sens de la lutte contre la tuberculose, les taux de dépistage des cas et la réussite de traitement étaient de l'ordre 46% et 71,3% dans la région. Ces résultats sont en dessous de l'objectif de 2005 fixés par l'assemblée mondiale de la santé (AMS). Malgré que les pays ont fourni assez d'effort dans la mise en œuvre et l'expansion des services de diagnostic et de traitement de la tuberculose sur la base de la stratégie DOT recommandée, beaucoup reste à faire bien que dans l'ensemble, la région contribue de manière disproportionnée au poids mondial de la tuberculose (22).

De nos jours, on estime qu'au moins un tiers de la population africaine est déjà porteuse de la tuberculose. En temps normal 10% seulement des personnes touchées développeront la maladie, car le bacille reste latent pendant une longue période. En Afrique, la pauvreté, le virus du SIDA et les mauvaises conditions de santé rendent la partie si facile à la tuberculose que plus de 1,6 millions d'africains en tombent malade chaque année. Nombre d'entre eux en mourront sans qu'aucune aide ne leur soit offerte. Les prévisions des cinq prochaines années, seront de 10 millions de nouveaux cas dont 3,6 millions de mort par la tuberculose. Plusieurs facteurs viennent compliquer le problème : la pauvreté, la croissance rapide de la population, l'incapacité d'émettre un diagnostic à temps, la mauvaise qualité des traitements (23).

Avant l'année 2001 la bacilloscopie de la tuberculose au niveau de Bamako était effectué uniquement par le DAT (Dispensaire Antituberculeux). Dès le début de l'an 2001 le Mali a adopté une campagne de décentralisation du service de diagnostic et de suivi de la tuberculose, pour mieux les rapprocher à la population. C'est ainsi que chaque centre de santé de référence des communes de Bamako a été habilité à effectuer l'examen microscopique et le suivi de la tuberculose. Ces centres doivent être appuyés par l' Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), qui à travers le laboratoire national de référence de la tuberculose fait la supervision et l'encadrement des laboratoires périphériques (19).

Pour les estimations statistiques le PNLT s'appuyait sur un RAI (risque annuel d'infection) tuberculique de 1,5%. Mais en 2002, le PNLT a commencé à appliquer les chiffres de l'OMS à savoir :

en 2002, pour une population de 10884000 habitants l'incidence de la tuberculose toutes formes confondues était de 37000 cas par an (soit 320/100000 habitants), soit une incidence TPM+ nc 16500 cas par an (142/100000 habitants).

Le plan national de lutte contre la tuberculose élaboré par le PNLT à pour stratégie (19) :

- Réduire la morbidité, la létalité et la transmission de la tuberculose dans la population en doublant en 10 ans le nombre de cas contagieux pris en charge. Les stratégies suivantes devront être adoptées afin que, chaque années au moins 70% de cas de tuberculose pulmonaire à frottis positifs soient dépisté et qu'au moins 85% des cas contagieux dépisté soient guéris ;

- l'intégration des activités de dépistage et de traitement dans le paquet minimum d'activité offert à la population dans tout le district et l'établissement d'un réseau fonctionnel de laboratoires de microscopie de qualité contrôlée.

Le contrôle de qualité inclue l'évaluation de la performance, la comparaison de la performance avec les objectifs visés et la mise en œuvre d'actions correctrices en cas de problèmes. Cela implique donc une surveillance continue des divers éléments en vue d'identifier et de corriger ces problèmes (36).

Un système de contrôle de qualité du diagnostic de la tuberculose comporte plusieurs volets :

- Le contrôle de qualité interne (CQI)
- L'évaluation de la compétence
- L'évaluation externe de qualité (EEQ)
- L'amélioration de la qualité (AQ) (1)
- Une supervision directe du travail effectué dans les laboratoires (19).

Une étude précédente a décelé des problèmes au niveau de certains laboratoires, dans le district de Bamako (19). Ces problèmes relevaient essentiellement du recueil des crachats et l'enregistrement des résultats. Cette première étude n'avait pas concerné les centres de santé des régions du Mali.

Objectifs de étude

- **Objectif Général**

Evaluer le système de dépistage de la tuberculose par un contrôle de qualité de la microscopie dans les CSRef des communes II, III, VI de Bamako et du CSRef de Kayes.

- **Objectifs Spécifiques**

- Appuyer l'INRSP ainsi que les laboratoires concernés par notre étude dans la mise en place d'un système de contrôle de qualité de l'examen microscopique de la tuberculose.
- Déterminer les éléments essentiels à la fois humains et matériels nécessaires pour contrôler la qualité du dépistage de la tuberculose par la microscopie à Bamako et Kayes.
- Comparer les résultats du dépistage microscopique de la tuberculose du CSRef de Kayes et des communes II, III, VI de Bamako à ceux du Laboratoire National de Référence de la Tuberculose à l'INRSP.

II GENERALITES

II GENERALITES

2.1 La tuberculose :

2.1.1 Historique :

La tuberculose est connue depuis des milliers d'années. Des séquelles de cette maladie ont pu être identifiées sur des momies égyptiennes. Les grecs l'appelaient "phtisie" (C'est-à-dire une consommation), en la comparant à un feu intérieur qui brûlait les viscères.

Aux âges obscurs, l'infection tuberculeuse était pour les hébreux un des châtiments divins. Hippocrate (5^{ème} 4^{ème} siècle). Galien (2^{ème} siècle) tentaient déjà de donner une explication à cette maladie. Mais celle-ci était le plus souvent confondue avec d'autres affections pulmonaires.

Il faudra attendre les 18^{ème} et 19^{ème} siècles pour faire la part de ce qui revient dans phtisie à la tuberculose et progresser significativement dans la compréhension de cette maladie.

C'est ainsi que les caries vertébrales du moyen âge ont été reconnues comme d'origine tuberculeuse par Pott (1713-1788) (16).

Morgani (1682-1771) a fait faire des progrès spectaculaires à l'anatomie pathologie clinique, ce qui a permis à Bayle (1774-1816) de décrire la granulation miliaire et les aspects anatomiques de la phtisie tuberculeuse. Peu à peu le mot phtisie tombe en désuétude jusqu'à être définitivement écarté du vocabulaire en 1891. Il sera remplacé en 1834 par le mot tuberculose, employée pour la première fois dans son sens actuel par le médecin allemand Schonlein (36).

C'est surtout grâce à Laennec que la tuberculose a trouvé son identité. Dans son livre publié en 1819, il isole et reconnaît la tuberculose qu'il distingue des autres affections pulmonaires. Il affirme son unicité tant sur le plan anatomique que sur le plan clinique.

La tuberculose devenait alors un fléau et conduit à la création d'établissement spécialisés (Sanatorium) dont le premier fut ouvert en 1854 en Allemagne (16).

En 1865 Villemin, s'appuyant sur les expériences qu'il avait pratiqué sur les lapins a conclu que la tuberculose est le fait d'un agent causal spécifique.

En 1882 Koch découvre le bacille tuberculeux humains : *Mycobacterium tuberculosis* et réussit sa culture sur le sérum de bœuf coagulé en 1884. Il mis au point la tuberculine (16).

En 1895 Roentgen découvrit les rayons X et Forlanini (1847-1918) réalisa la première radiographie pulmonaire en Italie dès 1896 (35).

En 1885 Ziehl et Neelsen découvrent la méthode de coloration spécifique des mycobactéries basée sur leur acido-alcool-resistance. Cette méthode de coloration est aujourd'hui utilisée dans les laboratoires d'analyse médicale pour le diagnostic biologique de la tuberculose (16).

A partir de 1895, de nombreuses mycobactéries furent découvertes.

En 1909 la tuberculine fut utilisée par Mantoux (1879-1947). Calmette (1863-1933) médecin et Guérin (1872-1961) vétérinaire avaient constaté que l'ensemencement d'une souche virulente de *Mycobacterium bovis* sur un milieu fait de pomme de terre, bile de bœuf et de la glycérine n'altérait en dehors de son pouvoir pathogène aucun des caractères principaux du bacille, notamment pas celui d'induire une allergie. Cette souche a été rendue inoffensive par des ensemencements répétés 230 fois entre 1906 et 1921.

Dès 1921 la vaccination par le BCG (Bacille de Calmette et Guérin) fut utilisée chez l'homme.

La chimiothérapie antituberculeuse est apparue à la fin de la guerre mondiale. En effet, jusqu'aux années 1950 les traitements antituberculeux furent lourds et très souvent inefficaces.

En 1944 Waksman découvre le premier antibiotique actif contre le bacille tuberculeux : la streptomycine. D'autres médicaments seront découverts dans les vingt années qui suivirent

- l'éthambutol en 1951
- l'isoniazide et le pyrazinamide en 1952
- l'éthionamide en 1956
- la rifampicine en 1969

La disponibilité de ces antituberculeux a été cependant favorable à lutte contre la tuberculose, bien que cela avait commencé auparavant suite à l'amélioration des conditions de vie de la population.

Ce fait illustre bien le caractère social de cette maladie dont l'apparition et l'évolution sont fortement liées à la pauvreté.

2.1.2 Définitions :

La tuberculose est une maladie infectieuse due aux bacilles de Koch. Elle est caractérisée par la formation des tubercules dans des organes variés : poumon, vertèbre (mal de pott), reins, peau (lupus tuberculeux), méninges (méningite tuberculeuse), intestin (37).

La tuberculose est le résultat :

- Soit d'une surinfection exogène à partir d'un sujet très contagieux (tuberculose pulmonaire).
- Soit d'une réinfection exogène à partir des bacilles résistants après une infection tuberculeuse primo-infection tuberculeuse ou tuberculose pulmonaire insuffisamment ou non traitée, ayant laissé en place des bacilles vivants (tuberculose secondaire) (2).

- **La tuberculose pulmonaire :**

Elle résulte de la localisation pulmonaire des bacilles tuberculeux. On distingue deux formes : la tuberculose pulmonaire à microscopie négative et la tuberculose pulmonaire à microscopie positive (36).

- **La tuberculose pulmonaire à microscopie négative :**

Elle est diagnostiquée chez les patients répondants à l'un des critères suivants :

Les patients avec au moins trois échantillons de crachats négatifs à l'examen microscopique direct pour les BAAR et avec, des anomalies radiologiques compatibles avec une tuberculose pulmonaire.

- Ceux avec deux séries de trois échantillons de crachat négatifs prélevés à 10-15 jours d'intervalle et des anomalies radiologiques compatibles avec une tuberculose pulmonaire active et persistante malgré un traitement antibiotique à large spectre non spécifique

- Ceux avec un échantillon de crachat ne contenant de BAAR et dont la culture est positive

- **La tuberculose pulmonaire à microscopie positive :**

Elle est diagnostiquée chez les patients répondant à l'un des critères suivant :

Les patients avec au moins deux échantillons de crachats positifs pour le BAAR à la microscopie directe.

Ceux au moins avec un échantillon de crachat positif pour le BAAR et des anomalies radiologiques compatibles avec une tuberculose pulmonaire évolutive.

Ceux avec au moins un échantillon de crachat positif pour le BAAR et une culture positive pour *Mycobacterium tuberculosis*

- **La tuberculose extra pulmonaire :**

C'est la localisation du bacille tuberculeux dans un organe autre que le poumon.

2.1.3 Epidémiologie :

En 1993 l'OMS a inscrit la tuberculose au nombre des urgences mondiales. Près d'un tiers de la population mondiale est infectée par *Mycobacterium tuberculosis*.

En 1996, on a estimé que près, de 8 millions de nouveaux cas de tuberculose et 3 millions de décès liés à la tuberculose sont survenus dans le monde.

La tuberculose est la maladie infectieuse qui provoque le plus grand nombre de décès dans le monde.

Quatre-vingt-quinze pour cent des cas et 98% des décès se produisent dans les pays en voie de développement. Dans ces pays les décès par tuberculose représentent 25% de tous les décès évitables. 75% des cas se déclarent dans le groupe d'âge des 20-49 ans, qui représente les forces vives de la population.

On prévoit qu'à l'avenir la tuberculose restera l'une des 10 principales causes de mortalité et de morbidité dans le monde. Si les taux de morbidités vont diminuer dans bon nombre de pays, le nombre total de tuberculeux va s'accroître et devrait atteindre 10 millions de nouveaux cas en 2020 (21).

En 2002 l'OMS a estimé qu'il y avait 2 milliards de sujets infectés dans le monde, 8800000 de nouveaux cas, 4000000 de cas de tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive et plus de 1800000 cas de décès.

L'Afrique subsaharienne qui représentait 11% de la population mondiale a notifié à la même période 24% des cas de tuberculose toutes formes confondues et 26% des cas de tuberculose pulmonaire contagieuse la prévalence est de 62,6 pour 100000 habitants en moyenne mondiale, en Afrique subsaharienne, elle était à 149/100000 (77/100000 à Madagascar). La tuberculose ne cesse de progresser dans le monde : l'incidence annuelles était de 8 millions en 2002 et la prévision pour 2005 est de 10 millions (dont 5 millions de TPM+) (17).

Tableau I : Estimation de l'incidence de la tuberculose et de la mortalité par la tuberculose en 2002 (35)

Région de l'OMS	Nombre de cas (en millier)		Cas pour 100000 Habitants		Décès par tuberculose (y compris chez les VIH+)	
	Toutes formes	Frottis positif	Toutes formes	Frottis positif	Nombre en millier	Pour 100000 habitants
Afrique	2354 (26%)	1000	350	149	556	83
Amérique	370 (4%)	165	43	19	53	6
Asie du sud est	2890 (33%)	1294	182	81	625	39
Europe	472 (5%)	211	54	24	73	8
Méditerranée Est	622 (7%)	279	124	55	143	28
Pacifique ouest	2090 (24%)	939	122	55	373	22
Total	8798 (100%)	3887	141	63	1823	31

Les raisons de la persistance de la tuberculose dans le monde et en Afrique sont :

- La pauvreté: 95% des tuberculeux vivent dans les pays pauvres
- L'accroissement démographique ; qui était de 6 milliards en 2000, 7,9 milliards prévus en 2025 et les migrations humaines.
- L'épidémie de VIH /SIDA : la proportion de tuberculeux co-infectés par le VIH était de 10% en 2002 dans le monde, et 30% en Afrique subsaharienne (17)
- Couverture sanitaire insuffisante des populations
- Programmes de lutte contre la tuberculose négligée et disposant de peu de ressources, ayant ainsi pour conséquence un dépistage insuffisant des cas, une mauvaise prise en charge des malades et un faible taux de guérison (21)

2.1.4 Agent pathogène :

L'agent pathogène de la tuberculose est une mycobactérie. Sa transmission se fait par l'intermédiaire des aérosols bacillaires émis par les malades atteints de lésion pulmonaire, c'est-à-dire ceux dont les expectorations contiennent des germes mis en évidence par l'examen microscopique direct.

2.1.4.1 Classification :

Le genre *Mycobacterium* est l'unique genre, de la famille des Mycobacteriaceae. Au sein de ce genre, les espèces *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii* et *Mycobacterium tuberculosis* sont responsables de la tuberculose chez l'homme ou l'animal (30). *Mycobacterium* signifie bâtonnet champignon car ces bactéries peuvent former des extensions filamenteuses présentant parfois des branchements courts. Ces formes filamenteuses ramifiées sont rares et une faible perturbation suffit pour les fragmenter en formes bacillaires (2).

2.1.4.2 Habitat :

L'existence de *M. tuberculosis* est étroitement liée à la présence humaine. L'excrétion du bacille par le malade explique qu'on peut l'isoler de façon transitoire dans l'environnement, car il peut survivre au froid et à la dessiccation. Il est sensible aux agents physiques comme les rayonnements ionisants, les UV et la lumière. Sa sensibilité aux agents chimiques est variable : détruit par l'alcool à 70⁰ ; il résiste à de nombreux antiseptiques ; aux bases et aux acides dilués. Dans l'environnement familial de l'homme, les petits mammifères et les oiseaux peuvent s'infecter et devenir des vecteurs de la tuberculose de même que les gros mammifères d'élevage contaminés par l'homme (31).

2.1.4.3 Caractères bactériologiques :

2.1.4.3.1 Morphologie :

Les mycobactéries sont des bâtonnets fins et droits ou légèrement incurvés de 2 à 4 microns de long sur 0,2 à 0,3 micron de large. Elles sont immobiles, se présentent en petits amas ou sous forme isolée avec des extrémités arrondies. Elles ne sont pas colorables par les colorants usuels ; mais sont colorées par la fuchsine phéniquée selon la méthode de Ziehl Neelsen. Elles sont acido-alcool-resistants.

2.1.4.3.2 Caractères cultureux :

Les mycobactéries se caractérisent par leurs exigences de culture et leur lenteur de croissance. Toute diminution en apport d'oxygène entrave la culture. Cela explique leur développement préférentiel dans les parties bien oxygénées de l'organisme. Leur temps de division est en moyenne 20 heures, ainsi les cultures ne seront positives qu'après une ou plusieurs semaines d'incubation à 37⁰. Les colonies sont rigueuses. Les mycobactéries exigent des milieux spécifiques enrichis en sérum de bœuf, glycérine, albumine bovine, fécule de pomme de terre (préalablement utilisé) (10). Ce sont :

- Le milieu Dubos
- Le milieu de Loewenstein – Jensen

La température optimum de croissance est de 35 – 37⁰, le P^H optimum est de 6,8 – 7

2.1.4.4 Caractères biochimiques :

Le développement des colonies sur milieu de Loewenstein Jensen n'est pas synonyme de BK. L'identification des mycobactéries repose sur les épreuves biochimiques.

- Présence de catalase à 22⁰ et 70⁰ c
- Présence de peroxydase
- Production d'acide nicotinique
- Réduction des nitrates
- Transformation du citrate de fer ammoniacal
- Présence de l'aryl sulfatase
- Présence de l'uréase
- Hydrolyse du twen 80.

Les plus couramment utilisées sont les suivants :

- La catalase : c'est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée (H₂O₂) en libérant de l'oxygène, sa présence dans une souche donnée se traduit par un dégagement gazeux lorsqu'on met cette souche en présence d'eau oxygénée. Toutes les mycobactéries produisent de la catalase à 22⁰ C sauf certaines souches de *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium bovis* isoniazido-resistants. Il existe différentes souches qui se distinguent les unes des autres par leur sensibilité thermique,
- Acide nicotinique : les souches de *Mycobacterium tuberculosis* produisent une quantité importante d'acide nicotinique dont la présence est révélée par le bromure de cyanogène,
- Réduction des nitrates : les mycobactéries produisent une nitrates réductase qui leur permettent de réduire les nitrates en nitrites.

2.1.4.5 Caractères antigéniques :

Les mycobactéries ont une forte teneur en lipide 20 à 40%. Les lipides représentent 60% des constituants de la paroi.

La structure de la paroi des bacilles tuberculeux permet de comprendre comment la tuberculose contourne ou neutralise les mécanismes antimicrobiens. Les mycobactéries en général et *Mycobacterium tuberculosis* en particulier ont un épais peptidoglycane et n'ont pas de membrane externe. Mais elles ont à l'extérieur du peptidoglycane une structure lipopolysaccharidique qui rappelle en épaisseur et en densité, celle qui existe chez les bactéries à Gram négatif. Cette structure composée d'arabino-galactane et d'acide mycoliques (acide gras de poids moléculaire très élevés), forme une barrière particulièrement hydrophobe autour du corps microbien.

En absence de membrane externe et de porine, les acides mycoliques empêchent les colorants habituels des bactéries de pénétrer à l'intérieur des mycobactéries.

On comprend facilement que la difficulté de passage à travers la paroi des mycobactéries n'est pas limitée aux colorants. Elle s'étend à de nombreuses autres molécules, notamment aux antibiotiques, ce qui explique la résistance naturelle des mycobactéries au plus part des antibiotiques actifs sur les autres espèces

bactériennes. Cette résistance naturelle constitue l'un des grands problèmes des cliniciens, elle n'est pas due à une insensibilité de la cible mais due à une impossibilité de passage à travers la paroi (2).

2.1.4.6 Caractères immunologiques :

Les bacilles tuberculeux induisent chez les sujets infectés une allergie et une immunité spécifique, qui ont été décrits par Robert Koch en 1891. Cette expérience est connue sous le nom de phénomène de Koch.

Phénomène de Koch (15).

L'inoculation de bacilles tuberculeux virulents à un cobaye sain provoquera au 10^{ème} ou 14^{ème} jour un nodule au point d'inoculation qui s'ulcère. Cette ulcération persistera jusqu'à la mort de l'animal. Avant l'apparition du nodule, aucune lésion apparentée ne s'observe.

En inoculant chez un cobaye déjà atteint de tuberculose, on observe une évolution très rapide en 24 à 48 heures. La peau rougit et se nécrose. La lésion inflammatoire et nécrotique atteint son maximum en 72 heures, puis s'élimine et guérit spontanément sans que l'évolution de la maladie sous-jacente ne soit affectée.

La réaction inflammatoire précoce avec nécrose est le fait de l'hypersensibilité. Mais cette hypersensibilité met 24 à 72 heures pour se produire. Il s'agit donc d'hypersensibilité tardée. Elle est appelée hypersensibilité tuberculinique ou allergie tuberculinique.

Le caractère transitoire de la réaction prouve qu'il y a une immunité. Elle se manifeste à l'égard des bacilles réinoculés. Cette immunité est dite immunité de surinfection. Chez le cobaye, l'apparition et l'intensité de l'hypersensibilité sont fonction de la virulence et de la quantité des bacilles inoculés (15).

Adjuvant de Freud :

Freud a montré qu'en injectant à cobaye un mélange de substance protéique inducteur d'hypersensibilité et une suspension de bacille tuberculeux tués, enrobe dans une huile minérale (adjuvant de Freud) on provoque l'apparition d'hypersensibilité de type retardé.

Le test à la tuberculine :

Pour la recherche d'hypersensibilité tuberculique chez l'homme, la seule méthode recommandée par l'OMS est l'intradermoréaction de Mantoux. Elle consiste à la pénétration dans le derme d'une quantité constante de tuberculine purifiée et a mesuré après 72 heures le diamètre de l'induction de la réaction (2).

Le BCG :

C'est le vaccin contre la tuberculose. Il est administré le plus vite possible de préférence dès la naissance. Il ne protège pas totalement contre la maladie sur toutes ses formes mais, il permet d'éviter les formes les plus graves. IL est administré par voie intradermique (dans la partie supérieure du bras gauche) à la dose de 0,05 ml pour les enfants de 0 à 1 an et à 0,1 ml pour ceux qui ont plus d'un an.

2.1.4.7 La résistance aux antibiotiques antituberculeux :

Le Laboratoire Nationale de Référence de la Tuberculose à l'INRSP dispose des informations anciennes du fait de l'absence de plateau technique équipé pour la réalisation des tests de sensibilité. Les dernières informations relatives à la résistance aux antituberculeux date de 2001 (25). Elle a permis d'avoir les résultats suivants :

- H : 8,89%
- S : 2,22%
- E : 2,22%
- R : 2,22 %
- RH : 6,66%
- SH : 4,44%.

2.1.4.8 La transmission :

La tuberculose pulmonaire est la forme la plus fréquente. A cause de sa contagiosité, elle est responsable de la transmission du bacille. Cette dernière se fait par l'intermédiaire des aérosols bacillaires émis par les malades atteints de lésions ouvertes de tuberculose pulmonaire, c'est-à-dire ceux dont les expectorations contiennent des germes mis en évidence par l'examen microscopique direct. Les gouttelettes émises par ces malades se transforment en noyau microscopique qui demeure longtemps en suspension dans l'air ambiant. Ces bacilles, une fois inhalés, vont se loger au niveau des poumons et créent la lésion initiale.

Il arrive cependant que des particules bacillifères plus grosses soient émises par les malades. Mais lorsqu'elles sont inhalées par les sujets en contact, elles sont retenues par les mucus bronchiques et rejetées à l'extérieur ou avalées. Les bacilles déposés sur la peau ou sur les muqueuses saines sont rarement infectants

2.2 Lutte contre la tuberculose :

Les moyens les plus efficaces de rompre la chaîne de transmission du bacille sont représentés par la découverte aussi précoce que possible des sources de contaminations (malade à bacilloscopie positive) et par leur négativation aussi rapide que possible grâce à un traitement adéquat (29).

2.2.1 Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT) :

Le but du programme national de lutte contre la tuberculose est :

Réduire l'incidence de la maladie afin qu'elle cesse d'être un problème de santé publique par le dépistage et le traitement des sources d'infections (tuberculose pulmonaire à frottis positif). Pour atteindre ce but le PLNT doit :

- Couvrir l'ensemble du pays surtout le milieu rural où vivent 73% de la population.
- Etre permanent : l'ampleur de la tuberculose est grande dans tout le pays. La situation peut s'améliorer progressivement si le programme est appliqué pendant une génération au moins.

2.2.1.1 Les objectifs du PNLT :

- **Objectif général**

Réduire la transmission du bacille tuberculeux au sein de la population.

- **Objectifs spécifiques**

Dépister au moins 70% des nouveaux cas de tuberculose pulmonaire à frottis positifs d'ici 2009 ;

Traiter et guérir au moins 85% des cas dépistés ;

Diminuer l'impacte de l'infection du VIH sur l'incidence de la tuberculose à microscopie positive à travers une meilleure prise en charge des patients coinfectés.

2.2.1.2 Organisation du PNLT :

Le PNLT est entièrement intégré dans le système de santé du ministère de la santé à tous les niveaux.

Au niveau national :

Le programme national de lutte contre la tuberculose relève de la division prévention et lutte contre la maladie de la direction nationale de la santé. Il est géré par une coordination nationale assisté par :

- un comité technique
- des services de références
- le comité antituberculeux du Mali (CAM).

La coordination nationale elle est dirigée par un chargé de programme dont les fonctions sont les suivants :

- Planification de la mise en œuvre des étapes opérationnelles du programme
- Suivi et évaluation du programme
- Coordination du programme au niveau intermédiaire et périphérique et avec d'autres services du ministère de la santé. La coordination nationale s'appuie sur la direction régionale de la santé et les médecins responsables de la coordination au niveau des régions et cercles pour assurer

L'acquisition et la distribution des moyens nécessaires au PNLT. Il s'agit notamment des médicaments, de matériel de laboratoire, le matériel informatique et les supports d'informations.

- La formation du personnel engagé dans le PNLT,

- La supervision des activités de dépistage et de traitement,
- La transmission de l'information épidémiologique et des performances du programme.

Les services de références :

- Le laboratoire de bactériologie de l'INRSP
- Le service de pneumo-phthisiologie de l'hôpital du point G

Au niveau régional :

Le programme est placé sous l'autorité du directeur régional de la santé. Il a pour fonction :

- De coordonner le travail des centres de dépistages et de traitement. Chaque centre sera visité régulièrement par une équipe de supervision. Les cercles ayant de faibles résultats doivent faire l'objet de supervision spécifique.
- De former sur terrain le personnel chargé de l'exécution du PNLT et d'organiser des programmes de formation au niveau régional, en collaboration avec le chef de la division santé ou les chargés de programme, et les médecins chefs des services socio sanitaires des cercles.
- De s'assurer qu'un rapport trimestriel sur le dépistage et les résultats du traitement lui sera transmis par chaque centre de dépistage et de traitement. Le responsable régional du PNLT vérifie ces rapports et les analyses avant de les adresser à la coordination nationale.

Au niveau des centres de santé de référence des cercles :

Le responsable du PNLT est le médecin chef. A ce titre il doit :

- Conseiller et aider le personnel sanitaire à introduire, étendre et superviser le dépistage de la tuberculose dans les établissements sanitaires du cercle ;
- Décider les mises en traitements et s'assurer que :
 - Les régimes du programme sont bien suivis,
 - Les malades en traitement sont sous la stricte surveillance du personnel de santé,
 - Les régimes sont prescrits pour la période nécessaire,
 - Les examens de contrôle des crachats sont faits aux dates indiquées ;
- décider des mises en retraitement en cas d'échec de la chimiothérapie quelle que soit la raison.

- tenir à jour de façon précise le registre de la tuberculose, et vérifier que les fiches de traitement sont correctement remplies ;
- adresser régulièrement les rapports trimestriels commentés au superviseur régional du PNLT ;
- assurer l'information, l'éducation et la communication sur la tuberculose de la collectivité.

Au niveau des centres de santé périphérique :

Tous les centres de santé communautaire doivent être engagé dans la lutte contre la tuberculose. Les chefs de poste de ces centres sont responsables, dans le cadre de leurs attributions, de la sélection des malades suspects de la tuberculose, de la collecte des crachats ou de la fixation des frottis, de l'envoi au laboratoire et de la mise sous traitement des malades dépistés. Ils auront la responsabilité du suivi correct du traitement jusqu'à son terme normal (6).

2.2.1.3 Stratégie du PLNT :

Le PNLT a pour stratégie :

- la formation et le recyclage des différents acteurs impliqués,
- l'intégration des activités de lutte antituberculeuse dans les tâches de routine des agents de tous les établissements sanitaires,
- l'organisation d'un système efficace d'approvisionnement sanitaire en médicament antituberculeux, en réactif et matériel technique de laboratoire,
- l'extension progressive du dépistage et de la chimiothérapie de courte durée à tout le pays,
- la supervision régulière (périodique et continue) des activités de lutte antituberculeuse sur toute l'étendue du territoire national,
- l'information, éducation, communication de la population et des malades en matière de lutte antituberculeuse,
- la rétro information régulière du personnel d'exécution à tous les niveaux.

2.2.2 Le DOTS:

DOTS (Directly Observed Treatment short Course)

DOTS est le nom de marque donné à la stratégie de lutte antituberculeuse recommandée par l'OMS (38).

Le DOTS est organisé de la manière à ce que les malades reçoivent leur traitement sans que cela ne gêne leur vie quotidienne. Les médicaments peuvent être administrés par toutes les personnes volontaires, formées et acceptées par le malade et qui doit rendre compte aux services de lutte antituberculeuse. Cette approche permet aux malades par exemple de recevoir leurs médicaments chez eux ou sur leur lieu de travail et favorise l'observation du traitement.

Le DOTS a permis d'améliorer considérablement la guérison dans plusieurs endroits du monde. Il a également réduit le coût de traitement antituberculeux. La banque mondiale l'a reconnue comme étant l'une des interventions sanitaires la plus rentable (19).

La stratégie DOT repose sur cinq éléments essentiels :

- Un engagement des pouvoirs publics vis-à-vis du programme,
- Le dépistage des cas par l'examen microscopique des expectorations pour toutes les personnes suspectées de tuberculose, identifiées dans les services de santé,
- La chimiothérapie normalisée de courte durée pour, au moins tous les cas de tuberculose à frottis positif dans les conditions convenables de prise en charge des malades,
- L'approvisionnement régulier pour tous les médicaments antituberculeux essentiels.
- Le système de surveillance qui permet la supervision et l'évolution du programme (38).

2.3 Diagnostic de la tuberculose :

2.3.1 Diagnostic bactériologique :

2.3.1.1 Examen microscopique :

2.3.1.1.1 Matériels :

Les matériels suivants sont nécessaires pour la réalisation de l'examen microscopique :

- Un microscope optique muni d'objectif 100
- Des crachoirs
- Une anse de platine
- Des lames
- Des pinces
- Un flacon contenant le sable avec de l'alcool qui surnage
- Une lampe à alcool ou bec Bunsen
- Des colorants
- De l'huile à immersion etc....

2.3.1.1.2 Confection du frottis :

Pour confectionner le frottis il faut d'abord identifier la lame c'est-à-dire la numéroter. Ensuite on dégraisse la lame ; après on commence l'étalement. Le choix de la partie à étaler est important. Le technicien doit choisir la partie mucopurulente. L'étalement se fait à coté de la flamme d'une lampe à alcool ou d'un bec Bunsen. Vérifier que le numéro sur la lame est le même que celui du crachoir. Flamber l'anse et la laisser refroidir ; ouvrir le crachoir avec précaution et relever à l'aide de l'anse la parcelle ci-dessus indiquée. Déposer la parcelle sur la lame et l'étaler sur une surface d'environ 1cm sur 2cm en évitant les bords de la lame. L'étalement est fait par des mouvements rotatoires en distribuant de manière homogène l'échantillon sur la lame. En suite plonger l'anse dans le flacon contenant du sable et de l'alcool, puis flamber jusqu'à rougir le fil. Il ne faut jamais porter directement une anse souillée à la flamme. Cela peut provoquer la production des aérosols. Laisser sécher le frottis à l'air libre sur la porte lame pendant 15 à 30 min. Ne jamais sécher les frottis à la flamme.

2.3.1.1.3 Fixation des frottis :

Prendre la lame à l'aide d'une pince et la faire passer à trois reprises, à la flamme du bec Bunsen ou d'une lampe à alcool pendant 3 à 5 secondes.

2.3.1.1.4 Coloration :

La coloration se fait par la technique de Ziehl Neelsen. Il existe deux méthodes de colorations de Ziehl Neelsen : la méthode à froid et la méthode à chaud. La méthode à chaud est recommandée par le PNLT. Donc c'est de cette méthode que nous allons parler.

Coloration à chaud :

Couvrir totalement les lames avec la fuchsine phéniquée à 1% filtrée à l'aide d'un entonnoir avec le papier filtre par-dessus des lames. Chauffer avec la flamme d'une lampe à alcool ou du coton imbibé d'alcool jusqu'à l'émission de vapeur en évitant de faire bouillir le colorant. Répéter le chauffage toutes les trois minutes 3 fois pendant 10 mn. Rincer les lames avec de l'eau courante. Couvrir chaque lame du mélange alcool acide et laisser le colorant agir pendant 3 minutes. Rincer avec de l'eau courante (si le frottis reste mal décoloré, c'est-à-dire rougeâtre, répéter l'étape de décoloration). Couvrir les lames de bleu de méthylène à 0,3% et contre colorer pendant 1 minute. Rincer avec l'eau courante et laisser sécher les frottis à l'air libre avant la lecture.

2.3.1.1.5 Lecture :

La lecture se fait avec l'objectif 100. Cependant il faut déposer d'abord une goutte d'huile à immersion sur le frottis. Le frottis doit être bien éclairé, la mise au point se fait avec l'objectif 10 et on le change par l'objectif 100. Le technicien doit faire attention de ne pas toucher le frottis avec l'objectif et avec l'applicateur d'huile. La lecture se fait sur une longueur qui correspond à 100 champs microscopiques si la taille du frottis est de 2 cm de longueur. Il faut recommander de lire 100 champs lorsque le frottis est positif et 300 champs lorsque le frottis est négatif.

2.3.1.1.6 Interprétation des résultats :

Les résultats sont interprétés selon le tableau suivant :

Nombre de bacille observe	Nombre de champ	Résultat équivalent
0 BAAR	300 champs	Négatif
1-3 BAAR	300 champs	Douteux (a refaire)
1-3 BAAR	100 champs	Faiblement positif (+f)
10-99 BAAR	100 champs	1 ⁺
1-10 BAAR	Par champ	2 ⁺
Plus de 10 BAAR	Par champ	3 ⁺

Il est demandé d'écrire le nombre de BAAR pour les résultats positifs.

- (1⁺) positif a une croix
- (2⁺) positif a deux croix
- (3⁺) positif a trois croix
- (+f) faiblement positif.

2.3.1.2 Culture :

Les échantillons d'expectorations doivent être conservés au réfrigérateur à 4⁰ C, l'examen doit être réalisé dès que possible. Les échantillons sont décontaminés puis homogénéisés selon la méthode de Petroff avec la soude à 4% et à 37⁰ C. Ils sont centrifugés pendant 20 minutes puis le sédiment est neutralisé et rincé. La durée totale de contact avec la soude ne doit pas dépasser 30 minutes. On peut accepter d'autres méthodes standardisées. Il faut réaliser la recherche des BAAR sur ces échantillons concentrés.

Le sédiment est inoculé dans deux tubes avec le milieu de Loewenstein Jensen et un tube contenant du milieu à œuf enrichi au pyruvate de sodium. On a recours à ce dernier pour optimiser le développement de *M. bovis*. Les cultures sont mises à l'étuve à 37⁰ C pendant 9 semaines, ou bien jusqu'à ce qu'on observe la croissance de colonies. Elles seront examinées au bout de 48 heures, toutes les semaines au minimum, après 21, 28, 42 et 63 jours. La morphologie et la pigmentation de chaque colonie isolée seront examinées et l'on notera la date d'apparition des colonies si aucune croissance n'est observée au 63^{eme} jour, ou en cas de contamination, les cultures seront éliminées. On conserve les cultures positives au congélateur à -20⁰ C ou réfrigérateur à 4⁰C quelque temps ou à la température ambiante.

L'identification des colonies se fait par des épreuves standardisées avec l'ADN. La présence de *M. tuberculosis* sera confirmée par la morphologie des colonies et par des épreuves mettant en évidence la production de niacine et la réduction des nitrates. Si la morphologie des colonies et les autres tests confirment l'appartenance de l'isolat à *M. tuberculosis* sp. Les isolats ne donnant pas de production de niacine ou de réduction des nitrates, mais appartenant au complexe *M. tuberculosis*, subiront d'autres tests pour établir la présence de *M. bovis* (7).

2.3.1.3 Biologie moléculaire :

Deux méthodes de biologie moléculaire sont couramment utilisées pour le diagnostic de la tuberculose.

- Sonde d'ADN :

Ce sont des séquences d'acide nucléique complémentaires à une séquence du génome de *M. tuberculosis*. Ces séquences sont marquées afin de pouvoir être révélées par fluorescence ou par colorimétrie. Elles permettent de détecter à moins de 2 heures la présence de l'ADN de *M. tuberculosis*, à partir des mycobactéries retrouvées dans un milieu liquide ou à partir des colonies obtenues sur un milieu solide. Des sondes commerciales ont été développées par d'autres espèces de mycobactéries telles que *M. avium*, *M. kansasii*

- amplification génique ou " polymerase chains reaction " (PCR) :

Elle est une technique qui permet de générer un très grand nombre de copie d'une séquence d'ADN spécifique pour *M. tuberculosis* à partir de l'ADN extrait d'un échantillon clinique. Les copies ainsi produites appelées amplicons sont par la suite détectées par la méthode de fluorescence ou colorimétrique. Contrairement aux sondes d'ADN qui nécessitent la croissance préalable des mycobactéries, la PCR peut être faite directement sur les prélèvements d'origine respiratoire ou non respiratoire. La sensibilité du test est cependant supérieure lorsqu'il est réalisé sur les spécimens respiratoires avec une sensibilité supérieure à 95% pour les crachats des patients à microscopie positive, alors que la sensibilité pour les spécimens non respiratoires à frottis positif est d'environ 70%. Il existe plusieurs techniques d'amplification géniques, mais la plupart donnent un résultat théorique dans un délai très court (8).

2.3.2 Diagnostics immunologiques :

2.3.2.1 Test à la tuberculine :

Il a pour but de mettre en évidence l'allergie spécifique de type retardé. Une réaction tuberculinique positive témoigne d'une infection tuberculeuse subie par le sujet dans le passé et accompagne généralement un processus en évolution. Jusqu'à l'âge de 2 à 3 ans la positivité d'une épreuve tuberculinique montre l'existence d'une tuberculose évolutive.

La Tuberculine Ancienne de Koch (ATK) est un extrait glycéринé d'une culture sur bouillon de bacille tuberculeux. Outre l'ATK, on prépare un dérivé protéique purifié sec de la tuberculine "purified protein derivative" (PPD) de Silbert, qui contient surtout des protéines. Elle peut contenir des polysaccharides et des acides nucléiques.

La même injection à de grande dose à un animal ou à une personne (enfant) non contaminé par la tuberculose ne suscite pas de réaction. Mais l'introduction par la voie hypodermique à un enfant ou un adulte ayant subi la primo infection ou à un sujet actuellement porteur de tuberculose, peut provoquer : une réaction à l'endroit de l'injection, une réaction générale de l'organisme (hyperthermie malaise etc...) une réaction de foyer dans les poumons avec une augmentation des expectorations. En cas de foyer dans les autres organes, on observera l'apparition de réaction dans ces organes. Plus de 90% des réactions positives à la tuberculine sont sans réaction générale. En plus du PPD et de l'ATK, il existe d'autres épreuves tuberculiniques de sensibilités différentes.

La cuti réaction de Pirquet :

Le principe de cette réaction est le suivant : déposer deux gouttes de tuberculine séparé d'une distance 10 mm, avec un compte goutte ou un bâtonnet de verre sur l'avant bras préalablement frotté avec un tampon d'oate. Avec un stylet à la pointe en platine portée au rouge sur une flamme, on pratique au milieu entre les deux gouttes, une scarification qui sert de témoin. Avec le même stylet on fait une scarification dans les gouttes de tuberculines.

Pour la cuti réaction graduée de Pirquet, la technique est un peut différente. Comme indiqué par la technique, les gouttes de tuberculine ont des concentrations variant de

100, 25, 5 et 1 pour 100 et une goutte de solution de phénol à 0,25% qui sert de témoin. Mais au paravent la peau de l'avant bras est désinfecté avec de l'éther. La scarification est superficielle et se fait de la plus faible concentration à la plus forte, tout en évitant de faire saigner. En cas de résultat positif, au bout de 24 à 48 heures une papule apparaît à l'endroit où a été déposée la tuberculine. La scarification de contrôle ne présente pas de réaction locale. On mesure le diamètre de la papule. Si celui-ci est inférieur à 5 mm, la réaction est négative. Dans les cas de réaction négative, on a recourt à l'intradermoréaction (IDR) de "Mantoux" qui est plus sensible.

IDR :

Pour réaliser l'IDR de Mantoux, il faut préparer les dilutions suivantes de la tuberculine.

- Dilution n° 1 (1/10). A 1ml de tuberculine pure on ajoute 9 ml de soluté physiologique phéniqué à 0,25%
- Dilution n° 2 (1/100). A 1ml de la solution n°1 on ajoute 9ml de soluté physiologique phéniqué.

On prépare de la même façon les dilutions suivantes (1/1000 ; 1/10000 etc....)

Principe :

Dans un pli de la peau du bras on introduit tangentiellement une courte aiguille à une profondeur de 1mm de la surface de la peau, puis on injecte 0,1 ml de solution à 1/10000 d'ATK (Mantoux 4). En cas de réaction négative, les injections sont répétées tous les deux jours avec des concentrations de plus en plus élevées, jusqu'à 1/100 (Mantoux 2). En cas de réaction positive il se forme une papule à l'endroit de la piqûre. Au bout de 8 heures, la réaction apparaît. Elle se traduit par de l'érythème, de l'œdème et quelquefois la formation de vésicules. Après 48 à 72 heures, la réaction atteint son maximum : une hausse thermique et une tuméfaction des ganglions lymphatiques sont excessivement rares.

Le test hypodermique à la tuberculine de Koch :

Il s'effectue dans les conditions particulières. Cette épreuve peut par exception être appliquée en l'absence de fièvre mais elle est contre indiquée en cas de maladie du cœur, des reins, de trouble psychoneurasthénique. Koch injectait 0,1 ; 1 ; 5 ; 10mg de

tuberculine par voie hypodermique. En cas d'absence de réaction à cette dose, on peut exclure avec certitude la tuberculose.

Avec l'épreuve intra ou hypodermique à 0,1 mg d'ATK on peut déceler une sensibilité à la tuberculine 100 fois moins forte qu'avec la cuti réaction. Cependant, l'épreuve hypodermique est rarement utilisée en raison du danger de la réaction focale.

L'épreuve au sparadrap :

Elle est d'application facile.

Il y a un sparadrap (de Fresenius) que l'on applique sur la peau sans traitement préalable de celle-ci à l'éther. La tuberculine en particule de grandeur d'une tête d'épingle est placée dans la partie centrale du sparadrap sur une pellicule de cellophane. Le sparadrap est retiré au bout de 48 heures. Les résultats de l'épreuve sont étudiés 3 à 4 jours après, et cela quand disparaît l'irritation non spécifique.

Pour qu'une réaction tuberculique soit positive il n'est nullement nécessaire que la maladie se manifeste cliniquement. Une réaction positive peut bien se rencontrer chez un sujet actuellement sain, mais ayant subi autrefois, même dans l'enfance une primo- infection passée inaperçue (15).

2.3.2.2 Test immunochromatographique (ICT) :

Le kit ICT "Tuberculosis Amrad"

Il s'agit d'un test immunochromatographique rapide basé sur la détection d'anticorps de *M. tuberculosis* dans le sang total, le plasma, le sérum ou les fluides extra pulmonaires tels que les fluides pleuraux, péritonéaux ou lymphatiques chez les patients atteints de tuberculose. Ce test utilise de nombreux antigènes sécrétés au cours de tuberculose pendant une infection active. Ces antigènes sont immobilisés sur 4 lignes à travers une membrane. Lorsqu'on ajoute un échantillon sur le tampon bleu il le traverse en diffusant et s'accroche à ces lignes d'antigènes ; si des anticorps d'immunoglobuline G (IgG) contre la tuberculose sont présents. Lorsque l'on ferme la carte de test, l'IgG antihumaine attachée aux particules d'os colloïdal se fixe sur l'anticorps d'IgG humaine en formant une ou plusieurs lignes roses. S'il n'y a pas d'anticorps spécifiques dans l'échantillon aucune ligne rose ne se forme.

Le prélèvement de sang se fait sur le doigt. Le test est négatif chez les VIH⁺ donc il ne doit pas être utilisé pour le diagnostic des co- infectés VIH tuberculose (8).

2.3.3 Radiologie :

La radiologie a un important rôle dans le diagnostic de la tuberculose.

Elle comprend la radioscopie d'orientation d'ensemble et centré, la radiographie et la tomographie (radiographie en coupe). Ces moyens de recherche mettent à la disposition du médecin des données très importantes permettant de faire un diagnostic. Pourtant le diagnostic définitif ne se fait que sur la base d'un examen clinique complet. La radiologie ne permet de faire la conclusion sur l'étiologie du processus. Par cette méthode on peut préciser la localisation et la topographie de l'atteinte pulmonaire. Une conclusion radiographique juste exige une technique impeccable et bien standardisée. La standardisation de la technique a une grande importance pour la confrontation des données d'une série de radiographie se rapportant à des périodes diverses de la maladies.

La radioscopie des poumons :

Elle permet de voir la cage thoracique et les organes qu'elle contient en mouvement. Elle permet d'examiner les champs pulmonaires sous diverses incidences. La radioscopie permet de voir nettement le déplacement et la fixation pathologique du médiastin. De nos jours cet examen n'est plus utilisé.

La radiographie des poumons :

Pour l'examen d'un tuberculeux la radiographie des poumons est nécessaire. Les clichés faites dans les conditions optimum donnent l'image la plus nette du dessin pulmonaire. On peut réaliser la radiographie dans différentes positions (15).

Le scanner :

Il peut être utilisé pour diagnostiquer la tuberculose pulmonaire.

2.4 Méthodes de diagnostic au Mali :

Le diagnostic de la tuberculose se fait au Mali par :

- L'examen clinique : il est pratiqué aux malades se présentant spontanément à un établissement sanitaire avec des symptômes évocateurs ou persistants de deux semaines ou plus, ou sujets vivants en contactent de tuberculeux bacillifères

- L'examen bactériologique des expectorations : il est le seul moyen de confirmer le diagnostic de la tuberculose pulmonaire. En effet, chaque fois qu'une tuberculose pulmonaire est suspectée, 3 échantillons de crachats doivent être examinés en 2 jours
- La culture : elle est pratiquée lorsque la radiographie est évocatrice et que la microscopie est négative.
- La radiologie : la radiologie de la tuberculose n'est pas fiable par ce que d'autres affections de l'appareil respiratoire ressemblent à la tuberculose sur cliché
- Le test tuberculique : il a une valeur limitée en clinique surtout dans les pays à haute prévalence de la tuberculose. Un test tuberculique positif peut être le fait d'une infection à mycobactérie autre que *Mycobacterium tuberculosis*.

Parmi toutes ces méthodes seules la bactériologie est la méthode largement rependue. Elle est la méthode recommandée par le programme national de lutte contre la tuberculose.

2.5 Les exigences du contrôle de qualité :

2.5.1 Définition :

Le contrôle de qualité de la bacilloscopie de la tuberculose est une composante obligatoire du programme de lutte contre la tuberculose. Elle concerne l'ensemble du processus de la bacilloscopie. Il a pour but d'améliorer l'efficacité et la fiabilité des services de microscopies de frottis d'expectoration (1)

2.5.2 Différentes procédures de contrôle de qualité de la microscopie de la tuberculose :

Il y a trois méthodes principales de contrôle de qualité qui sont :

- L'évaluation au cours de la supervision
- Le jeu de lames pour contrôle
- La relecture en aveugle

- **Evaluation au cours de la supervision :**

Les visites aux laboratoires périphériques par un personnel formé du laboratoire de référence sont essentielles pour améliorer ou maintenir un standard de haut niveau. Ces visites permettent l'observation de la performance du personnel de laboratoire dans les conditions réelles de travail, ainsi que l'observation des conditions de travail, d'équipement, de sécurité au laboratoire, de la disponibilité du matériel, et de la réalisation de l'examen microscopique des prélèvements : frottis, coloration, lecture, enregistrement et rapport. Les frottis colorés peuvent être réexaminés pendant la visite. Une fois les problèmes détectés les solutions peuvent être suggérées et éventuellement appliquées immédiatement.

- **Jeu de lames pour contrôle :**

Il consiste à l'envoi des lames colorées ou non du laboratoire de référence aux laboratoires de niveau inférieur pour leur lecture et interprétation. Il est reconnu comme la méthode la plus simple pour l'évaluation des compétences. Le jeu de lame est généralement moins cher et moins exigeant en terme de ressource parmi les autres méthodes. Cependant cette méthode ne fait que tester l'habilité du technicien pour la coloration et la lecture des frottis. Il n'évalue pas la performance de routine du laboratoire. Il est très utile dans les zones où il n'y a pas de laboratoire intermédiaire (3).

Le panel : c'est une procédure de production de lame multiples de contrôle à partir d'échantillons positifs et négatif. Il permet de produire des lames telle que requises. Toutefois la procédure doit être révisée avec attention, et bien sélectionner les échantillons (12).

Nous pouvons considérer le panel comme une partie de la méthode de jeu de lame pour contrôle, car à notre niveau il produit uniquement les lames non colorées de résultat connus.

- **Relecture en aveugle :**

La relecture en aveugle est un processus de relecture d'échantillon de lames d'un laboratoire pour évaluer son niveau de performance. Les éléments essentiels de ce processus de relecture sont :

- l'échantillon doit avoir un nombre suffisant de lames choisis au hasard pour être représentatif du niveau de la performance,
- le laboratoire de référence doit présenter les lames au technicien pour la relecture en lui cachant les premiers résultats,
- L'échantillon de lame doit être composé de frottis négatif, des frottis riches en bacille et des frottis pauvres en bacille. La taille de l'échantillon de lame doit être réduit pour faciliter le travail,
- Les résultats discordants sont vérifiés par un autre technicien,
- Il doit y avoir un système de rétro information.

Cette méthode est considérée comme l'une des plus pratiques pour évaluer la performance du personnel, améliorer les résultats des travaux. Elle est aussi une

source de motivation. Cependant la méthode est trop coûteuse. Elle est inutile pour les pays à faible prévalence (3).

Tableau II : méthodes de contrôle de qualité avantage, inconvénient et utilisation (3)

Méthodes	Avantage	Inconvénient	Utilisation
Evaluation au cours de la supervision	<ul style="list-style-type: none"> - Contact direct avec le personnel - Motivation du personnel - Observation du travail en cour - Révélation des causes d'erreur - Evalue le matériel 	<ul style="list-style-type: none"> - Sélective - Travail intense - coûteux 	<ul style="list-style-type: none"> - Lors des supervisions - Trimestrielle ou annuelle - Collecte des informations
Jeu de lame pour contrôle	<ul style="list-style-type: none"> - Faible charge - Amélioration de la prestation du laboratoire - Identifie les causes des problèmes et d'équipement défaillant 	<ul style="list-style-type: none"> - N'évalue pas la tache de routine - N'est pas motivant pour la tâche de quotidienne 	<ul style="list-style-type: none"> - Premier pas de contrôle de qualité - Evaluation des déficiences graves - Contrôle de la performance des techniciens de microscopie
Relecture en aveugle	<ul style="list-style-type: none"> - Faible charge de travail - Motivant - Reflète la réalité de la routine 	<ul style="list-style-type: none"> - Inexactitudes inévitables - Fausse si non aveugle - Le personnel doit être disponible 	<ul style="list-style-type: none"> - A l'échelle nationale - Standard pour le contrôle de l'analyse de laboratoire - Continue et permanente

METHODOLOGIE

III METHODOLOGIE

3.1 Type et periode d'étude :

C'est une étude transversale d'évaluation de la qualité des examens microscopiques de la tuberculose, effectués de janvier à décembre 2004 dans les Centres de Santé de Référence des communes II, III, VI de Bamako et celui de Kayes.

3.2 Lieux d'étude :

3.2.1 Les laboratoires participants :

L'étude est la suite logique de celle de 2003 qui a pris en compte les laboratoires des CSRef des communes I, V et l'Hôpital du Point G. Pour cette étude nous avons choisi quatre laboratoires participants : les laboratoires des CSRef des communes II, III, VI de Bamako et de celui de Kayes.

3.2.2 Le laboratoire national de référence de la tuberculose à l'INRSP :

Installé dans le service de bactériologie virologie de l'INRSP, il offre la supervision et l'encadrement des autres laboratoires du réseau de la microscopie de la tuberculose (laboratoires périphériques).

3.3 Echantillonnage :

L'échantillon est constitué par des frottis de lames colorées ou non, envoyées ou collectées auprès des laboratoires participants par le Laboratoire National de Référence.

3.3.1 Critères de choix des lames :

- Critères d'inclusion des lames :

Sont incluses dans l'échantillon les lames lues provenant de l'examen de l'expectoration des patients se présentant dans l'un des quatre centres concernés pour consultation d'une toux chronique persistante pendant 2 semaines au moins.

- Critères de non inclusion des lames :

Sont exclues de l'étude les lames dont les résultats ne sont pas disponibles au niveau du laboratoire participant.

3.3.2 Taille de l'échantillon :

L'échantillon est constitué de la manière suivante :

- Pour les lames de relectures recueillies sur les sites, on procédait à la relecture de 10% des lames négatives et 100% des lames positives issues des travaux de routines des dits centres
- Les lames lues à l'INRSP et relues dans les CSRef sont composées de 20 positives et 20 négatives par centre
- Pour les frottis non colorés 10 frottis sont envoyés de l'INRSP vers les centres et le même nombre est recueilli au niveau de ces centres

Le nombre total de lames attendues des CSRef est de 1914 lames. Mais nous n'avons trouvé que 354 lames négatives et positives. Cela est dû au fait que les centres ne gardent pas de lames négatives pour le contrôle de qualité et ne gardent qu'une partie des lames positives. Pour les frottis non colorés le nombre est identique pour tous les centres. C'est ainsi que 10 lames ont été envoyées par l'INRSP et 10 lames ont été recueillies dans chaque site ; ce qui nous donne au total 80 frottis non colorés. La quantité de lames déjà colorées et lues par l'INRSP est aussi fixe par centre. Ainsi chaque centre a reçu 40 lames dont 20 positives comportant différent degré de richesse bacillaire c'est-à-dire composé de lame positive à 3⁺, 2⁺, 1⁺ et +f et 20 lames négatives donc au total 160 lames.

Nous n'avons eu que 594 lames y compris celles confectionnées à l'INRSP pour notre étude.

3.4 Microscopie :

3.4.1 Matériels :

Les laboratoires n'ont pas été évalués simultanément. Chaque laboratoire fut visité avant de commencer les travaux. Ils y avaient au minimum les matériels suivant :

- les picettes pour la conservation des colorants ;
- les anses de platine ;
- un à deux microscopes par centre ;
- les boîtes de conservation (au moins une boîte par centre) ;
- les portes lame ;
- un bec Bunsen avec gaz ou lampe à alcool ;
- marqueur et crayon diamant ;
- de l'huile à immersion ;
- alcool à 90⁰ ;
- des pinces et crachoirs ;
- xylène ;
- un bac décoloration.

3.4.2 Méthodes de laboratoire :

3.4.2.1 Prélèvement :

Il est fait selon la procédure décrite dans le guide technique de laboratoire (version révisée 2004)

L'agent de santé doit :

- Mettre le malade en confiance en lui expliquant le motif de l'examen, l'importance de s'efforcer à donner une bonne expectoration,
- lui montrer comment tousser afin que l'expectoration vienne du plus profond possible du thorax. Il le conseillera d'être patient et persévérant,

- le recueil s'effectuera à l'air libre ou dans une pièce bien ventilée,
- contrôler la quantité et la qualité de l'expectoration obtenue.

Trois échantillons de crachat sont prélevés pour le diagnostic :

- * Après le premier entretien au laboratoire, un échantillon est recueilli sur place.
- * Un deuxième crachoir sera remis au malade en lui expliquant de donner le matin un crachat dès son réveil après s'être rincé la bouche et de le ramener au laboratoire.
- * A son arrivée au laboratoire un autre crachoir lui sera remis pour le recueil du troisième crachat sur place.

Celui-ci doit avoir un volume de 3 à 5 ml et contenir des particules solides ou purulentes. Si la quantité de crachat est insuffisante, encourager le malade à recracher.

Si le malade n'arrive pas à cracher, il faut considérer le crachoir ayant déjà servi et par conséquent, selon sa nature le détruire ou le mettre à la stérilisation.

Dans ce cas on lui remettra un autre crachoir stérile en s'assurant qu'il a bien compris la manière de recueillir ses crachats et en lui recommandant de mettre des expectorations le matin au réveil dans le crachoir et l'apporter au centre de santé. Il faut lui montrer en ce moment comment il faut fermer le crachoir de manière étanche et lui conseiller de ne pas agiter le flacon au cours du transport.

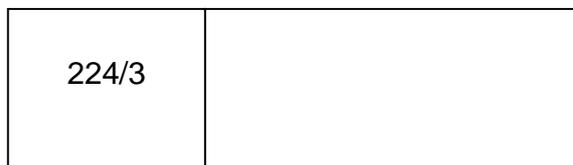
Par contre si au cours de l'opération de recueil le malade a pu donner un échantillon valide tant pour la quantité que pour la qualité, l'agent de santé se chargera de fermer hermétiquement le crachoir et de le porter au laboratoire (6).

3.4.2.2 Examen microscopique :

3.4.2.2.1 Confection du frottis :

- Identification de la lame :

- * Utiliser une lame neuve (lavée, dégraissée) ;
- * Porter le rang du malade et le numéro de l'examen à l'une des extrémités de la lame avec le crayon diamant ou le marqueur (6).

Schéma 1 : lame bien identifiée**- Confection :**

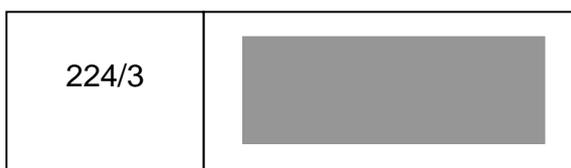
Le résultat de la microscopie dépend essentiellement de la partie sur laquelle on fera le frottis.

Sur la paillasse, près de la flamme d'un bec Bunsen ou d'une lampe à alcool, placer le récipient contenant l'expectoration du malade, une anse métallique (ou à usage unique), la lame identifiable (face identifiée vers le haut) et une pince métallique. Vérifier que la lame et le récipient portent les mêmes numérotations. Flamber l'anse métallique puis la laisser se refroidir. Ouvrir le récipient et prélever à l'aide de l'anse une parcelle de crachat purulent (une seconde anse métallique peut être utilisée pour faciliter la sélection de la parcelle purulente). Déposer la parcelle purulente au centre de la lame (sur la face identifiée).

L'étaler sur les 2/3 de la lame par des mouvements de va et vient de l'anse sans atteindre les bords de la lame, le frottis doit être mince et mesurer 3cm sur 2 cm.

Placer la lame sur une porte lame, stériliser l'anse métallique par chauffage à la flamme du bec Bunsen ou de la lampe à alcool.

Afin d'éviter les projections de particules contaminantes, plonger l'anse dans un flacon contenant du sable et un décontaminant, chauffer ensuite le fil de l'anse à la flamme jusqu'à rougir (6).

Schéma 2 : frottis correctement étalé

Laisser le frottis sécher à l'air libre sur la porte lame pendant 15 à 30 minutes (ne pas sécher à la flamme).

Prendre la lame à l'aide de pince métallique et la passer à trois reprises à la flamme du bec Bunsen (3 à 5 secondes)

3.4.2.2 Coloration des frottis :

- Technique de Ziehl Neelsen à chaud :

* Colorants

Fuchsine phéniquée :

- fuchsine basique pour bactériologie..... 10 g
- acide phéniqué neigeux..... 50 g
- alcool éthylique à 90⁰..... 100 ml
- eau distillée..... Qsp 1000 ml

Bleu de méthylène :

- bleu de méthylène..... 10 g
- eau distillée..... 300 ml

Décolorant :

- alcool absolu..... 800 ml
- acide sulfurique à 60%..... 200 ml

* Technique de coloration :

- Couvrir en totalité les lames correctement étalées et fixées de fuchsine phéniquée de Ziehl filtrée à l'aide d'un papier filtre placé dans l'entonnoir au dessus des lames.
- chauffer très doucement jusqu'à l'émission de vapeur avec la flamme du bec Bunsen ou de la lampe à alcool ou du coton imbibé d'alcool. Eviter que le colorant se dessèche sur la lame ou arrive à ébullition. Cette opération doit être répétée trois fois.
- le colorant doit agir pendant 5 minutes,
- rincer chaque lame avec de l'eau de robinet ou d'une bouteille d'eau jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de colorant libre,
- couvrir chaque lame du mélange alcool acide pendant 3 minutes,
- rincer avec de l'eau de robinet,

- faire la coloration de contraste avec le bleu de méthylène à 0,3% pendant 1 minute,
- rincer à l'eau de robinet,
- laisser sécher à l'air libre.

La lame est prête à la lecture microscopique.

- Méthode de Kinhoun (coloration à froid) :

* Colorant

- fuchsine basique..... 4 g
- phénol 8 g
- alcool à 90⁰..... 20 ml
- eau distillée..... 100 ml

NB dissoudre la fuchsine dans l'alcool et ajouter le phénol et l'eau

Décolorant :

- acide chlorhydrique pur..... 3 ml
- alcool à 95⁰..... 97 ml

Solution de bleu de méthylène :

- bleu de méthylène..... 0,3 g
- eau distillée..... 100 ml

* Technique de coloration

Recouvrir le frottis fixé de fuchsine de Kinhoun pendant 5 minutes sans le chauffer

- rincer doucement à l'eau,
- recouvrir d'acide alcool environ 2 à 3 minutes,
- rincer doucement à l'eau,
- recouvrir de bleu de méthylène pendant 1 à 2 minutes,
- rincer à l'eau,
- sécher à l'air libre.

3.4.2.2.3 Lecture des lames et interprétation des résultats :

* Mise au point du microscope

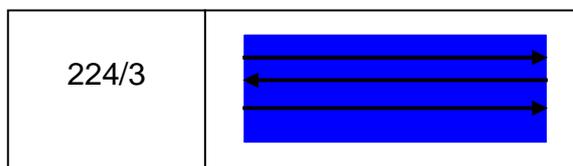
- Mettre un maximum de lumière
- Laisser tomber une goutte d'huile à immersion sur le frottis coloré, tout en évitant de le toucher
- Avec la vis macro métrique faire descendre l'objectif à immersion (objectif 100) au contact avec l'huile, mettre au point d'abord à l'aide de la vis macro métrique puis à l'aide de la vis micrométrique.

La mise au point est directement possible en utilisant l'objectif 10 une fois le champ vu on met une goutte d'huile à immersion sur le frottis et on examine avec l'objectif 100 (6)

* Technique de lecture

Une fois l'image claire, le frottis est examiné de manière systématique et standardisée de gauche à droite sur toute une longueur. Arrivé au bout, on descend verticalement pour examiner une deuxième longueur de droite à gauche et ainsi de suite.

Schéma 3 : méthode de lecture d'une lame



Examiner au moins 300 champs ce qui correspond à 3 longueurs. Les BAAR apparaissent comme des bâtonnets rouges légèrement incurvés plus ou moins granuleux isolés ou groupés sur fond bleu

Compter les BAAR dans chaque champ et faire la moyenne. Inscrive les résultats.

* Interprétation des résultats :

Les résultats doivent être quantifiés ; c'est-à-dire donner le nombre de BAAR par champ microscopique (6). Ils seront ensuite interprétés de la manière suivante.

0 BAAR dans 300 champs..... Négatif

1 à 3 BAAR dans 300 champs..... douteux (à refaire)

1 à 9 BAAR dans 100 champs.....	faiblement positif (⁺ f)
10 à 99 BAAR dans 100 champs.....	positif (1 ⁺)
1 à 10 BAAR par champ.....	positif (2 ⁺)
Plus de 10 BAAR par champ.....	positif (3 ⁺).

3.5 Implantation d'un système de contrôle de qualité :

Les différentes méthodes de contrôle de qualité permettent : l'évaluation externe de qualité, le contrôle interne de qualité et l'assurance qualité. Ainsi notre système de contrôle vise à évaluer les laboratoires concernés par notre étude, en comparant leur résultats à ceux obtenus sur les mêmes échantillons au laboratoire national de référence de la tuberculose de l'INRSP. Pour cela les lames doivent être déparasitées de l'huile à immersion puis conservées dans les boîtes

3.5.1 Conservation des lames :

Les instructions données aux laboratoires des centres de santé de référence pour la conservation des lames sont les suivantes :

- Avant de placer les lames dans les boîtes de conservation, elles doivent être nettoyées de l'huile à immersion avec un papier mouchoir.
- Pour les patients à microscopie positive, toutes les lames de ces malades sont conservées, qu'il s'agisse d'une rechute ou d'un suivi. Si l'une des lames de la série s'avère négative, elle est aussi conservée mais placée dans la boîte des lames négatives.
- Pour les malades à microscopie négative (c'est-à-dire toutes les lames de la série négative), seule une lame de la série est conservée.

3.5.2 Transport des lames :

Le transport des lames se faisait de la façon suivante

3.5.2.1 Des laboratoires de CSRef vers l'INRSP :

Les lames recueillies aux CSRef étaient classées dans les boîtes différentes. Une boîte pour les lames positives, une pour les lames négatives et une troisième boîte pour les frottis non colorés.

La relecture de ces lames par le laboratoire national de référence de la tuberculose permet d'évaluer la compétence des techniciens dans un premier temps et de confirmer le diagnostic de la tuberculose par la microscopie effectuée en 2004 par ces centres de santé de référence (CSRef).

3.5.2.2 De INRSP vers les laboratoires des CSRef

Des lames positives, négatives et des frottis non colorés ont été apporté, dans les laboratoires des CSRef lors des visites sur terrain. Cela avait pour but de tester la capacité de reconnaissance des BARR par les techniciens, la qualité de la coloration et leur manière de faire l'étalement.

3.5.3 Contrôle de qualité des lames :

3.5.3.1 Méthodes de contrôle de qualité externe :

*** Frottis faits à l'INRSP, colorés et lus par les CSRef :**

Tous les laboratoires participants ont reçu 10 lames qu'ils devraient colorer, lire et transmettre les résultats à l'INRSP lors de l'enquête. Ces lames sont conservées dans les boîtes en plastiques pour leur expédition dans les laboratoires des CSRef. La rétro information est faite aux laboratoires participants après comparaison de leurs résultats à ceux de l'INRSP.

Cette méthode à pour but d'évaluer la qualité de la technique de coloration, de lecture et d'enregistrement des résultats.

*** Frottis de lames faits et colorés à l'INRSP et relus par les CSRef**

Ces lames ont été préparées, colorées, lues à l'INRSP et ensuite envoyées aux laboratoires participants pour tester leur capacité à reconnaître les BAAR. Chaque laboratoire participant a reçu à cet effet 40 lames.

*** Frottis de lames faits dans les CSRef, colorés et lus à l'INRSP**

Dans chaque laboratoire participant, 10 frottis de lame ont été collectés, colorés et lus à l'INRSP. Les résultats obtenus sont comparés à ceux du registre du laboratoire participant suivi de la rétro information. Cette méthode permet de contrôler la qualité de l'étalement des frottis des laboratoires participants.

*** Frottis de lames faits et colorés par les CSRef et relus à l'INRSP**

On a procédé à la relecture des frottis de lame déjà lus dans les laboratoires participants. Nous avons utilisé la méthode (3) qui consiste à sélectionner toutes les lames positives et 10% des lames négatives du laboratoire participant. Cette méthode permet de confirmer le diagnostic de la tuberculose par la microscopie et d'apprécier la qualité du frottis et de la coloration.

3.5.3.2 Planification

L'étude a été planifiée de la manière suivante

- L'évaluation des CSRef a été individuelle, c'est-à-dire évaluer les uns après les autres.
- Les échantillons sont choisis de façon aléatoire (sans information sur les résultats avant lecture ou relecture).
- La sélection des lames de contrôle confectionnées par les CSRef a été aussi effectuée lors des visites sur terrain.
- L'aspect physique et l'équipement des laboratoires ont été évalués au cours des visites sur le terrain. Selon UICTMR (39) et Dembélé (19), un laboratoire de la microscopie de la tuberculose doit avoir les éléments suivants :

- * un endroit aménagé pour la réception des échantillons,

- * une paillasse pour la préparation des frottis avec éclairage,
- * un évier de coloration muni d'eau courante,
- * un évier muni d'eau courante pour laver les mains,
- * une paillasse ou une partie de paillasse pour la microscopie devant une fenêtre,
- * une paillasse ou une table pour les registres du laboratoire et un endroit de conservation, des lames,
- * une armoire pour les vêtements des techniciens.

D'une autre façon un laboratoire d'examen microscopique de la tuberculose, peut être divisé en trois espaces distinctes (24) qui sont :

- * un endroit bien illuminé avec un lavabo à eau courante pour la préparation et la coloration des frottis,
- * une table ou paillasse pour le microscope. S'il n'y a pas d'électricité la table ou la paillasse doit être placée directement devant une fenêtre,
- * une table pour ranger les registres et pour la conservation des lames.

La présentation du laboratoire selon ce dernier modèle est la plus fréquente chez les laboratoires qui ont fait l'objet de notre étude. Pour le premier modèle les laboratoires répondant à ces critères sont rares.

3.6 Questionnaire (annexe II)

Un questionnaire pour le contrôle de qualité fut élaboré et comporte six grandes parties qui sont :

- Organisation du laboratoire,
- Recueil des crachats,
- Etalement coloration et lecture,
- Résultat,
- Santé et sécurité des personnels,
- Autre aspect du travail (accueil des patients, le délai d'obtention des résultats, la disponibilité des agents du laboratoire etc....).

Il a permis l'évaluation du matériel (équipement du laboratoire), des ressources humaines.

3.7 Visites sur terrain :

L'évaluation au cours de la visite sur le terrain étant reconnus comme une méthode de contrôle de qualité, nous a permis de faire l'observation de la performance du personnel de laboratoire dans les conditions réelles du travail, ainsi que l'observation des conditions de travail : équipement, sécurité au laboratoire, disponibilité des fournitures et l'examen microscopique des frottis, colorés, l'interprétation et enregistrement des résultats. Nous avons prélevé les frottis colorés pour la relecture.

3.8 Le système de score :

Le système de score permet d'apprécier les résultats du contrôle de qualité par le jeu de lame (3). Il y a plusieurs systèmes de score, chaque système correspond à un niveau d'évolution du programme. Par exemple on peut choisir un système plus rigide si le contrôle se fait avec des lames spécialement confectionnées ou si le programme est bien rodé.

Ainsi nous avons les systèmes suivants pour un kit de 10 lames :

- a) Kit de 10 lames, chaque lame vaut 10 points et le total possible est à égal 100 points.
 - Chaque faux négatif vaut 0 point,
 - chaque faux positif vaut 0 point,
 - erreur de quantification vaut 5 points,
 - le score d'approbation est fixé à 80 points.
- b) Kit de 10 lames, chaque lame vaut 10 points, total possible égal 100 points.
 - Chaque lame correcte vaut 10 points,
 - chaque lame incorrecte (tout type d'erreur) vaut 0 point,
 - score d'approbation égal 80 points.
- c) Kit de 10 lames, chaque lame vaut 10 points, total possible 100 points.
 - Faux positif élevé et faux négatif élevé vaut 0 point,
 - faux positif faible, faux négatif faible et erreur de quantification valent 5 point,
 - le score d'approbation fait 80 points.
- d) Kit de 10 lames, chaque lame vaut 10 points, total possible 100 points.
 - Faux positif élevé et faux positif faible valent 0 point,

- faux négatif élevé vaut 0 point,
- faux négatif faible et erreur de quantification valent 5 points,
- le score d'approbation est 80 points (3).

Parmi ces quatre systèmes de scores, nous avons appliqué le système score (a).

3.9 Définition des termes :

* **Coloration adéquate:** un frottis a une coloration adéquate lorsque le frottis après coloration a la couleur bleu.

* **Étalement adéquat :** un étalement est adéquat lorsque le frottis couvre les 2/3 de la lame de façon rectangulaire sans atteindre les bords de la lame. Tout frottis qui ne remplit pas ces conditions est considéré comme inadéquat (6).

* **Frottis épais :** C'est lorsque la couleur de fond des frottis est bleue foncée.

3.10. Recommandation de l'UICMR pour la microscopie de la tuberculose :

L'UICMR (39) recommande qu'à chaque fois que l'on soupçonne une tuberculose, il faut prélever trois échantillons de crachat, chaque fois que c'est possible, ils doivent être recueillis en moins de 24 heures et de la manière suivante.

Premier échantillon : au cours du premier entretien un échantillon est recueilli sur place, après que le patient ait toussé et se soit éclairci le fond de la gorge, sous la supervision d'un personnel dans un lieu bien ventilé. Pour le deuxième échantillon le crachoir est donné au patient pour qu'il y recueille un échantillon matinal (crachat de la nuit) avant le deuxième contact avec le laboratoire. Le troisième crachat est prélevé lors du second entretien et déposé en même temps que le crachat matinal (2^{ème} crachat).

Si le premier échantillon est positif et si le patient ne revient pas pour le second entretien, il doit être recherché dans l'immédiat afin de prévenir l'aggravation de son état et la propagation du bacille dans la communauté. Une première microscopie positive doit être confirmée par une seconde.

IV RESULTATS

4.1 Evaluation de la structure de laboratoire

Tableau III : Organisation du laboratoire.

Disposition des lieux	CSRef Kayes	CSRef CII	CSRef CIII	CSRef C VI
- Aération	- Bonne	- Bonne	- Bonne	- Bonne
- Fenêtre	- Une grande fenêtre	- Deux grandes fenêtres	- Deux grandes fenêtres	- Trois grandes fenêtres
- Climatisation	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Ventilation	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Lieu désigné pour chaque activité	- Oui	- Oui	- Oui	- Non
Cahier de protocole	Absence	Absence	Absence	Absence

Tous les laboratoires participants, répondent aux critères de bonnes organisations, mais aucun ne disposent du cahier de protocole.

Tableau IV : Recueil des crachats et fiche d'analyse.

	CSRef Kayes	CSRef CII	CSRef CIII	CSRef CVI
Requête standardisée pour la microscopie	Oui	Oui	Oui	Oui
* Présente et contient :				
- Nom et prénom du malade	Oui	Oui	Oui	Oui
- Age	Oui	Oui	Oui	Oui
- Adresse complète	Oui	Oui	Oui	Oui
- Centre de santé referant	Oui	Oui	Oui	Oui
- Nature de l'examen	Oui	Oui	Oui	Oui
- N ⁰ de l'échantillon	Oui	Oui	Oui	Oui
- Raison de l'examen (diagnostic ou suivi)	Oui	Oui	Oui	Oui
- Renseignement clinique	Oui	Oui	Oui	Oui
- N ⁰ du patient préalablement attribue	Oui	Oui	Oui	Oui
- Médecin referant	Oui	Oui	Oui	Oui

Tableau IV : Recueil de crachat et fiche d'analyse (suite).

Requête standardisée pour la culture	Pas de requête	Pas de requête	Pas de requête	Pas de requête
Disponibilité des demandes d'analyse				
- Disponible dans les cabinets de médecin	- Oui	- Non	- Oui	- Oui
- Disponible dans les centres de santé	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
Données retranscrites sur une fiche standardisée au laboratoire	- Non	- Non	- Oui	- Non
Service d'accueil pour les malades	Présent	Présent	Présent	Absent
Malade referant au 1 ^{eme} lieu	Au laboratoire	Au laboratoire	Au laboratoire	Au laboratoire

- Excepté le CSRef de la commune II, tous les autres disposent des fiches d'analyse dans les cabinets de médecin.
- Seul le CSRef de la commune III fait, la retranscription des données sur la requête standardisée dans les cas ou la requête n'est pas utilisée pour la demande d'analyse.

Tableau IV : Recueil de crachat fiche d'analyse (suite et fin).

Crachoirs				
- Remis au malade par le technicien(ne)	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Adéquat	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- les crachoirs souillés	- Sont incinérés	- Sont désinfectés avec l'eau de javel	- Sont désinfectés avec le grésil	- Sont jetés
- Toujours disponible	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
Endroit pour cracher	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
	- A l'extérieur du centre de santé	- En dehors du laboratoire	- A quelque mètres du laboratoire	- Dans la cour du CSRef
Quantité de crachat des 8 dernières semaines	457	374	186	733
Nombre de crachats positifs des 8 dernières semaines	58	71	28	97
Réfrigérant pour les crachats	Oui	Non	Non	Non

- Tous les laboratoires disposent d'un endroit pour cracher.

- Excepté Kayes, aucun laboratoire ne garde leur excédant de crachat dans le réfrigérateur.

Tableau V : Microscopie.

Microscopie	CSRef Kayes	CSRef CII	CSRef CIII	CSRef CVI
- Les microscopes sont- ils en bon état	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Y a- t-il une housse pour chaque microscope	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Les microscopes sont nettoyés avec quoi	- Avec un chiffon doux et ou avec un chiffon imbibé de xylol	- Avec un chiffon doux	- Avec un chiffon doux	- Avec le xylène et la compresse
- Le temps consacré par semaine à la microscopie pour un technicien	- 5/2 jour par semaine	- 5/2 jour par semaine	- 5/2 jour par semaine	- 5/2 jour par semaine
- Nombre de technicien régulièrement disponible	- Deux techniciens	- Deux techniciens	- Un technicien	- Deux techniciens
- Nombre de technicien formé pour la microscopie	- Deux techniciens	- Cinq techniciens	- Quatre techniciens	- Deux techniciens

- Les microscopes sont bien entretenus dans tous les laboratoires.

Tableau V : Microscopie (suite).

Colorants				
- Lieux d'approvisionnement	- DRS	- DRS	- DRS et INRSP	- DRS et INRSP
- Conservation des colorants	- Dans les bidons en plastiques non transparent	- Dans les flacons colorés	- Dans les flacons colorés	- Dans les flacons colorés
- Le rythme de filtration des colorants	- Après chaque préparation	- Après chaque préparation	- Après chaque préparation	- Après chaque préparation
- La coloration des lames de contrôle	- Non effectué	- Non effectué	- Non effectué	- Non effectué
- La coloration des lames de patient	- Adéquate	- Adéquate	- Adéquate	- Adéquate

- Les colorants ne sont filtrés qu'une fois après leur préparation. Aucun laboratoire ne pratique le contrôle de qualité pour les nouveaux lots de colorants.

Tableau V : Microscopie (suite).

- Les dates de fabrication et d'expiration sont- elles indiquées sur les flacons de colorants	- Oui	- Non	- Non	- Non
Etalement				
- Portion purulente	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Epaisseur	- Inadéquate	- Inadéquate	- Inadéquate	- Inadéquate
- Superficie	- Inadéquate	- Inadéquate	- Inadéquate	- Inadéquate
Matériel disponible				
- Colorant	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Lames	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Crayon diamant	- Non	- Oui	- Oui	- Non
- Boite de conservation des lames	- Oui	- Oui	- Oui	- Non

- Seul Kayes indique, les date de fabrication et d'expiration sur les flacons de colorant.

Tableau V : Microscopie (suite et fin).

Lecture				
- La quantification des lames	- Adéquate	- Adéquate	- Adéquate	- Adéquate
- Un contrôle positif et négatif sont-ils inclus	- Non	- Non	- Non	- Non
- Combien de champs microscopiques sont-ils lus	- 300 champs	- 300 champs	- 300 champs	- 300 champs

- Tous les techniciens lisent 300 champs pour chaque lame

Tableau VI : Résultats de la lecture des lames.

	CSRef Kayes	CSRef CII	CSRef CIII	CSRef CVI
Registre pour les résultats	- Présent	- Présent	- Présent	- Présent
Rapport pour les résultats	- Présent	- Absent	- Présent	- Présent
Le rapport standardisé contient : - Le nom du médecin demandeur - le numéro de l'échantillon - Le numéro du patient (si sous traitement) - Les dates de prélèvement - L'aspect du spécimen - Les résultats avec quantification - La date de l'analyse - Le nom du technicien	- Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui		- Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui	- Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui - Oui
Le suivi bactériologique est-il fait	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- 2 mois après le début du traitement	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- 5 mois après le début du traitement	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- A la fin du traitement	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui

Tableau VII : Santé et sécurité.

	CSRef Kayes	CSRef CII	CSRef CIII	CSRef CVI
Les gants et les blouses	Non disponible	Disponible	Disponible	Non disponible
Protocole en cas d'accident générant des aérosols	Non disponible	Non disponible	Non disponible	Non disponible
Les désinfectants	Disponibles	Disponibles	Disponibles	Disponibles
L'incinération du matériel contaminé est elle faite	Adéquatement	Adéquatement	Adéquatement	Adéquatement
Les paillasses sont elles nettoyées en fin de journée	Oui	Oui	Oui	Oui
Poubelles contenant les crachoirs sont elle vidées quotidiennement	Oui	Oui	Oui	Oui

Tableau VIII : Appréciation générale sur le laboratoire.

	CSRef Kayes	CSRef CII	CSRef CIII	CSRef CVI
Les patients sont satisfait de				
- Orientation vers le laboratoire	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Attitude, amabilité	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Disponibilité des agents	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui
- Délais pour obtenir les résultats	- Oui	- Oui	- Oui	- Oui

Tableau IX : Nombre d'examen microscopique fait dans les différents CSRef en 2004.

(Source registre de la tuberculose)

CSRef	Nombre total de microscopies	Nombre de lames positives	Nombre de lames négatives
Kayes	807	101	706
Commune II	2306	274	2032
Commune III	1022	132	890
Commune VI	3771	743	3028
Total	7906	1250	6656

Le plus grand nombre de microscopies a été effectuée en commune VI en 2004.

Tableau X : Résultat de la microscopie des huit dernières semaines précédant l'enquête.

CSRef	Nombre de lames	Résultats positifs	Résultats négatifs
Kayes	457	58	399
Commune II	374	71	303
Commune III	186	28	158
Commune VI	733	97	636
Total	1750	258	1496

Le plus grand nombre d'examen microscopique a été fait au CSRef de la commune VI durant les huit semaines qui ont précédé notre étude (733), suivi du CSRef de Kayes (457).

4.2 Résultat de la microscopie des lames lues ou relues à l'INRSP

Tableau XI : Résultat des frottis de lames faits et colorés par les CSRef et relus à l'INRSP (routine)

CSRef	Nombre de lames	Résultat CSRef		Résultat INRSP	
		Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs
Kayes	40	40	0	40	0
Commune II	60	30	30	29	31
Commune III	234	145	89	143	91
Commune VI	20	10	10	10	10
Total	354	225	129	222	132

Le CSRef de la commune III a envoyé le plus grand nombre de lames pour le contrôle de qualité à l'INRSP.

Tableau XII : Résultat des frottis de lames faits aux CSRef, colorés et lus à l'INRSP.

CSRef	Nombre de lames	Résultat CSRef		Résultat INRSP	
		Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs
Kayes	10	0/2	8/8	2	8
Commune II	10	3/4	6/6	4	6
Commune III	10	2/2	8/8	2	8
Commune VI	10	2/3	7/7	3	7
Total	40	7	29	11	29

Les résultats des frottis négatifs de tous les quatre sites sont concordants avec ceux de l'INRSP. Excepté le CSRef de la commune III, toutes les autres communes ont trouvé un faux résultat parmi les positifs.

4.3 Résultat de la microscopie des lames lues ou relues par les laboratoires participants

Tableau XIII : Résultat des frottis de lames faits et colorés à l'INRSP et relus par les CSRef.

CSRef	Nombre de lames	Résultat INRSP		Résultat CSRef	
		Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs
Kayes	40	20	20	18/20	20/20
Commune II	40	20	20	12/20	20/20
Commune III	40	20	20	20/20	20/20
Commune VI	40	20	20	20/20	20/20
Total	160	80	80	70	80

Les CSRef des communes III et VI ont trouvé les mêmes résultats que l'INRSP. Le CSRef de la commune II a trouvé moins de résultats concordants parmi les résultats positifs de l'INRSP (12/20) suivi de Kayes (18/20).

Tableau XIV : Résultat des frottis de lames faits à l'INRSP, colorés et lus par les CSRef.

CSRef	Nombre de lames	Résultat INRSP		Résultat CSRef	
		Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs
Kayes	10	4	6	2/4	6/6
Commune II	10	4	6	1/4	6/6
Commune III	10	2	8	2/2	8/8
Commune VI	10	0	10	0/0	10/10
Total	40	10	30	5	30

Excepté les CSRef des communes III et VI, les CSRef de Kayes et de la commune II ont trouvé moins de résultats concordant parmi les frottis positifs. Pour les frottis négatifs, tous les sites ont les mêmes résultats que ceux de l'INRSP.

4.4 Compatibilité des résultats et les erreurs de quantification des laboratoires participants

Tableau XV : Cas des frottis de lames faits et colorés par les CSRef et relus à l' INRSP (routine).

CSRef	Nombre de lames	Résultats concordants	Faux		Erreurs de quantification
			positifs	négatifs	
Kayes	40	40 (100%)	0	0	22 (55%)
Commune II	60	53 (88,3%)	1	6	14 (23,3%)
Commune III	234	228 (97,4%)	4	2	105 (44,9%)
Commune VI	20	20 (100%)	0	0	5 (25%)
Total	354	341 (96,3%)	5	8	146 (41,2%)

Les résultats sont concordants à plus de 80% dans tous les sites. Quant aux erreurs de quantifications elles sont plus élevées à Kayes (55%) suivi du CSRef de la commune III (44,9%). Les faux résultats sont enregistrés dans les CSRef de la commune II (7/60 soit 11,6%) et dans le CSRef de la commune III (6/234 soit 2,6%).

Tableau XVI : Cas des frottis de lames faits aux CSRef, colorés et lus à l'INRSP

CSRef	Nombre de lames	Résultats Concordants	Faux		Erreurs de quantification	Scores (%)
			positifs	Négatifs		
Kayes	10	8 (80%)	0	2	0 (0,0%)	80
Commune II	10	7 (70%)	1	2	1 (10%)	65
Commune III	10	10 (100%)	0	0	0 (0,0%)	100
Commune VI	10	9 (90%)	0	1	1 (10%)	85
Total	40	34 (85%)	1	5	2 (5%)	82,5

Le taux de concordance le plus élevé est observé en commune III (100%), et le plus faible en commune II (70%).

Le score d'approbation est atteint dans tous les sites sauf en commune II.

Tableau XVII : Cas des frottis de lames faits et colorés à l'INRSP et relus par les CSRef

CSRef	Nombre de lames	Résultats Concordants	Faux positifs	Faux Négatifs	Erreurs de quantification
Kayes	40	40 (100%)	0	0	16 (40%)
Commune II	40	32 (80%)	8	0	1 (2,5%)
Commune III	40	40 (100%)	0	0	14 (35%)
Commune VI	40	40 (100%)	0	0	13 (32,5%)
Total	160	152 (95%)	8	0	44 (27,5%)

Seule le CSRef de commune II a enregistré des faux résultats (8/40 soit 20%).

Le taux de concordance est de 100% dans tous les CSRef sauf en commune II qui est à 80%.

Tableau XVIII : Cas des frottis de lames faits à l'INRSP, colorés et lus par les CSRef

CSRef	Nombre de lames	Résultats concordants	Faux positifs	Faux Négatifs	Erreurs de quantification	Score (%)
Kayes	10	7 (70%)	0	2	2 (20%)	70
Commune II	10	6 (60%)	0	3	0 (0,0%)	70
Commune III	10	10 (100%)	0	0	1 (10%)	95
Commune VI	10	10 (100%)	0	0	0 (0,0%)	100
Total	40	33 (82,5%)	0	5	3 (7,5%)	83,75

Le taux de concordance le plus faible est observé en commune II.

Le score d'approbation est dépassé dans le CSRef des communes VI et III, et est inférieur à 80% à Kayes et en commune II.

4.5 Qualité des frottis et de la coloration des lames de routine des laboratoires

participants :

Tableau XIX : Résultat de la qualité de la coloration des frottis faits par les laboratoires participants

CSRef	Nombre de lames	Coloration adéquate	Coloration inadéquate
Kayes	40	32 (80%)	8 (20%)
Commune II	60	45 (75%)	15 (25%)
Commune III	234	223 (95%)	11 (5%)
Commune VI	20	19 (95%)	1 (5%)
Total	354	319 (86,2%)	35 (13,8%)

La qualité de la coloration varie de 75% en commune II à 95% dans les CSRef des communes III et VI

Tableau XX : Résultat de la qualité de l'étalement des frottis fait par les laboratoires participants

CSRef	Nombre de lames	Superficie		Epaisseur	
		Adéquate	Inadéquate	Adéquate	Inadéquate
Kayes	40	13 (32,5%)	27 (67,5%)	8 (20%)	32 (80%)
Commune II	60	20 (33,3%)	40 (66,7%)	12 (20%)	48 (80%)
Commune III	234	78 (33,3%)	156 (66,7%)	59 (25,2%)	175 (74,8%)
Commune VI	20	3 (15%)	17 (85%)	5 (25%)	15 (75%)
Total	354	114 (32,2%)	240 (67,8%)	84 (23,7%)	270 (76,3%)

La superficie et l'épaisseur de l'étalement sont inadéquates dans les CSRef avec respectivement des taux qui varient de 66,7% à 85%, et de 75 à 80%.

V COMMENTAIRE ET DISCUSSIONS

V COMMENTAIRE et DISCUSSION

5.1 Evaluation des laboratoires des CSRef :

5.1.1 Présentation physique des laboratoires :

L'aménagement d'un laboratoire de diagnostic microscopique de la tuberculose selon le modèle de l'UICMR (39) est rare dans notre contexte. Mais les quatre laboratoires sont conformes à un schéma d'aménagement (voir paragraphe 3.5.3.2), permettant la réalisation de la microscopie de la tuberculose.

Tous les quatre laboratoires répondent aux critères de bonne organisation (cf. tableau III), le laboratoire du CSRef de Kayes a une seule fenêtre, les autres ont au moins deux fenêtres. Quant au cahier de protocole, il est quasi inexistant dans tous les centres évalués. Cette absence est préjudiciable à la continuité du service de microscopie de la tuberculose, vu les informations contenues dans ce cahier (cf. annexe III).

5.1.2 Matériel :

Les matériels sont majoritairement disponibles (voir paragraphe 3.4.1). On remarque l'absence de crayon diamant à Kayes et en commune VI, l'absence de boîte de conservation en commune VI. Excepté Kayes les autres centres ont deux microscopes. Dembélé (19) avait révélé l'absence de poubelles avec couvercle et de séchoir pour lames à point G et en commune I. L'absence de crayon diamant peut être nuisible pour le contrôle de qualité, car les numéros marqués avec les feutres peuvent s'enlever au cours de la coloration ou dans les cas de mauvaises conservations.

L'absence de boîtes de conservation rend le contrôle de qualité très difficile si non impossible par ce que, les lames seront mal conservées.

5.1.3 Préparation des colorants :

La préparation des colorants est conforme à la formule de Ziehl Neelsen à chaud (voir paragraphe 3.4.2.2.2). Cette formule est recommandée par le PNLT (6). La préparation des colorants se fait au niveau du Laboratoire National de Référence de la Tuberculose à l'INRSP.

5.2 Recueil des crachats :

Les différents éléments retenus pour le recueil des crachats sont disponibles dans les quatre CSRef (cf. tableau IV). Dembélé (19) avait remarqué l'absence de la requête d'analyse à l'hôpital du point G. L'absence de requête peut avoir un impact négatif sur le suivi et la recherche des patients perdus de vue au cours du traitement. La retranscription des données sur la fiche standardisée n'est fait qu'en commune III.

A part le laboratoire national de référence de la tuberculose, aucun laboratoire ne pratique la culture. Par conséquent ils n'ont pas de requête pour la culture.

Les CSRef de Kayes, CII et CIII ont un service d'accueil pour les malades. Depuis 2001 jusqu'à maintenant le CSRef CVI n'a pas de service d'accueil pour les malades.

Les CSRef qui ont fait l'objet de notre étude réfèrent les malades en premier lieu au laboratoire.

Les crachoirs sont remis aux malades par les techniciens. Ces crachoirs sont adéquats.

Quant aux crachoirs souillés, ils sont incinérés au CSRef de Kayes, désinfectés avec l'eau de javel au CSRef CII et au grésil au CSRef CIII et sont jetés au CSRef CVI.

Les crachoirs sont disponibles dans les quatre centres. Tous les quatre centres sont approvisionnés en crachoir par les directions régionales de la santé. Lors de la visite à Kayes il y avait une rupture de stock de crachoir, qui a été rapidement comblé.

Chaque laboratoire dispose d'un endroit pour cracher. Cet endroit est situé à l'extérieur du CSRef à Kayes, dans la cour en dehors du laboratoire au CSRef CII, à quelques mètres du laboratoire dans la cour au CSRef CIII et dans la cour au CSRef CVI.

Seul le CSRef de Kayes gardent les excédents de crachats dans le réfrigérateur. La chaleur peut détériorer les crachats lorsqu'ils ne sont pas étalés le jour du prélèvement, s'ils ne sont pas gardés dans le réfrigérateur.

5.3 Etalement coloration et lecture :

La charge journalière des différents CSRef est :

Kayes 12 crachats par jour.

Commune II 10 crachats par jour.

Commune III 5 crachats par jour.

Commune VI 19 crachats par jour.

Ces charges sont relativement modérées. Le temps réservé à la microscopie de la tuberculose et les autres activités du laboratoire augmentent la charge journalière des techniciens, ce qui peut entraîner des préjudices à la microscopie de la tuberculose. Les charges ci-dessus énumérées ne sont que des moyennes de 8 semaines de travail donc masquent la charge réelle des techniciens.

Tous les centres consacrent 5/2 journées pour la microscopie par semaine.

Le nombre de technicien formé à la microscopie de la tuberculose est peu pour certains centres, il est de deux technicien à Kayes et en commune VI et de cinq en commune II et III. Il est nécessaire d'augmenter ce nombre dans les 2 premiers CSRef (Kayes, commune VI).

Au début de l'étude, la méthode de coloration était celle à froid. Les colorants fournis par la direction régionale de la santé ou par l'INRSP étaient disponibles en poudre ; donc les techniciens les préparaient eux-mêmes. Actuellement les colorants sont préparés par l'INRSP et distribué à tous les centres. Aucun des laboratoires ne pratiquent le contrôle positif et le contrôle négatif des nouveaux lots de colorants. (cf. tableau V).

Les laboratoires ne pratiquent pas la filtration des colorants à chaque fois qu'ils doivent colorer les lames (cf. tableau V). Les colorants une fois préparés et filtrés sont conservés et utilisés sans que d'autres filtrations ne soient faites. Le PNLT (6) recommande de filtrer les colorants à chaque fois qu'on doit faire la coloration. La non application de cette règle est nuisible pour la coloration car les colorants se sédimentent avec le temps, cette sédimentation provoque l'apparition des grains de colorants sur lame à la lecture. En plus de cela les colorants doivent être gardés dans les flacons colorés.

Un frottis trop épais est toujours mal coloré. Avec une mauvaise coloration la lecture est difficile si non impossible dans les cas extrêmes.

Dans les quatre centres, nous avons constaté un problème d'épaisseur et de forme des frottis, qui ne sont pas tout a fait rectangulaire comme recommandé par le programme. Néanmoins ils choisissent tous la portion purulente du crachat pour l'étalement.

5.4 Résultats de la lecture des lames :

Dans les centres, les résultats sont enregistrés et communiqués comme indiqué sur la fiche standard. Le tableau VII donne des renseignements sur les centres concernant les résultats. Dans les quatre CSRef il y a un registre standardisé pour les résultats. Seule la commune II n'a pas de rapport pour les résultats. Dembélé (19), a révélé la présence de ces documents pour l'enregistrement et la communication des résultats, en commune I, V et à l'hôpital du point G.

Le suivi bactériologique est fait dans les quatre CSRef. Sur les 8 mois que durent le traitement le suivi est effectué à 2 mois du début du traitement, à 5 mois de traitement et à la fin du traitement (huitième mois). La stratégie DOT recommande de faire le suivi des malades de la même façon (39). Donc le suivi bactériologique est correct dans tous les centres.

5.5 Santé et sécurité :

L'UICMR (39), recommande de porter obligatoirement la blouse, l'usage de gants, laver les mains et les tremper dans l'alcool à 70⁰. L'utilisation des masques chirurgicaux et des poubelles métalliques avec couvercle.

Le PNLT (6), ne recommande pas l'utilisation des gants. Le tableau VIII nous donne les informations suivantes :

Les gants et les blouses sont indisponibles à Kayes et en commune VI. Ils sont disponibles en commune II et III. Il n y a pas de protocole en cas d'accident générant des aérosols dans aucun des laboratoires. Les désinfectants sont disponibles dans les quatre centres. Les matériels contaminés sont incinérés adéquatement. Les paillasses sont

nettoyées quotidiennement après le travail. Les poubelles contenant les crachoirs sont vidées quotidiennement à Kayes, en commune II et VI. La commune III évacue le contenu de leur poubelles à l'hôpital du point G ou ailleurs, faute d'incinérateur.

Sur tout autre plan l'appréciation générale sur le laboratoire de la part des patients est favorable. Les patients semblent être satisfait de l'orientation, de l'attitude, de l'amabilité et de la disponibilité des agents des quatre laboratoires. Le délai pour l'obtention des résultats est généralement respecté dans ces laboratoires (cf. tableau IX)

5.6 Prise en charge et suivi des malades :

La DOTS est pratiquée dans les centres évalués. Cette stratégie recommande que pour les deux premiers mois, les agents de santé s'assurent que les médicaments sont bien administrés tous les jours. La stratégie DOT fournis un système de surveillance des patients à des intervalles réguliers jusqu'à leur guérison.

Les malades perdues de vue sont recherchées.

La fréquence à laquelle les médicaments sont remis aux malades est la suivante :

- Pour les deux premiers mois les médicaments sont donnés une fois par semaine.
- Pour plus de deux mois de traitement, on donne la dotation mensuelle.

Les patients proches du centre y passent tous les jours pour l'administration des médicaments.

Pour les patients lointains, les médicaments leurs sont donnés hebdomadairement avec insistance sur leur prise (6, 19,39).

5.7 Microscopie des lames lues ou relues à l'INRSP :

5.7.1 Lames faites et colorées par les CSRef et relues à l'INRSP (lames de routines)

La commune III a fournis le plus grand nombre de lame pour le contrôle de qualité avec 234 lames. Selon les résultats CSRef ces lames sont composées de : 40 lames positives pour Kayes, 30 lames positives, 30 négatives en commune II, 145 lames positives et 89 négatives en commune III et 10 lames positives et 10 lames négatives en commune VI.

L'INRSP a eu une composition différente dans certains CSRef (commune II et III) dont 143 positifs et 91 négatifs en commune III ; 29 positifs et 31 négatifs en commune II (cf. tableau XI). Seule la commune III remplit nos critères d'échantillonnage. Ramarokoto H (31), avait eu en 1999 ; 343 lames comme le plus grand nombre de lame collectée à Antananarivo, pour le contrôle de qualité. Parmi ces 343 lames, 174 étaient positives et 169 négatives. Ces lames ont été choisies selon les mêmes critères. Nous constatons que ces résultats sont meilleurs par rapport aux nôtres.

5.7.2 Lames faites aux CSRef, colorées et lues à l'INRSP :

Le tableau XII montre que pour un total de 40 lames l'INRSP a trouvé 7 positifs et 33 négatifs. Les CSRef ont trouvé 11 positifs et 29 négatifs.

5.8 Microscopie des lames lues ou relues par les laboratoires participants :

5.8.1 Lames faites et colorées à l'INRSP et relues par les CSRef :

Ces lames composées de 20 positives et 20 négatives pour chaque centre ont donné les résultats suivants : en commune II 18 positifs et 22 négatifs, à Kayes 12 positifs et 28 négatifs. Cette différence de résultats proviendra du fait que Kayes et la commune II ont reçu un grand nombre de positif faible. Cela évoque un problème de lecture (manque de concentration au moment de la lecture) (cf. tableau XIII). Les résultats des autres centres sont conformes à celui de l'INRSP. Ramarokoto. H (31), avait la même composition en pourcentage (50% de positif et 50% de négatif) à Antsiranana, Mahajanga et Toliara. Quant aux autres localités de son étude, la composition alternait entre 49% à 51% de positifs ou de négatifs.

5.8.2 Frottis de lames faits à l'INRSP, colorées et lus par les CSRef :

Le tableau XIV montre la composition de ces frottis. Ainsi selon l'INRSP ces lames sont composées de 10 positifs et 30 négatifs sur un total de 40 lames. Quant aux CSRef il est de 5 positifs et 35 négatifs ; cette différence provient de Kayes et de la commune II qui ont trouvé respectivement 2 positifs sur 4 et 1 positif sur 4 lames envoyées par l'INRSP.

Buzingo. T (27), a trouvé à Bujumbura (Burundi), 781 négatifs sur 815 ; 176 positifs sur 189. Ces chiffres sont meilleurs par rapport à ceux de notre étude. Donc il sera nécessaire de recycler les techniciens des laboratoires ayant des faibles résultats (Kayes et la commune II).

5.9 Compatibilité des résultats et les erreurs de quantification des laboratoires participants :

5.9.1 Frottis de lames faits et colorés par les CSRef, et relus par l'INRSP (lames de routine).

Le tableau XV montre le taux de concordance le moins élevé en commune II avec 88,3%, ensuite vient la commune III avec 97,4%. Cela peut être due aux conditions de conservation des lames qui sont souvent gardées dans les endroits humides, ce qui favorise le développement des moisissures sur certaines lames, rendant ainsi la reconnaissance des BK difficile ou voir même impossible. Nguyen T. N. L (30), a eu en 1997 à Hanoi (Vietnam) pour une étude menée au cours de 6 mois, 117 lames discordantes. Macondo. E (28), a trouvé en 2000 au Sénégal, sur 531 échantillons cliniques, 173 cultures positives. Sur ces 173 cultures positives, 103 avaient été déclarées positives à la microscopie ; donc 70 discordants. Ramarokoto. H (31), a eu 98% de concordances lors de son étude menée en 1999 à Madagascar. Ce taux est meilleur par rapport à ceux que nous avons obtenu. Donc une révision des conditions et des méthodes de travail de nos laboratoires sera nécessaire.

Quand aux erreurs de quantification le taux le plus élevé est observé à Kayes avec 55% d'erreurs de quantification ensuite vient la commune III avec 44,9%. Ces taux élevés sont dus aux fautes que la plus part des techniciens lisent seulement 5 à 10 champs microscopique pour les lames positives.

5.9.2 Frottis de lames faits aux CSRef colorés et lus à l'INRSP :

Le contenu du tableau XVI donne le taux de concordance le plus faible en commune II avec 70%, à part cette commune tous les autres ont atteint le score d'approbation, (80%) de bon résultat. Le score de la commune II est en dessous du score d'approbation (70%

de résultats concordants). Donc il serait nécessaire de former ou de recycler les techniciens de ce centre à la reconnaissance des BK. Dembélé (19) avait eu 38% d'incompatibilité en commune I. Ba. F (35) a trouvé 96,9% de concordances à Dakar (Sénégal). Ce résultat est satisfaisant par rapport à ce qu'on a obtenu en commune II, commune VI et Kayes (cf. tableau XVI). Les erreurs de quantifications sont faibles. Le taux le plus élevé vaut 10% en commune II et VI.

5.9.3 Frottis de lames faits et colorés à l'INRSP, relus par les CSRef :

On observe une amélioration des résultats avec zéro faux positif dans l'ensemble et 8 faux négatifs en commune II. Cela est peut être dû aux fautes que la commune II a reçu beaucoup de positifs faibles dans son lot de lame, donc le manque de concentration à la lecture ou lecture insuffisante moins de 300 champs par lame, peuvent entraîner un faux résultat (cf. tableau XVII). Nguyen T. N. L (30), a eu pour 117 lames discordantes, 115 (98,3%) de faux négatifs et 2 (5,4%) de faux positifs. Ramarokoto. H (31), a trouvé la quantité la plus élevée de discordant à Antananarivo 7 faux positifs et 3 faux négatifs et à Toliara 5 faux positifs et 5 faux négatifs. Dans les deux cas, le total des lames était respectivement 343 et 342.

5.9.4 Frottis de lame faits à l'INRSP, colorés et lus par les CSRef :

Le tableau XVIII montre une nette amélioration. Sur un total de 40 lames nous avons trouvé zéro faux positif 5 faux négatifs dont 3 en commune II et 2 à Kayes. Le taux d'erreur de quantification le plus élevé a été observé à Kayes (20%). D'après notre système de score tous les techniciens ont un niveau de reconnaissance de BK acceptable à part la commune II.

5.10 Qualité des frottis et de la coloration des lames de routine des laboratoires participant :

5.10.1 Qualité de la coloration des frottis faits par les laboratoires participants :

Dans le tableau XIX nous constatons que la commune III et VI viennent en tête avec 95% de bonne coloration, ensuite Kayes avec 80% et 75% en commune II. Le pourcentage de

colorations inadéquates, bien vraies que faibles, ils sont surtout dus aux conditions de conservations des lames. Une attention particulière doit être prêtée à cela.

5.10.2 Qualité de l'étalement des frottis faits par les laboratoires participants

Le tableau XX montre les proportions les plus faibles de lames de superficie et d'épaisseur inadéquate 32,5% à Kayes, 33,3% en commune II et III et 15% en commune. Cela peut avoir comme origine la non application des principes du PNLT c'est-à-dire frottis rectangulaire et couvrant les 2/3 de la lame sans atteindre ses bords (6). Une formation pratique doit être organisée à l'intention de tous les techniciens de laboratoire pour l'étalement des échantillons d'expectoration. Ramarokoto. H (31) a eu pour les bon frottis : 44% à Antananarivo, 33% à Antsiranana et 89% à Toamasina. Ces résultats sont meilleurs par rapport aux nôtres.

VI CONCLUSION ET RECOMMANDATION

6.1 Conclusion

Au terme de cette étude nous pouvons dire que le contrôle de qualité est applicable dans le système décentralisé de dépistage de la tuberculose à Bamako et à Kayes, en bref sur le plan national. Les ressources humaines et matériel disponibles sont suffisantes pour la réalisation d'une microscopie acceptable de la tuberculose. Le contrôle de qualité a eu un intérêt pour les techniciens des laboratoires évalués ; il leur a permis d'évaluer leur performance et de la comparer à celle du laboratoire national de référence de la tuberculose. L'instauration d'un système de contrôle de qualité de la microscopie permettra le maintien de la performance et l'amélioration des déficiences constatées au niveau de certain centre de santé de référence.

6.2 Recommandations :

Ainsi au terme de ce travail nous recommandons :

6.2.1 Au Laboratoire National de Référence de la Tuberculose :

- D'intensifier les sessions de formations des techniciens des laboratoires périphérique pour réduire d'avantage les taux de discordance.

6.2.2 Au programme national de lutte contre la tuberculose :

- D'assurer la continuité du système de contrôle de qualité.

6.2.3 Aux Directions Régionales de la Santé de Kayes et de Bamako :

- Mettre plus de moyens à la disposition des laboratoires de la microscopie de la tuberculose.

VII BIBLIOGRAPHIE

Contrôle de qualité du dépistage microscopique de la tuberculose.....Sanogo thesis

VII BIBLIOGRAPHIE

- 1) **Anonyme.** Assurance qualité de l'examen microscopique des expectorations p: 85 Révisé 10/6/2005. 1600 Clifton Road, Atlanta GA. 30030 USA. www.google.fr
- 2) **Sissouma. B.** Contribution a l'étude bactériologique de la tuberculose pulmonaire à Bamako 2000 – 2001. Thèse de pharmacie n° 01p 53
- 3) **APHL, CDC, IUATLD, KNCV, RIT, OMS (2004).** Contrôle externe de qualité microscopique directe d'expectoration pour la recherche des Bacilles Acido Alcoolo Résistants. P: 113. Association of Public Health Laboratories 2025 M Street, NW Suite 550 Washington, DC 20036; 202.822.5227.
- 4) **Armand Van deun (1998).** Contrôle de qualité externe de l'examen microscopique des frottis d'expectoration une question de technique rigoureuse et d'organisation. INTJ. TUBERC LUNG DIS 2(9) 756 765.
[http:// www.medcentral.com](http://www.medcentral.com) (10/06/05)
- 5) **WHO OMS.** Global tuberculosis control, surveillance, planning, financing. WHO Report 2004. Genève.
- 6) **PNLT, LNR, INRSP (Mali).** Guide technique de laboratoire à l'intention des personnels de laboratoire version ravisée 2004. Bamako.
- 7) **OMS et UICTMR (1997).** Guide pour la surveillance de la résistance bactérienne aux médicaments antituberculeux. Ed Flavia Bustreo. Pp 36, Suisse Genève.
- 8) **Niaré. M (2001).** Essai d'évaluation du test immunochromatographique << Tuberculosis ICT>> dans le diagnostic biologique de l'infection par *Mycobacterium tuberculosis* chez les patients suspects de tuberculose au DAT a Bamako thèse de pharmacie n° 01p38.
- 9) **Gentilini. M, Duflo. B (1986).** Médecine tropicale. 4^{eme} ed Flammarion médecine science. Pp 291 et 302, Paris.
- 10) **Nadia ait Khaled et Donald enarson (1999).** Tuberculose manuelle pour les étudiants en médecine. Ed OMS. Genève. Pp 149
- 11) **Sanogo. N'f.** Etude de la résistance aux antituberculeux. Thèse de pharmacie. Bamako 1995.

- 12) INRSP (2004) laboratoire national de référence de la tuberculose (Mali).**
Préparation des lames de panel connu pour le contrôle de qualité. (Document photocopié. Pp 6.
- 13) Galy. P, Voisin. C, Bernard. J, Graille, M (1968).**
La tuberculo-pneumoconiose. Ed Masson et Compagnie, 120 boulevard Saint Germain Paris (VI), Pp 133.
- 14) PNLT (Mali).** Rapport d'activités année 2004. pp 36
- 15) Einis. V (1967).** Tuberculose. Ed Mir (Moscou). Pp 232.
- 16) Nguyen. T. L, Wells. C. D, Binkin N. J (1999).** Contrôle de qualité de l'examen microscopique des frottis pour la recherche des BAAR, le problème de relecture a l'aveugle INTJ. TUBERC. LUNG. DIS 3 (6) : 483-487 1999 IUATLD.
- 17) Pierre. A** La tuberculose à l'heure du SIDA. Médecine tropicale.
http://medecinotropicale.free.fr/cours/tuberculose_et_sida.htm (06/04/05).
- 18) Van Deun. A, Portaels. F** Limites et exigences du contrôle de qualité de l'examen microscopique, des expectorations pour la recherche de bacille acido alcoolo résistant. INTJ. TUBERC. DIS. 2 (9) : 756 765. 1998 IUATLD.
www.iuatld.org/full-picture/fr/educ-materials/ytld/liste-pdfs.phtml?id-theme=15
(06/04/05).
- 19) Dembélé. H. N. S.** Evaluation de l'implantation d'un système d'assurance qualité du dépistage de la tuberculose par la microscopie dans le cadre de la décentralisation du diagnostic de la tuberculose à Bamako 2003, thèse de pharmacie, n^o 02p04.
- 20) OMS.** Lutte antituberculeuse dans les populations réfugiées. Manuelle de terrain inter organisation. WHO/TB/97. 221. Pp 72.
- 21) OMS.** Les écoles de médecine et la lutte contre la tuberculose. Rapport d'un atelier de l'OMS. Rome, Italie 23-31 Octobre 1997. WHO/TB. 97. 238. Pp 54.
- 22) OMS (2003).** Maladie transmissible dans la région africaine de l'OMS. Bureau régional pour l'Afrique. Brazzaville. Pp 86.
- 23) OMS (1996).** La tuberculose en Afrique, un continent, 46 pays un combat incertain couronné de succès. OMS, bureau régional pour l'Afrique. Brazzaville. Pp 16.

- 24) **OMS, UICTMR, CDC, OPS, INDRE, APHL.** L'examen microscopique direct de BAAR. 2000 OMS. Genève. Pp 41.
- 25) **Ouologuem. O. K.** Evaluation de la prévalence de l'infection à VIH chez les malades tuberculeux et de la résistance des mycobactéries aux antibiotiques à Bamako. Thèse de pharmacie Bamako 2002.
- 26) **Gentilini. M.** *Medicine Tropicale – Tuberculoses*, 5^{eme} Ed. Edition. Flammarion, paris, 1993.
- 27) **Buzingo. T, Sanders. M, Masabo. J.P, Nyandwi. S, Van Deun. A.** La recoloration systématique des frottis d'expectoration pour le contrôle de qualité est utile au Burundi. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003 ; 439 444.
www.bimedcentral.com (02/04/06).
- 28) **Macondo. E. A, Ba. F, Toure-Kane. N. C, Kaire. O, Gueye-Ndiaye. A, Gaye-Diallo. A, Boye. C. S, Mboup. S.** Amélioration du diagnostic de la tuberculose par le Mycobacteria Growth Indicator (M.G.I.T) dans un laboratoire de pays en développement. *Bull Soc Bethol Exot* 2000 93 2 97 100.
- 29) **OMS (1996).** Tuberculose et VIH manuel clinique. Genève. Pp 149.
- 30) **Nguyen. T. N. L, Wells. C. D, Binkin. N. J, Pham. L. D, Nguyen. V.C.** Importance du contrôle de qualité de l'examen microscopique des expectorations : l'effet des erreurs de lecture sur les décisions thérapeutiques et les résultats finaux. *INT J TUBERC LUNG DIS* 3 (6): 483-487. 1999. IUATLD.
www.biomedcentral.com (20/03/06).
- 31) **Ramarokoto. H, Cauchoix. B, Rakotoherisaonina. A, Rakotoherisoa. R, Ralamboson. M, Rakotondramarina. D.** Réseau des laboratoires de microscopie pour le diagnostic de la tuberculose à Madagascar : contrôle de qualité des lames en 1999. *Arch. Inst Pasteur Madagascar* 2000 ; 66(1&2) : 18-22.
www.biomedcentral.com (20/03/06)
- 32) **Anonyme.** Compte rendu de la conférence nationale de concertation sur la tuberculose. www.phac-asp-gc-ca/publicat/ccdr-rmtc/98vol24/24s2/24s2b-f.html (20/03/06).

- 33) OMS (2003). Les défis actuels de la santé dans le monde
www.who.int/whr/2003/chapter1/fr/index3.html (25/03/06)
- 34) Pierre. A. La médecine tropicale. Actualités 2005. Médecine tropicale diplôme des pays de l'océan indien. Mise à jour le 31/10/2005.
<http://medecinetropicale.free.fr/cours/medecinetropicale.htm> (02/04/06).
- 35) Ba. F, Rieder. H. L. Comparaison de la microscopie à fluorescence avec la technique de Ziehl Neelsen pour la bacilloscopie de l'expectoration. INT J TUBERC LUNG DIS 3 (12) : 1101-1105. 1999. IUATLD. www.medicentral.com (02/04/06).
- 36) Cissé. B. Z. Approche centrée sur les patients tuberculeux. Analyse des stigmas chez les prestataires de soins dans les centres de santé des communes I, V et VI de Bamako thèse de médecine. Bamako 2005.
- 37) Larousse (1998), Paris, Larousse Bordas.
- 38) OMS (1997). Principes pour la prise en charge de la tuberculose a bacilles résistants. OMS Genève. Pp 47.
- 39) UICTMR (1996). Guide de la tuberculose pour les pays a faibles revenus. 4^{eme} édition. Pp 65.
- 40) Ramarokoto. H, Rakotoarisaonina. A, Rasolonaivalona. T, Rakotondramarina. D, Cauchoix. B, Rasolofo. V, Chanteau. S, Razafininana. J. Contrôle de qualité inter laboratoires centraux pour le diagnostic de la tuberculose par microscopie à Madagascar. Arch Inst Pasteur Madagascar 1998 ; 64 (1&2) : 34-36. www.biomedcentral.com (02/04/06).

Localisation et résumé de la thèse

Nom : **Sanogo**

Prénom : **Souleymane**

Titre : Contrôle de qualité des examens microscopiques dans le diagnostic et le suivi de la tuberculose dans un système décentralisé au Mali : Cas des centres de santé de référence de Kayes et des communes II, III et VI du District de Bamako.

Année académique : 2005 - 2006

Pays : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Secteur d'intérêt : bactériologie santé publique

Résumé

La tuberculose est devenue depuis quelques années, un problème majeur de santé publique et de développement socio économique à travers le monde et en Afrique. La maîtrise de la tuberculose est confrontée à des problèmes. L'un de ces problèmes est la qualité du diagnostic microscopique.

Le but de notre étude est d'évaluer le système de dépistage de la tuberculose par un contrôle de qualité de la microscopie dans les CSRef des communes II, III, VI de Bamako et du CSRef de Kayes.

Pour atteindre ce but, nous avons mené une étude transversale sur le diagnostic microscopique de la tuberculose dans les différents laboratoires participants.

L'étude a concerné les lames et la structure des laboratoires. L'échantillon était constitué de lames collectées ou envoyées au près des laboratoires participants. Pour l'instauration du système de contrôle de qualité, les lames furent classées dans les boîtes de conservation de lames, pour leur transport d'un laboratoire à un autre. Le jeu de lame pour contrôle de qualité et la relecture en aveugle ont été employés pour le contrôle de qualité des lames. La visite sur terrain a permis l'évaluation de la structure des laboratoires.

Ainsi en 2004, l'ensemble de nos laboratoires participants ont réalisé 7906 microscopies. Le CSRef de la commune VI a réalisé le plus grand nombre de microscopie ; mais c'est la commune III qui a fournis le plus grand nombre de lame pour le contrôle de qualité à l'INRSP. Nous avons décelé 5 faux positifs et 8 faux négatifs sur les 354 lames collectées au près des laboratoires participants ; soit 96,3% de concordance. Un faux positif et 5 faux négatifs ont été décelé sur les 40 frottis de lames non colorés collecté au près des CSRef ; Soit une concordance de 85%. Le taux de lame de bonne coloration est de 86,2%.

Quant à l'équipement et les ressources humaines, nous avons trouvé :

- treize techniciens formés à la microscopie, dont sept sont régulièrement disponibles, pour l'ensemble des centres.

Une bonne organisation des locaux, les produit et matériels nécessaire pour la microscopie sont disponibles (microscope, colorant, lames...).

La mise en place du contrôle de qualité est nécessaire pour assurer la fiabilité du dépistage microscopique de la tuberculose dans le système décentralisé.

Mots clés : Tuberculose, dépistage, microscopie, décentralisation, contrôle de qualité, Mali.

ANNEXE I

Fiche de contrôle de qualité des frottis

Liste des résultats des frottis lus au laboratoire de.....

Relecture :

LaboratoirePériode(mois).....Année.....

Nombre total de frottis sélectionnés.....

Dont positifs.....négatifs.....

	Lames classées par N ^o	Résultats locaux		Lames classées	Résultats 2 ^{eme} lecture
1			1		
2			2		
3			3		
4			4		
5			5		
6			6		
7			7		
8			8		
9			9		
10			10		
11			11		
12			12		
13			13		
14			14		
15			15		
17			17		
18			18		
19			19		
20			20		
21			21		

Liste des résultats des frottis lus au laboratoire de.....

Relecture :

LaboratoirePériode(mois).....Année.....

Nombre total de frottis sélectionnés.....

Dont positifs.....négatifs.....

	Lames classées par N ^o	Résultats locaux		Lames classées	Résultats 2 ^{eme} lecture
1			1		
2			2		
3			3		
4			4		
5			5		
6			6		
7			7		
8			8		
9			9		
10			10		
11			11		
12			12		
13			13		
14			14		
15			15		
17			17		
18			18		
19			19		
20			20		
21			21		
22			22		
23			23		
24			24		

25			25		
26			26		
27			27		
28			28		
29			29		
30			30		

NB : si plus de 60 lames sélectionnées, utiliser une deuxième liste

TABLEAU DE CORRELATION DES RESULTATS DE LA RELECTURE

Résultats de la 2 ^{ème} lecture au laboratoire national	Résultats du laboratoire périphérique					
	Négatif 0/300	1 – 9/100	1+	2+	3+	Total
Négatif 0/300	correct	(faux positifs)				
1 – 9/100	(faux négatif)	(correct)				
1+			(correct)			
2+				(correct)		
3+					(correct)	
Total	(résultats négatifs au laboratoire périphérique)	(résultats positifs au laboratoire périphérique)				Total général

ANNEXE II

Questionnaire de contrôle de qualité

Nom du laboratoire.....

Date

A. Organisation du laboratoire

1. La disposition des lieux est – elle adéquate ?

1.1 Aération : OUI NON

1.2 Nombre de fenêtre de << bonne dimension >>

1.3 Lieux désignés pour chaque activité: OUI NON

2. Existe – t – il un cahier de protocole ? OUI NON

Si oui ce dernier contient- t- il:

Recueil des échantillons

Etalement

Coloration

Lecture (incluant un tableau d'équivalence pour la quantification)

Un exemple de demande d'analyse et de rapport des résultats

Un exemple de la fiche de suivi

Un protocole encas d'accident générant des aérosols

B. Recueil des crachats

1. Existe – t – il une requête standardisée de demande d'analyse

1.1 Pour la microscopie : OUI NON

Si oui...

Celle-ci contient- elle

Nom et prénom du malade

Age

Adresse complète

Centre de santé référant

Médecin référant

Nature de l'échantillon

N° de l'échantillon

Raison de l'examen (diagnostic ou suivi)

Si la raison de l'examen est pour diagnostic, la requête contient- elle

Diagnostic suspecté

Renseignement clinique

S'il s'agit de suivi de traitement, la requête indique-t-elle :

N° du patient attribué préalablement

1.2 Pour la culture: OUI NON

Si oui

Celle-ci contient-elle

Nom et prénom du malade

N° du patient

Age

Adresse complète

Centre de santé référant

Médecin référant

Nature de l'échantillon

N° de l'échantillon

Raison de l'examen (rechute ou autre)

2. Les fiches de demandes d'analyse sont-elles disponibles

2.1 Dans les cabinets de médecin ? OUI NON

2.2 Dans les centres de santé ? OUI NON

3. Si la demande n'est pas sur la fiche standard, les données sont-elles retranscrites sur une fiche standard ? OUI NON

4. Y a-t-il un service d'accueil pour les malades ? OUI NON

5. A qui le malade est-il référé en premier lieu ?

Au laboratoire

A l'infirmier (ere)

A un mmédecin

Autre (a preciser).....

6. Qui remet le crachoir au malade ?.....

7. Ya-t-il un lieu designé pour craher ? OUI NON

Si oui ou se trouve ?.....

8. les crachoirs sont-ils adéquats ?

a) Plastique résistant OUI NON

b) Etanchéité (avec couvercle vissé) OUI NON

c) Ouverture suffisamment large OUI NON

9. Les crachoirs sont-ils toujours disponible OUI NON

10. Les crachoirs qui sont souillés sont-ils désinfectés ? OUI NON

Si oui avec quoi ?.....

11. Combien de crachats ont été reçus chaque semaine dans les 8 dernières semaines ?

12. Combien de crachats positifs y a-t-il eu dans les 8 dernières semaines ?

13. Y a-t-il un réfrigérateur pour conserver les crachats qui ne peuvent être étalés

immédiatement ? OUI NON

C. Etalement, coloration et lecture

1. Comment vous approvisionnez-vous en colorant ?.....

2. Comment les colorants sont-ils conservés ?.....
3. A quelle fréquence les colorants sont-ils filtrés ?.....
4. Combien y a-t-il de techniciens formés a la microscopie ?.....
5. Combien y a-t-il de techniciens régulièrement disponibles pour la microscopie ?.....
6. Quel est le temps consacré à la microscopie par un technicien durant une semaine ?
(ex 5 demi-journées, 5 journées etc.).....
7. L'étalement est-il de bonne qualité ?
- a. Portion purulente OUI NON
- b. Epaisseur adéquate OUI NON
- c. Superficie adéquate OUI NON
8. La coloration est-elle de bonne qualité ?
- a. Lames de contrôle OUI NON
- b. Lames de patient OUI NON
9. La quantification des lames est-elle adéquate ? OUI NON
10. Un contrôle positif et un contrôle négatif sont-ils inclus lors de la coloration des
lames de malades ? OUI NON
- Si oui a quelle fréquence ?.....
11. Le matériel est-il toujours disponible ?
- Colorant OUI NON
- Lames OUI NON
- Crayon diamant OUI NON
- Boite de conservation de lames OUI NON
- Autre OUI NON

12. Les dates de fabrication et d'expiration sont-elles toujours indiquées sur les flacons de colorants et de réactifs OUI NON

13. Les microscopes sont-ils en bon état OUI NON

14. Avec quoi les microscopes sont-ils nettoyés.....

15. Y a-t-il une housse pour recouvrir les microscopes ? OUI NON

16. Combien de champs microscopiques sont lus ?

D. Résultats

1. Y a-t-il un registre standardisé pour les résultats ? OUI NON

2. Y a-t-il un rapport standardisé pour les résultats ? OUI NON

Si oui inclut-il ?

Le nom du médecin demandeur

Le N° de l'échantillon

Le N° du patient (si sous traitement)

Les dates des prélèvements

L'aspect des spécimens

Les résultats avec quantification (1-9BAAR a 3⁺)

La date de l'analyse

Le nom du technicien(ne)

3. Le suivi bactériologique est-il fait :

a. Environ 2 mois après le début du traitement OUI NON

b. Environ 5 mois après le début du traitement OUI NON

c. À la fin du traitement OUI NON

E. Santé et sécurité

1. Les gants et les blouses sont-ils disponibles ? OUI NON
2. Un protocole en cas d'accident générant des aérosols est-il disponible ? OUI NON
3. Les désinfectants sont-ils disponible OUI NON
4. L'incinération du matériel contaminé est-elle faite adéquatement ? OUI NON
5. Les paillasses sont-elles nettoyées en fin de journée ? OUI NON
6. Les poubelles contenant les crachoirs sont elles vidées
Quotidiennement ? OUI NON

F. Autre

Les patients sont-ils satisfaites du service de laboratoire

- Orientation du malade vers le laboratoire
- Attitude, amabilité
- Disponibilité (heures durant les quelles les échantillons peuvent être apportés)
- Délais pour obtenir les résultats

Signature du technicien(ne) _____

ANNEXE III**DEMANDE D'EXAMEN D'EXPECTORATION**

Formation sanitaire : Date :

Nom du malade : Age : Sexe : M – F

Adresse complète :

Type de TB : pulmonaire

Raison de l'examen

Diagnostic Suivi

N° d'identification du spécimen : N° du malade dans le registre :

Date du recueil des crachats : Signature du responsable du recueil des crachats

RESULTATS (A COMPLETER AU LABORATOIRE)

N° de série du laboratoire :

a) Caractéristique de l'expectoration a l'œil nu :

Muco-purulent Trace de sang Salive

b) Microscopie :

Date	Echantil.	Résultats	Positif			
	1		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	2		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	3		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

* Inscrire si neg. Ou pos.

Date : Examen effectuée par (signature).....