

**Guide des techniques de prélèvement
d'échantillons pour la confirmation en
laboratoire de l'infection à *Mycobacterium
ulcerans* (ulcère de Buruli)**

© Organisation mondiale de la Santé 2010

Tous droits réservés. Il est possible de se procurer les publications de l'Organisation mondiale de la Santé auprès des Editions de l'OMS, Organisation mondiale de la Santé, 20 avenue Appia, 1211 Genève 27 (Suisse) (téléphone : +41 22 791 3264 ; télécopie : +41 22 791 4857 ; adresse électronique : bookorders@who.int). Les demandes relatives à la permission de reproduire ou de traduire des publications de l'OMS – que ce soit pour la vente ou une diffusion non commerciale – doivent être envoyées aux Editions de l'OMS, à l'adresse ci dessus (télécopie : +41 22 791 4806 ; adresse électronique : permissions@who.int).

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les lignes en pointillé sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit

matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'Organisation mondiale de la Santé ne saurait être tenue responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

Guide des techniques de prélèvement d'échantillons pour la confirmation en laboratoire de l'infection à *Mycobacterium ulcerans* (ulcère de Buruli)

Généralités

Grâce aux progrès de la prise en charge clinique de l'infection à *Mycobacterium ulcerans* (ulcère de Buruli) les options thérapeutiques ont évolué de la chirurgie au traitement par une association d'antibiotiques. Le traitement avec la rifampicine et la streptomycine, ou avec la rifampicine et d'autres schémas thérapeutiques par voie orale, a permis une décentralisation par rapport à l'époque où le traitement chirurgical en hôpital était la seule option. Grâce à ces progrès, le nombre des interventions chirurgicales a diminué (de nos jours, environ 40 % des patients sont traités sans avoir besoin de recourir à la chirurgie) et les rechutes ont presque totalement disparu.

La confirmation des cas à l'aide de méthodes de laboratoire, amplification génique (PCR) ou examen direct des frottis, est devenu un aspect essentiel dans la prise en charge globale de la maladie. Bien que les cultures ne soient pas indispensables pour le diagnostic de l'infection et la prise en charge clinique immédiate des patients, l'identification des cas d'échecs thérapeutiques et des rechutes de l'infection peut nécessiter la détection de bacilles viables. Les cultures peuvent également s'avérer nécessaires en cas d'apparition de souches de *M. ulcerans* résistantes aux médicaments.

Dans de nombreux pays où l'ulcère de Buruli est endémique, 70 à 100 % des patients se présentent avec des lésions ulcéreuses et 0 à 30 % avec des lésions non ulcéreuses. Depuis 2007, on a fait d'excellents progrès dans la technique de la biopsie à l'aiguille fine pour prélever des échantillons sur des cas ayant eu un diagnostic clinique d'ulcère de Buruli avec des lésions non ulcéreuses. Jusqu'alors, la biopsie classique, à l'emporte-pièce, était la technique de choix, de préférence à la biopsie chirurgicale, plus invasive, pour obtenir des échantillons à partir de ce type de lésions. Elle reste utilisée dans quelques pays, principalement pour la recherche. Aujourd'hui, un certain nombre de pays ont recours à la biopsie à l'aiguille fine pour prélever les échantillons en vue de la confirmation de l'infection par le laboratoire. La biopsie à l'emporte-pièce est devenue un second choix, mais on peut y avoir recours dans des circonstances spéciales, précisées ci-après. Bien que les interventions chirurgicales soient moins fréquentes de nos jours, il faudrait profiter de chaque cas passant en chirurgie, quel que soit le moment, pour se procurer des échantillons pour les analyses de laboratoire.

Méthodes utilisées pour le diagnostic

Les laboratoires font couramment appel à quatre méthodes pour confirmer l'infection à *M. ulcerans* : examen direct de frottis, amplification génique (PCR), culture et histopathologie. Nous allons résumer ci-dessous les avantages et les inconvénients de chacune de ces méthodes.

| Méthode | Avantages | Inconvénients |
|--------------------------------------|---|--|
| Examen direct de frottis | <ul style="list-style-type: none">• Facile à exécuter au niveau local• Pas besoin de matériel et d'équipements coûteux• Résultats obtenus rapidement• À partir d'écouvillons, de biopsies à l'aiguille fine ou de biopsies à l'emporte-pièce | <ul style="list-style-type: none">• Faible sensibilité (< 60 %)• Nécessite un personnel qualifié |
| Amplification génique | <ul style="list-style-type: none">• Résultats obtenus assez rapidement• À partir d'écouvillons, de biopsies à l'aiguille fine ou de biopsies à l'emporte-pièce• Grande sensibilité (> 95 %) | <ul style="list-style-type: none">• Nécessite un laboratoire bien équipé• Exécution coûteuse• Nécessite un personnel qualifié• Nécessite un contrôle rigoureux de la qualité |
| Culture de <i>M. ulcerans</i> | <ul style="list-style-type: none">• À partir d'écouvillons, de biopsies à l'aiguille fine ou de biopsies à l'emporte-pièce | <ul style="list-style-type: none">• Nécessite un laboratoire bien équipé• Nécessite un personnel qualifié• Obtention des résultats > 8 semaines• Faible sensibilité (20–60 %)• Pas utile pour la prise en charge immédiate des patients |
| Histopathologie | <ul style="list-style-type: none">• Sensibilité de 90 % environ• Obtention des résultats assez rapide (si ces services sont disponibles)• Utile le diagnostic différentiel et surveiller les réactions inattendues au traitement | <ul style="list-style-type: none">• Nécessite un laboratoire bien équipé• Exécution coûteuse• Nécessite un personnel qualifié• Nécessite une procédure invasive (biopsie) |

Techniques de prélèvement des échantillons

On utilise trois techniques : écouvillonnage, biopsie à l'aiguille fine et biopsie (à l'emporte-pièce ou chirurgicale). On peut utiliser les échantillons obtenus pour le diagnostic et la prise en charge clinique des patients en routine, ainsi que pour la recherche.

1. Prise en charge clinique (en routine) et dépistage des cas

Les prélèvements d'écouvillons et les biopsies à l'aiguille fine sont des procédures simples, pouvant être faites à n'importe quel niveau des soins (communautés, centres de santé, hôpitaux), au cours de la prise en charge en routine ou pendant la recherche des cas dans les communautés.

1.1 Écouvillons

Les échantillons obtenus par écouvillonnage doivent être prélevés après diagnostic clinique sur les bords creusés d'un ulcère de Buruli. Cette technique peut être exécutée par des médecins ou des agents de santé expérimentés. En général, la plupart des patients se présentent avec des ulcères, de sorte que l'écouvillonnage est largement applicable dans tous les milieux. Il faut néanmoins s'efforcer de limiter le plus possible les douleurs et les saignements et l'on doit assurer une formation suffisante aux agents de santé qui exécuteront cette technique.

1.2 Biopsie à l'aiguille fine

Elle est principalement utilisée pour prélever après le diagnostic clinique des échantillons à partir de lésions non ulcéreuses (nodule, plaque ou œdème). Selon l'endroit, cette technique est nécessaire pour une proportion de patients allant jusqu'à 30 % et elle est suffisamment simple pour pouvoir être appliquée largement sur le terrain. On peut également avoir recours à la biopsie à l'aiguille fine pour certaines lésions ulcéreuses, lorsqu'il est difficile de prélever des écouvillons à cause de la cicatrisation des bords. Seuls des médecins ou des agents de santé expérimentés devraient l'exécuter ; les agents de santé devront bénéficier de formation continue et d'une supervision régulière pour améliorer leurs compétences.

Il faut faire extrêmement attention lorsqu'on procède à une biopsie à l'aiguille fine dans la région de la tête ou du cou (en particulier autour des yeux), ainsi qu'au niveau des organes génitaux. Si nécessaire, un clinicien expert exécutera cette technique pour réduire le plus possible le risque de lésions involontaires à des organes ou structures importantes.

L'OMS recommande de prélever au maximum deux écouvillons ou deux biopsies à l'aiguille fine pour chaque lésion, en fonction de l'expérience de la personne procédant aux prélèvements.

Il arrivera qu'un nouveau prélèvement soit indiqué si les résultats de l'amplification génique sont négatifs, malgré un diagnostic clinique reposant sur des bases solides.

1.3 Biopsie (à l'emporte-pièce ou chirurgicale)

Les échantillons prélevés par écouvillonnage ou biopsie à l'aiguille fine suffisent dans la plupart des cas. On aura recours aux autres formes de biopsie (à l'emporte-pièce ou chirurgicale) si les circonstances l'imposent ou si le diagnostic est dans l'intérêt direct du patient (par exemple, si on a essayé ou abandonné les écouvillons ou les biopsies à l'aiguille fine). On préférera la biopsie chirurgicale lorsque l'on doit prélever de grands spécimens pour l'analyse histopathologique.

Indications et techniques de prélèvement préconisées

| Indication | Technique de prélèvement préconisée |
|--|---|
| 1. Poser le diagnostic différentiel de l'ulcère de Buruli | Biopsie chirurgicale ou à l'emporte-pièce |
| 2. Chercher la cause d'une « réaction paradoxale » | Biopsie à l'emporte-pièce ou chirurgicale |
| 3. Déterminer l'échec thérapeutique suite à une administration réussie d'antibiotiques de qualité | Biopsie à l'emporte-pièce ou chirurgicale |
| 4. Établir la possibilité d'une rechute de l'infection (bien qu'elle soit difficile à définir désormais) ^a | Biopsie à l'emporte-pièce ou chirurgicale |
| 5. Établir l'éventualité d'une évolution cancéreuse | Biopsie chirurgicale ou à l'emporte-pièce |
| 6. Reconfirmer dans les essais cliniques le diagnostic par au moins deux méthodes de laboratoire ^a et évaluer le processus pathogène et l'efficacité thérapeutique. | Biopsie à l'emporte-pièce ou chirurgicale |

^a Pour les analyses microbiologiques, on pourra préférer l'écouvillonnage si la lésion s'est ulcérée.

Conditions

- Les biopsies seront prélevées par un médecin qualifié (ou un agent de santé expérimenté) qui a examiné le patient et qui est parvenu à la conclusion que la biopsie était la seule option à sa disposition.
- Les échantillons pour les analyses histo-pathologiques (ou microbiologiques) doivent être prélevés à partir d'une biopsie unique, plutôt que de multiples biopsies à l'emporte-pièce.
- Il ne faut pas prélever de biopsies sur des lésions faciales (pour des raisons esthétiques) ou sur d'autres sites délicats (tête, cou ou organes génitaux par exemple).
- Les biopsies doivent être réalisées dans une structure où le risque infectieux est aussi réduit que possible et où il existe des équipements pour prendre en charge les hémorragies profuses.
- Il faut prendre toutes les mesures nécessaires pour que les patients éprouvent le moins de douleur et d'inconfort possible.

7. Recherche

Nombre des techniques décrites ci-avant et des conditions d'application sont également valables pour la recherche. Dans des cas exceptionnels, ou lorsque des justifications sur des bases éthiques solides ont été données (par exemple les raisons pour lesquelles des échantillons ou des procédures en routine ne peuvent pas être utilisées, ou la nécessité de répondre à des questions essentielles de recherche), le protocole de recherche devra fournir des explications détaillées. Les patients devront également recevoir des informations (dans la section à cet effet) qui figureront sur le formulaire de consentement. Seuls des experts pourront prélever des biopsies. Pour certains sites anatomiques (visage, cou et organes génitaux), les biopsies à l'emporte-pièce sont exclues.

La protection des patients pendant les travaux de recherche est une norme internationale qui ne doit pas varier d'un pays à l'autre. Il est donc essentiel que les milieux travaillant sur l'ulcère de Buruli mettent au point leur propre code d'éthique pour garantir ces normes de la pratique médicale dans le cadre de leurs travaux de recherche.

Il est toujours possible d'avoir des échantillons pour la recherche !

Les chercheurs devraient être sûrs que les possibilités de se procurer des échantillons provenant de patients pour leurs travaux existent ou sont recherchées.

Histopathologie (et microbiologie)

Le parage des ulcères nécrosés ou des lésions, ou l'excision limitée de tissus pendant ou après le traitement antibiotique donnent l'occasion de se procurer des échantillons pour la recherche.

Cultures

Il est possible de faire des cultures satisfaisantes, même à partir des écouvillons prélevés sur les lésions ulcéreuses, observées chez 70 à 100 % des patients. De nouveaux travaux sont nécessaires pour déterminer le nombre de cultures qu'on peut obtenir à partir des biopsies à l'aiguille fine. Il n'est pas nécessaire d'obtenir des cultures pour chaque patient ou lésion tant que rien n'indique l'apparition de souches de *M. ulcerans* résistantes aux antibiotiques.

Mycolactone

Les nouvelles méthodes de détection de la mycolactone dans les tissus donnent des résultats encourageants. Les échantillons prélevés sur les parties nécrosées des lésions ulcéreuses (70 à 100 % des cas) peuvent fournir de la mycolactone pour les analyses. Pour les lésions non ulcéreuses en particulier, de nouvelles études sont nécessaires pour déterminer la faisabilité de la détection la mycolactone à partir d'échantillons obtenus par les techniques simples de prélèvement, utilisées en routine.