

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2001 - 2002

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR
1^{ER} ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES
2^{EME} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
AGENT COMPTABLE : YEHIHA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	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 TOURE	Orthopédie - Traumatologie, Chef de D.E.R.
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïssata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA Parasitologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA Néphrologie
Mr Baba KOUMARE Psychiatrie, **Chef de DER**
Mr Moussa TRAORE Neurologie
Mr Issa TRAORE Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA Pédiatrie
Mr Hamar A. TRAORE Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO Hématologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE Pédiatrie
Mr Bah KEITA Pneumo-Phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO Cardiologie
Mr Somita KEITA Dermato-Leprologie
Mr Moussa Y. MAIGA Gastro-entérologie
Mr Abdel Kader TRAORE Médecine Interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE Médecine Interne
Mr Mamady KANE Radiologie
Mme Tatiana KEITA Pédiatrie
Mr Diankiné KAYENTAO † Pneumo-Phtisiologie
Mme TRAORE Mariam SYLLA Pédiatrie
Mr Siaka SIDIBE Radiologie
Mr Adama D. KEITA Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE Endocrinologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO Gastro-entérologie
Mr Saharé FONGORO Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA Dermatologie
Mr Mamadou B. CISSE Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA Psychiatrie

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO Neurologie

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophthalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Mr Yéya T. TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie – Mycologie Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr. Flabou Bougoudogo	Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr.Massa SANOGO	Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA † Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boukassoum HAIDARA Législation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie, **Chef de D.E.R.**

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matières Médicales
Mr Alou KEITA Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, **Chef de D.E.R.**

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE Santé Publique
Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Arouna COULIBALY	Mathématiques
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie Médicale
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

DEDICACE

Je dédie cette thèse à :

Mon grand-père feu SERI SEGUEMO BARIEMA OUOLOGUEM :

Toi qui a constitué à un moment, l'ossature de notre famille, qui a su insuffler en nous les qualités humaines que tu as toujours cultivées et défendues.
Je vous rends hommage à travers ce travail.

Mes père et mère KANDA AMBA OUOLOGUEM et FATOUMA OUOLOGUEM pour les peines qu'ils ont pris pour moi.

Ce travail n'est que le fruit de l'encadrement que vous m'avez donné. Trouvez-y l'expression de ma plus grande reconnaissance.

Tous les parents et notables du village de SADEGUE.

Tous les êtres qui me sont chers.

ABREVIATIONS

ADN :	acide desoxyribonucléique
ASACOBA :	association de santé communautaire de Banconi
AFS :	autres formations sanitaires
BAAR :	bacille alcoolico acido résistant
BCG :	bacille de Calmette et Guérin
BK :	bacille de Koch
CDM :	coefficient de dépassement moyen
CMI :	concentration minimale inhibitrice
CI :	centre de santé de commune I
CII :	centre de santé de commune II
DAT :	dispensaire anti tuberculeux
EMB = E :	ethambutol
HPG :	hôpital du Point G
IDR :	intra dermo réaction
INH = H :	isoniazide
IgG :	immuno globulines G
INRSP :	Institut National de Recherche en Santé Publique
OMS :	Organisation Mondiale de la santé
OCCGE :	Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les grandes endémies
PCR :	polymerase chain reaction
PNLT :	Programme National de Lutte contre la Tuberculose
RIF = R :	rifampicine
SM = S :	streptomycine
SIDA :	syndrome d'immunodéficience acquise
Tb1 :	thiacetazone
UICT-MR :	union Internationale contre la tuberculose et les Maladies Respiratoires
VIH :	virus de l'immunodéficience humaine
Z :	pyrazinamide

Mes remerciement vont :

- Au corps professoral de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie pour la qualité de leur encadrement.
 - Au personnel du laboratoire de l'institut national de recherche en santé publique notamment M^f Mamadou Diakité, Amadou Yossi, Abdoulaye, Touré Seydou Diarra, commandant Seydou Traoré et à toute l'équipe de bactériologie pour leur très franche collaboration.
 - A M^f Abdoulaye Sangho pour son aide logistique
 - A M^f Boubou Dia et à toute l'équipe de la cellule « World Informatique » de l'Hippodrome.
 - A tous mes parents , proches ou collatéraux
(Tante Domio Ouologuem, Koundia, Amberi, Dramane, Baïssebé Ouologuem, Hamidou Ouologuém et famille à Bko, cousine Fatoumata, tous les ressortissants de Sadegué à Bko.)
Merci à vous tous.
 - A la famille Boureima Nabel à Ningari Kédou qui m'a soutenu durant 3 années lors de mes études de second cycle.
 - A toute la famille Timbiné à Sévaré : M^{me} Aïcha Touré, feu Kanda Timbiné, Sekou Timbiné, Moussa Timbiné, feu Kadidia Timbiné, Rokia Timbiné, Mama Timbiné. Vous m'avez soutenu à un moment où un homme avait le plus besoin d'aide dans sa vie ; acceptez ce merci de ma part.
 - A mon frère et ami Abdoulaye Ogomo Timbiné, je te dis grand merci pour ta bonne compagnie.
 - Au P^f Mamadou Koumaré pour ses conseils judicieux.
 - A tous mes camarades de classe .
 - A tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'édification de mon être, Je vous témoigne ma vive reconnaissance.
-

A notre maître et président du jury le Professeur Amadou DIALLO

Professeur de biologie animale et de Zoologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie (FMPOS).

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury. Vos valeurs morales et scientifiques vous valent le respect de votre entourage.

Cher maître , recevez toute notre reconnaissance et notre admiration.

A notre maître et juge , Madame le Docteur Diallo Alimata NACO

Coordinatrice du programme National de Lutte contre la tuberculose (PNLT).

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de faire partie de ce jury malgré vos multiples occupations a marqué notre esprit.

A vous notre profonde gratitude.

A notre maître et juge , le Docteur Ibrahim I. MAIGA

Maître assistant de bactériologie virologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie, chef de service du laboratoire de biologie médicale de l'hôpital de Point G.

Votre rigueur scientifique, votre modestie et votre disponibilité font de vous un maître admiré et respecté.

Trouvez ici l'expression de notre profond attachement.

A notre maître et directeur de thèse , le Professeur Flabou BOUGOUDOUGOU

Maître de conférence agrégé en bactériologie virologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie, chef de service de bactériologie virologie à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRS).

Vous nous avez accueilli volontiers dans votre service , et confié ce travail dont vous avez accepté la direction .

Nous n'avons connu de vous que du bien. Grand merci pour avoir guider nos premiers pas dans la recherche.

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION.....	1
II.	GENERALITES.....	2
1.	Rappels sur les bacilles tuberculeux.....	5
2.	La tuberculose et son traitement.....	12
3.	Diagnostic des infections à mycobacteries tuberculeuses.....	13
4.	Les différentes drogues et schémas thérapeutiques utilisés au Mali.....	35
5.	Rappels sur le VIH / SIDA.....	50
III.	METHODOLOGIE.....	55
1.	Type d'étude.....	55
2.	Les sujets étudiés.....	55
3.	Matériels et méthodes.....	55
4.	Le test sérologique VIH.....	66
IV.	RESULTATS.....	70
1.	Les résultats globaux.....	70
2.	Les caractéristiques socio-démographiques des patients.....	70
3.	Les résultats du laboratoire	74
V.	DISCUSSIONS.....	85
1.	Discussions sur la méthodologie.....	85
2.	Discussions sur les objectifs principaux.....	86
VI.	CONCLUSION.....	94
VII.	RECOMMANDATIONS.....	96
VIII.	BIBLIOGRAPHIE.....	98

ABREVIATIONS

ADN :	acide desoxyribonucléique
ASACOBA :	association de santé communautaire de Banconi
AFS :	autres formations sanitaires
BAAR :	bacille alcoolico acido resistant
BCG :	bacille de Calmette et Guérin
BK :	bacille de Koch
CDM :	coefficient de dépassement moyen
CMI :	concentration minimale inhibitrice
CI :	centre de santé de commune I
CII :	centre de santé de commune II
DAT :	dispensaire anti tuberculeux
EMB = E :	ethambutol
HPG :	hôpital du PointG
IDR :	intra dermo reaction
INH = H :	isoniazide
IgG :	immuno globulines G
INRSP :	Institut National de Recherche en Santé Publique
OMS :	Organisation Mondiale de la santé
OCCGE :	Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les grandes endémies
PCR :	polymerase chain reaction
PNLT :	Programme National de Lutte contre la Tuberculose
RIF = R :	rifampicine
SM = S :	streptomycine
SIDA :	syndrome d'immunodéficience acquise
Tb1 :	thiacetazone
UICT-MR :	union Internationale contre la tuberculose et les Maladies Respiratoires
VIH :	virus de l'immunodéficience humaine
Z :	pyrazinamide

INTRODUCTION

I-INTRODUCTION

DEFINITION :

La tuberculose est une maladie infectieuse et contagieuse commune à l'homme et aux animaux ; elle est due au bacille de KOCH et touche principalement les poumons (11).

La tuberculose à cause de son coût de prise en charge, de son impact psycho-social, de la dégradation grandissante des conditions socio-économique et du vieillissement de la population demeure un problème majeur de santé dans le monde et en particulier dans les pays en voie de développement y compris notre pays.

Cette maladie qui était en net recul dans les pays développés revient à la scène avec la pandémie du SIDA où elles se côtoient dans la plupart des cas.

-Au Mali, la loi n° 6825 /DL-RM du 30/06/1968 fait de la tuberculose une maladie à déclaration obligatoire et rend gratuit son dépistage et son traitement.

La gravité, la longueur du traitement, les préjudices familial, professionnel et économique qu'elle implique tant pour la collectivité que pour l'individu lui-même justifient largement la lutte anti-tuberculeuse (34).

-Seule considérée comme un problème de santé publique, la tuberculose couplée au VIH/SIDA constitue un véritable joug que l'humanité s'acharne à vaincre.

Les indicateurs épidémiologiques sont loin d'être encourageants.

En 1995, 1/3 de la population mondiale était infectée par *Mycobacterium tuberculosis*.

Cette même année, 9 millions de nouveaux cas furent détectés avec 3 millions de décès, soit 25% de décès évitables dans les pays développés.

95% des cas et 93% des décès intéressaient les pays en voie de développement et 75% de ces morts étaient du groupe d'âge économiquement productif (15-50 ans).

Au Mali, l'incidence de la tuberculose est estimée à 150-200 cas pour 100 000 habitants.

La tuberculose n'est pas hautement fatale en elle-même car reste asymptomatique dans la plupart des cas, mais le devient lorsqu'elle s'accompagne d'un facteur de réactivation.

Divers stress physiques ou émotionnels, certaines maladies peuvent déclencher l'évolution de la forme dormante de la tuberculose vers la maladie.

De nos jours, le VIH reste le facteur clé de cette réactivation.

90% des sujets infectés par *Mycobacterium tuberculosis* reste asymptomatique s'ils n'ont pas le SIDA (39).

En 1995, 1/3 des 15 millions de personnes infectées par le VIH l'étaient aussi pour *Mycobacterium tuberculosis* dans le monde.

30-40% des sujets VIH+ meurent de tuberculose (54).

Selon l'ONUSIDA l'Afrique comptait environ 2 millions de tuberculeux en 1999, et les 2/3 d'entre eux étaient VIH+. Ce nombre s'accroît de 10% chaque année à cause du VIH ; on passera à 3,3 millions en 2005 (38).

Ainsi, ces deux maladies assomment foudroyablement le co-infecté.

70% de ces sujets co-infectés vivent en Afrique subsaharienne, 20% en Asie, 8% en Amérique latine et aux Caraïbes.

La seroprévalence du VIH peut atteindre 70% chez les sujets infectés par *Mycobacterium tuberculosis* ; cette prévalence atteint 20% dans certains pays africains dans la population de plus de 15 ans.

Aux nouveaux cas de chaque année, s'ajouteront les cas non dépistés, les malades non guéris pour résistance aux antituberculeux, les malades perdus de vue les années précédentes et les

malades irréguliers au traitement contribueront sans cesse d'une part à grossir le lot des tuberculeux et d'autre part à assombrir le tableau clinique de la tuberculose en s'imbriquant au VIH/SIDA. D'où tout l'intérêt que nous portons à cette étude.

Pour combattre la tuberculose, le Mali par le biais du programme national de lutte contre la tuberculose s'est donné les objectifs suivants :

OBJECTIF GENERAL : -réduire l'endémie tuberculeuse en réduisant la transmission du bacille tuberculeux au sein de la population.

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

-dépister 70%des cas de tuberculose existante

-traiter et guérir 80% des cas dépistés

-réduire à moins de 10% le taux de défaillant au traitement

-protéger tous les enfants dès la naissance par la vaccination
BCG

-diminuer l'impact de l'infection VIH sur l'incidence de la
tuberculose à microscopie positive.

Pour atteindre ces objectifs, le programme national de lutte contre la tuberculose (PNLT) utilise les moyens suivants : la prophylaxie, le dépistage, le traitement et la formation du personnel.

Le traitement antituberculeux reste la pièce maîtresse de la prise en charge antituberculeuse

Ce traitement antituberculeux consiste à adapter au malade tuberculeux un des trois schémas thérapeutiques codifiés dans le cahier du P.N.L.T.

Ces schémas thérapeutiques sont standardisés et appliqués à travers tout le pays, imposent donc un contrôle ininterrompu de la sensibilité des bacilles tuberculeux aux différents antibiotiques que constituent les différents régimes et cela, d'abord à cause de l'accroissement de la résistance primaire des bacilles tuberculeux aux drogues antibacillaires et d'autre part à cause de la poly résistance et de la résistance secondaire (due à la sélection des mutants résistants par les antibiotiques).

C'est à la lumière de tous ces problèmes soulevés ci-haut que nous nous proposons d'effectuer cette étude prospective en nous fixant les objectifs suivants :

OBJECTIF GENERAL : -contribuer à l'amélioration de la prise en charge de la tuberculose au Mali.

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- 1-évaluer la fréquence du VIH chez les tuberculeux
 - 2-identifier la nature des espèces de mycobacteries en cause, en particulier chez les VIH+.
 - 3-identifier le niveau et la nature de la résistance simple et de la polyrésistance des souches isolées.
 - 4-évaluer les résistances chez les nouveaux malades et surtout chez les anciens en fonction du schéma thérapeutique.
-

GENERALITES

II- GENERALITES

1- RAPPELS SUR LES BACILLES TUBERCULEUX

1-1-DEFINITION :

Les mycobacteries sont des microorganismes qui se présentent sous forme de bâtonnets droits ou légèrement incurvés, asporulées, sans conidies, aciliées excepté *Mycobacterium fortuitum* qui porte souvent quelques branchements ; elles ne présentent pas de ramifications. Les bacilles tuberculeux sont immobiles, ne sont pas colorables par la méthode de GRAM : ils sont acido alcool résistants (34).

1-2-HABITAT

Les agents responsables de la tuberculose humaine sont des parasites stricts de l'homme. Ces microorganismes sont aussi incriminés dans les maladies animales et aviaires.

1-3- MORPHOLOGIE

Colorées par la méthode de Ziehl Neelsen, les mycobactéries apparaissent rouges sur fond bleu, sous formes de fins bâtonnets rectilignes ou peu incurvés à extrémités arrondies de 1,4 à 5 μm de longueur contre 0,2 à 0,3 μm de large.

1-4-MODE DE TRANSMISSION (64)

La tuberculose se transmet à d'autres personnes le plus souvent à partir d'un malade souffrant de tuberculose pulmonaire, par inhalation de gouttelettes de très petites dimensions (1 à 5 μm) libérées par la parole, la toux, et les éternuements.

Une toux peut libérer jusqu'à 3000 microorganismes. Les particules de grandes dimensions tombent rapidement sur le sol ou repoussées par le système muco-ciliaire de l'arbre bronchique.

En général l'exposition aux gouttelettes doit être prolongée. Les personnes les plus à risque d'acquérir la tuberculose sont des individus vivant avec un patient à microscopie positive.

1-5-CARACTERES CULTURAUX

Pour satisfaire leur exigence métabolique, de nombreux milieux de culture ont été utilisés ; mais celui de Lowenstein Jensen reste le plus utilisé.

1-6-NOMENCLATURE ET CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES

1-6-1-NOMMENCLATURE (30)

Les mycobactéries appartiennent à la famille des *Mycobacteriaceae*, à l'ordre des actinomycetales, et à la classe des Shizomycètes. Cette famille renferme un seul genre : le genre *Mycobacterium* comportant de nombreuses espèces. L'espèce type est *Mycobacterium tuberculosis* (Lehman et Newman, holotype *Mycobacterium tuberculosis* souche H37RV déposé à l'American type Culture Collection N° ATCC27294).

1-6-2-CLASSIFICATION

Les mycobactéries forment un groupe très complexe et varié. Il existe plusieurs classifications, mais en pratique, on les classe en deux groupes :

1-6-2-1-Les mycobactéries non cultivables sur milieux de culture artificiels

Mycobacterium leprae ou bacille de Hansen, responsable de la lèpre humaine

Mycobacterium leprae murium ou bacille de Stefansky responsable de la lèpre chez le rat.

1-6-2-2 Mycobacteries cultivables sur milieux artificiels

Ce groupe est constitué de mycobactéries tuberculeuses pathogènes pour l'homme et de Mycobacteries atypiques ou opportunistes occasionnellement pathogènes.

1-6-2-2-1-Les Mycobactéries tuberculeuses

Elles sont responsables de la tuberculose humaine relativement résistantes aux agents physiques et chimiques. Elles se différencient des autres germes par leur exigence métabolique : ce sont des mycobacteries à croissance lente.

*** *Mycobacterium tuberculosis* :

Encore appelé bacille tuberculeux ou bacille de Koch (BK) est responsable de la tuberculose pulmonaire dans 90% des cas (23). Souche type H37 RV ATCC27294. C'est le type de bacille classique découvert par Robert Koch pour la première fois en 1882.

* **Morphologie bacillaire** : bacille fin, grêle ou parfois incurvé à extrémités arrondies, d'une longueur de 1 μ -4 μ contre 0,3 μ de large ; de formes coccoïdes ou longues, exceptionnellement ramifié.

On note souvent la présence de granulations acidophiles en nombre croissant généralement avec l'âge de la culture et de granules parfois libres prenant le GRAM.

* **Caractères culturaux** : aérobie strict, +37°C de température optimale de croissance, avec un Ph optimal de 6,7 à 6,9. Le bacille tuberculeux donne en 10 à 30 jours d'incubation sur milieu de Lowenstein Jensen des colonies eugoniques atteignant jusqu'à 5 à 10 mm de diamètre difficilement dissociables dans l'eau.

* **Caractères biochimiques** : Niacine +

Nitrate +

Catalase thermosensible +

* **Sensibilité aux antibiotiques** : les souches sauvages ont une grande sensibilité vis à vis des antibiotiques.

* **Pouvoir pathogène** : le bacille tuberculeux réalise une tuberculose pulmonaire, urogénitale, osseuse, ganglionnaire, cutanée, méningée, etc.

*** *Mycobacterium bovis* (TH. Smith 1896)

* **Morphologie** : plus petit, plus trapu, moins granuleux que *Mycobacterium tuberculosis*, mais les aspects sont semblables selon les souches.

* **caractères culturels** : aérobic stricte, température optimale 37° c, PH : 6-6,5. Cultive mieux sur milieu sans glycérine et se développe sur milieu solide en colonies lisses et humides blanc nacré, non pigmentées, petites (tête d'épingle), dysgoniques facilement mises en suspension dans l'eau.

* **Caractères biochimiques** : niacine -, nitrate -, catalase +

* **sensibilité aux antibiotiques** : *Mycobacterium bovis* présente une grande sensibilité aux antibiotiques, excepté au Pyrazinamide.

* **pouvoir pathogène** : *Mycobacterium bovis* est virulent pour les mammifères, mais frappe essentiellement les bovidés (bœuf), les équidés (cheval), les canidés (chien, chat), les caprins (chèvre), les simiens (singe), et réalise aussi la tuberculose humaine à bacille bovin dont la fréquence est relativement peu pour l'homme ; et ce dernier contracte la maladie en buvant du lait de l'animal contaminé ou souvent au simple contact.

*** *Mycobacterium bovis* : souche BCG (bacille de Calmette et Guérin) :

IL s'agit d'une souche avirulente de *Mycobacterium bovis* entretenue d'abord par Vallée à Alfort sur pomme de terre glycinée sans passage sur le cobaye puis confiée à Calmette et

Guérin à Lille en 1901. Après 230 repiquages sur pomme de terre bilée de 1908 à 1920, cette souche est ainsi devenue avirulente.

Cette découverte a été une étape décisive dans la prophylaxie de la tuberculose.

Aujourd'hui, ce bacille est utilisé comme vaccin.

*** *Mycobacterium africanum* (30)

Décrit par Sarat en 1968 et étudié la même année par Castets et coll.(7) ; ce type particulier de bacille tuberculeux a été isolé chez l'homme en Afrique tropicale, de l'Ouest, et du centre. Ce bacille est apparu au cours d'enquête systématique avec une fréquence particulièrement élevée, souvent supérieure à celle de *Mycobacterium tuberculosis*.

- Dakar (Senegal) dans 25-45% des cas en 1968
- Yaoundé(Cameroun) dans 74% des cas en 1973
- Accra (Ghana) dans 8 cas sur 10 en 1967
- Kigali (Rwanda) 66%
- Bamako (Mali) 33% en 1974 (2)

*** *Mycobacterium* atypiques ou opportunistes

C'est un groupe hétérogène renfermant de nombreuses espèces rencontrées partout dans la nature : dans l'eau, le fumier, sur les herbes des champs, dans les matières alimentaires, sur la peau et les muqueuses des individus sains, dans les produits pathologiques où leur mise en évidence pose d'importants problèmes diagnostiques.

Ces espèces sont peu étudiées à cause de leur pathogénicité quelque peu réduite chez l'homme et les animaux. Runyon les classe en 4 groupes en se basant sur la vitesse d'apparition de la primo-culture et la pigmentation

- **Le groupe I de Runyon : ou photochromogène :**

Les colonies des espèces appartenant à ce groupe se pigmentent en jaune après exposition à la lumière.

Ex : *Mycobacterium kansasii* , *Mycobacterium marinum*

- **Le groupe II : scotochromogène :**

Dont les colonies se pigmentent en jaune rouge même à l'obscurité. Elles sont fréquemment trouvées à l'état saprophyte. ex : *Mycobacterium scrofulaceum* , *Mycobacterium aquae*

- **Le groupe III ou non chromogène :**

Dont les colonies sont non pigmentées. Ex : *Mycobacterium intracellulare* , *Mycobacterium xenopi* , *Mycobacterium ulcerans*

- **Le groupe IV de Runyon ou groupe à croissance rapide :**

Dont les colonies apparaissent en 3 à 4 jours. Ex : *Mycobacterium fortuitum* , *Mycobacterium chelonae*.

1-7-LES PHENOMEBES IMMUNOLOGIQUES:

Le bacille de Koch induit chez l'homme infecté une allergie et une immunité spécifiques dont le support expérimental décrit par Robert Koch en 1891 est connu sous le nom de phénomène de Koch.

- ◆ **Phénomène de Koch :** L'inoculation de bacille tuberculeux virulent à un cobaye sain ne provoque aucune lésion apparente jusqu'à 10 à 14 jours. Un nodule va apparaître par la suite au point d'inoculation, qui va s'ulcérer et l'ulcération va persister jusqu'à la mort de l'animal.

L'inoculation faite chez un cobaye déjà tuberculeux a une évolution différente . Très rapidement, en 24 à 48 heures, la peau rougit et se nécrose. La lésion nécrotique atteint un

maximum en 72 heures, puis s'élimine et guérit spontanément sans que l'évolution de la maladie sous-jacente ne soit affectée.

Le caractère transitoire de la réaction prouve qu'il y a une immunité. Celle-ci ne se manifeste qu'à l'égard des bacilles de ré-inoculation : c'est l'immunité dite de surinfection.

Chez le cobaye, l'hypersensibilité s'installe d'autant plus vite et est d'autant plus forte que les bacilles inoculés sont plus virulents et en nombre élevé.

Freud a montré en 1937 qu'en injectant un mélange de substance protéique (inducteur d'une hypersensibilité de type humorale (immédiate) et d'une suspension de bacilles tuberculeux tués enrobés dans une huile minérale (adjuvant de Freud) : on provoque l'apparition d'une hypersensibilité de type retardé (27).

Les travaux ont d'abord montré que ce sont les cires D qui sont responsables du caractère retardé de l'hypersensibilité.

Aujourd'hui grâce aux travaux de Lederer et Chelid (1974), on sait que l'unité active du peptidoglycane (contenu des cires D) est le N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-Isoglutamine ou muramyl Dipeptide (M.D.P) qui peut être synthétisé maintenant (27).

◆ -L'hypersensibilité tuberculique :

C'est une hypersensibilité de type retardé. On peut la transmettre d'un sujet hypersensibilisé à un autre en lui injectant des macrophages et des lymphocytes ; mais pas par l'injection de sérum.

◆ -Le test tuberculique :

La tuberculine est un filtrat concentré à chaud de bouillon dans lequel les bacilles tuberculeux ont été cultivés pendant 8 semaines.

Le test à la tuberculine est le seul recommandé par l'O.M.S pour rechercher l'hypersensibilité tuberculinique chez l'homme et consiste à injecter 0,1 ml de tuberculine purifiée par voie intra dermique et à mesurer 72 heures plus tard le diamètre de l'induration réactionnelle.

◆ -**Vaccination :**

Le BCG est le vaccin le plus ancien, obtenu en atténuant la virulence de Mycobacterium bovis après plusieurs passages sur milieu bilié. Il est injecté par voie intra dermique à la dose de 0,005 ml pour les enfants de 0 à 1 an et 0,1ml pour ceux qui ont plus d'un an. Ce vaccin confère une immunité imparfaite bien qu'il reste le plus immunisant et le moins toxique pour créer un état de surinfection (27).

2- LA TUBERCULOSE ET SON TRAITEMENT.

La tuberculose est une affection cosmopolite , ne respectant ni sexe , ni âge , ni frontière géographique, ni race.

Le plus souvent, l'homme est contaminé par son entourage direct par inhalation des gouttelettes de Flügge.

La contamination dépend de la sensibilité propre de l'individu à l'infection , de la concentration des gouttelettes et de l'immunité de la personne.

Dans la plupart des cas , elle reste asymptomatique, mais la maladie survient après une période de latence de plusieurs mois ou de plusieurs années suivant la durée de la primo-infection.

Cette primo-infection se produit par réactivation ou réinfection.

Bien qu'elle affecte tous les organes, la tuberculose est essentiellement pulmonaire (80%) (54).

Le traitement anti tuberculeux doit répondre à quelques objectifs :

- Guérir le malade de sa tuberculose
- Eviter le plus possible les décès entraînés par une tuberculose évolutive ou ses effets tardifs.
- Prévenir les rechutes.
- Diminuer la transmission de la maladie à d'autres personnes.

L'échec du traitement anti tuberculeux n'est pas plutôt un problème d'efficacité , mais une question de gestion et de coordination du programme de lutte contre la tuberculose.

Une utilisation de la chimiothérapie de courte durée est hautement salubre.

3-DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES

L'examen biologique constitue aujourd'hui l'élément fondamental du diagnostic de la tuberculose.

3-1-PRELEVEMENT (42)

La réussite de l'examen tient beaucoup à la qualité du prélèvement qui varie selon les foyers infectieux.

3-1-1-LES CRACHATS:

3-1-1-1-Les malades qui crachent

3-1-1-1-1-Les sujets hospitalisés

Le mode de prélèvement le plus simple consiste à recueillir les crachats dans un flacon stérilisable ou plus simplement dans un crachoir à usage unique.

Dans tous les cas, il est important de préciser qu'il ne s'agit là ni de la salive, ni de la morve mais des expectorations après un effort de toux profond et vigoureux. Les crachats du matin sont préférables à ceux d'autres heures de la journée.

3-1-1-1-2-Les sujets non hospitalisés :

On peut soit confier au malade un crachoir et récupérer le matin ou le faire cracher au laboratoire.

3-1-1-2 – Les malades qui ne crachent pas :

Avant de pratiquer un tubage gastrique ou tout autre prélèvement pour suppléer à ce défaut, il faut s'assurer que le sujet ne crache pas réellement. Le choix du mode de prélèvement dépend ici aussi de l'hospitalisation ou de la non-hospitalisation du sujet.

3-1-1-2-1-Les sujets hospitalisés :

□□□ -Tubage gastrique :

C'est le meilleur mode de prélèvement de l'expectoration chez les malades qui ne crachent pas et vise à recueillir les mucosités dégluties pendant le sommeil. Il doit être pratiqué le matin au réveil avant que les contractions de l'estomac ne chassent le contenu.

Le tubage lui-même se fait à l'aide d'un tube semi-souple de fort diamètre (tube de Faucher), stérile, lubrifié à l'huile de vaseline stérile.

On introduit le tube latéralement dans la cavité buccale, puis dans l'œsophage lors de la déglutition.

En faisant respirer profondément le malade, on pousse le tube dans l'œsophage puis dans l'estomac entre les efforts de déglutition.

Grâce au petit entonnoir dont est munie l'extrémité libre du tube ; on introduit alors 100-200 ml d'eau distillée stérile tiède dans l'estomac. Après quelques instants on abaisse l'extrémité du tube, ce qui par siphonnage permet de recueillir les mucosités présentes dans

l'estomac avec le liquide introduit. Le produit de tubage ou mieux le tubage gastrique est recueilli dans un récipient stérile.

Le matériel utilisé doit être rigoureusement stérilisé, puis nettoyé de façon à éliminer tout résidu bacillaire qui pourrait fausser les résultats des tubages ultérieurs. Pour éviter cette cause d'erreur, la tendance actuelle, excellente est d'employer non plus les tubes en caoutchouc, mais des tubes en plastique à usage unique. Le tubage gastrique classique est parfois remplacé par une aspiration gastrique.

Celle-ci est réalisée au moyen d'un tube en caoutchouc de petit diamètre, donc mieux toléré par le malade ; le contenu de l'estomac étant aspiré à la seringue. Ce procédé plus commode est moins satisfaisant que le tubage gastrique car n'assure pas non plus totalement le prélèvement du contenu gastrique.

□□□ - Expectoration provoquée - Lavage gastrique :

Pour améliorer ou remplacer le tubage gastrique, de nombreuses techniques ont été proposées ; les plus connues et les plus répandues qui tendent à faire cracher artificiellement le malade sont :

L'expectoration provoquée par un aérosol de sérum physiologique additionné d'un produit expectorant et le lavage bronchique après anesthésie laryngée ou bronchique avec du sérum physiologique additionné ou non d'un produit expectorant. On peut rapprocher de ces deux techniques, l'aspiration bronchique réalisée au cours d'une bronchoscopie par un spécialiste.

□□□- Ecouvillonnage laryngé :

Il permet de recueillir les mucosités d'origine bronchique présentes dans le larynx. Mais l'écouvillonnage laryngé ne ramenant qu'une faible quantité de matière ne peut être utilisé avec des chances raisonnables de succès que pour la recherche du bacille tuberculeux en culture et non en microscopie. De même, il ne peut être un examen isolé, mais doit être fait en séries.

L'écouvillon est un fil métallique semi-rigide, long de 180 mm sur lequel est solidement fixé un tampon de coton cardé. Les écouvillons sont conservés dans des tubes de 13x180 mm, bouchés au coton, stérilisés 30 mn au stérilisateur à +180°C.

3-1-1-2-2- Sujets non hospitalisés

Chez le sujet non hospitalisé qui ne crache pas, la recherche du bacille tuberculeux est difficile. Le tubage gastrique n'a d'importance que s'il est effectué au lit du malade.

Si le malade doit se déplacer, le contenu de l'estomac sera évacué.

Dans ce cas, les modes de prélèvement conseillés sont l'expectoration provoquée et l'écouvillonnage laryngé.

3-1-2-LE PRELEVEMENT DES AUTRES PRODUITS PATHOLOGIQUES:

Les produits pauci bacillaires (liquide céphalo rachidien, pus d'abcès non fistulisé, liquide pleural, péritonéal, épanchement articulaire...), à cause de leur moindre richesse en bacilles doivent être prélevés de façon stérile car on a plus intérêt à les cultiver directement sans décontamination préalable, la quelle réduirait le nombre de bacilles déjà existants.

Les produits pathologiques contaminés (urines, pus d'abcès fistulisés...) nécessitent une décontamination préalable avant d'être mis en culture.

3-2-TRANSPORT ET CONSERVATION:

Pour des problèmes logistiques, on est souvent amené à transporter les produits pathologiques prélevés dans d'autres localités.

Pour se faire, certaines conditions de transport important d'être respectées pour ne pas affecter la vitalité des bacilles.

La température ambiante est la plus qui doit attirer notre attention, car dans les produits prélevés, une augmentation de température entraîne une pullulation de la flore associée anaérobie.

Cette pullulation entraîne en quelques jours la liquéfaction complète du produit pathologique (crachat, pus, etc.).

Cela peut tuer les bacilles de Koch en 4 jours.

La présence d'une goutte de pénicilline 5000 UI /cm suffit à éviter cet inconvénient pendant deux jours (15).

Donc tout produit qui ne doit être examiné dès émission doit être gardé au frigo à + 4°C notamment dans un réfrigérateur : elle permet une conservation de plusieurs semaines.

3-3-EXAMEN MICROSCOPIQUE :

L'examen microscopique reste la méthode de choix pour le diagnostic présomptif de la tuberculose

3-3-1-LA CONFECTION DES FROTTIS:

En s'aidant de l'anse de platine préalablement rougie à la flamme du bec Bunsen et refroidie, prélever une parcelle purulente ou hémorragique du crachat. Faire un frottis fin sur les 2/3 de la lame à 0,5 cm de chaque bord. Le frottis fin permet de voir à travers, les lettres noires d'une page imprimée.

3-3-2 FIXATION DU FROTTIS :

Après séchage à l'air libre (10 à 15 minutes), prendre la lame avec une pince, et le frottis tourné vers le haut, passer la lame 3 fois à travers la flamme chaude d'un bec Bunsen. On peut aussi flamber la lame avec quelques gouttes d'alcool méthylique.

3-3-3-COLORATION:(8)

Les propriétés tinctoriales des bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) les rendent imperméables aux colorants habituels et impose pour les colorer des techniques particulières.

Nous utiliserons ici la coloration de Ziehl Neelsen (22).

A-Réactifs :

-Fuchsine phéniquée de Ziehl

Fuchsine basique.....	1 g
Phénol aqueux.....	5,5 g
alcool éthylique.....	10 ml
eau distillée.....	100 ml

-acide sulfurique à 25%

acide sulfurique.....25 ml
 eau distillée.....75 ml

-bleu de méthylène phéniqué

Bleu de méthylène.....2 g
 alcool éthylique.....10 ml
 phénol aqueux.....2,2 ml
 Eau distillée.....100 ml

B- Technique de coloration :

Il en existe deux : la méthode à chaud et celle à froid.

□- La méthode à chaud

Recouvrir le frottis de fuchsine phéniquée, chauffer très doucement jusqu'à l'émission de vapeur, laisser agir pendant 10 minutes, chauffer la lame 3 fois . Eviter l'ébullition et le dessèchement du colorant. Rejeter le colorant et rincer à l'eau ordinaire.

Recouvrir la lame d'acide sulfurique à 25% pendant 3 minutes, laver . Recouvrir d'alcool à 90° pendant 5 minutes, rincer, recouvrir le frottis de bleu de méthylène pendant 30 secondes, rincer et laisser sécher.

□- Méthode Ziehl (30) modifié selon l'union internationale de lutte contre la tuberculose :

Réactifs :

Fuchsine de Ziehl

Cristaux de phénol.....	5 g
Eau qsp.....	90 ml
Solution alcoolique de (fuchsine basique...3 g + alcool méthylique 95%....100 ml)....	10 ml

Acide sulfurique à 25%

Acide sulfurique.....	100 ml
Eau distillée.....	300 ml

Contre colorant au bleu de méthylène

Chlorure de bleu de méthylène ou bleu de méthylène hydrosoluble.....	0,3 g
Eau distillée.....	100 ml

Technique de coloration :

Recouvrir le frottis de fuchsine phéniquée, chauffer doucement jusqu'à l'émission de vapeur (le colorant ne doit ni bouillir ni se dessécher sur la lame) pendant 5 minutes, rincer à l'eau ordinaire.

Recouvrir ensuite la lame d'acide sulfurique à 25% pendant 3 minutes ; laver puis recouvrir le frottis avec le bleu de méthylène à 0,3%, laisser agir le colorant pendant 2 minutes, rincer et laisser sécher.

□ - La méthode à froid :

Réactifs :

Solution A	-fuchsine basique.....5 g
------------	---------------------------

- alcool absolu.....3 ml
- phénol.....10 mg
- Teepol.....15 gouttes
- Eau.....100ml

Solution B

- alcool.....20 ml
- acide sulfurique au ¼.....10 ml
- bleu de méthylène 1%.....70 ml

La coloration à froid a lieu en deux temps :

Premier temps :

placer la lame sur un support en métal ou en verre, recouvrir de solution A, laisser agir pendant 5 minutes ; au bout de ce temps rejeter le colorant.

Deuxième temps :

recouvrir la lame de solution B pendant 3mn ; au bout de ce temps, laver à grande eau et laisser sécher.

□- La méthode de la coloration fluorescente :

Elle est très sensible et consiste à colorer les bacilles avec des substances organiques excitables par une lumière de longueur d'onde déterminée et qui après excitation émettent une lumière de longueur d'onde plus élevée.

Les plus courants sont excités par la couleur rouge ou verte.

Ex : fluorescéine, orangé d'acridine, rhodamine, auramine le rouge thiazine.

3-3-4- LECTURE DES LAMES

On utilise à cet effet l'objectif (x100) en immersion.

La lecture sera faite de façon systématique et standardisée ; la lame étant placée sur la platine et la mise au point faite.

Commencer la lecture de la lame au milieu de l'extrémité gauche du frottis et après avoir examiné un champ microscopique, déplacer la lame longitudinalement afin que le champ voisin de droite puisse à son tour être examiné.

De cette façon, tous les champs microscopiques de la longueur centrale de la lame doivent être examinés .

Le nombre de champs microscopiques sur une longueur de frottis correspond environ à 100 champs.

A la fin de la première longueur, déplacer la lame latéralement de quelques millimètres vers son bord supérieur et lire une seconde longueur de la droite vers la gauche.

Après la lecture de celle-ci, déplacer la lame vers son bord antérieur pour effectuer la lecture sur la troisième longueur (de la gauche vers la droite).

L'ensemble des longueurs correspond à 300 champs doit prendre environ 15 à 20 minutes.

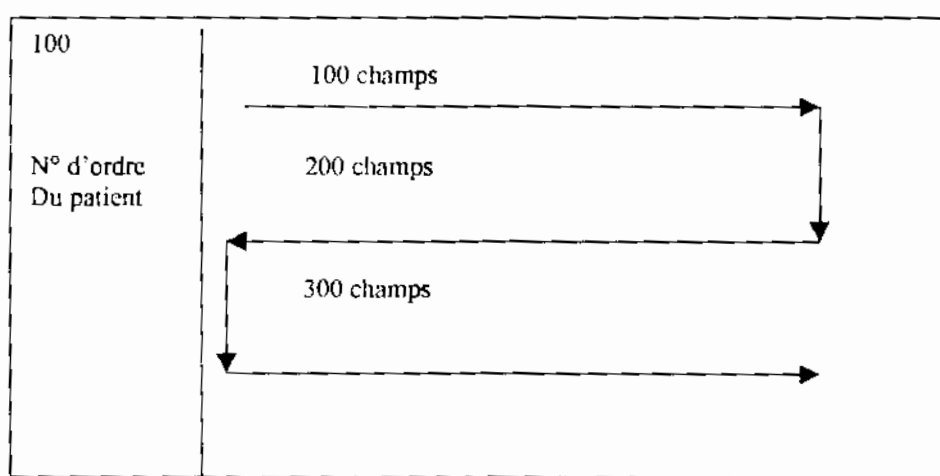


Fig : 1 Schéma indicatif de la lecture d'une lame.

Les bacilles tuberculeux apparaîtront comme de fins bâtonnets légèrement incurvés, longs de 0,5 à 1,4 μ sur 0,5 à 0,6 μ ; plus ou moins granuleux, isolés par paires ou en amas se détachant nettement sur le fond bleu de la préparation (63).

3-3-5 -EXPRESSION DES RESULTATS

Les résultats doivent être toujours quantifiés ; le nombre de bacilles par champs, 100 champs, 300 champs permettent d'apprécier la richesse des lésions en bactéries, donc de la gravité et de la contagiosité de la maladie.

La hausse ou la baisse du nombre de bacilles lors des bacilloscopies répétées permettent de juger de l'efficacité du traitement administré au patient.

Tableau (II) : codification des résultats de la bacilloscopie (21)

Nombre de bacilles acido-alcoolo-résistants	Noter	Répondre	Concentration bacillaire par ml de crachat
0 bacille dans 300 champs	Négatif	Négatif	Moins de 1000
1 à 2 bacilles/300 champs	Nombre observé	Douteux à reprendre	Environ 5000
1 à 10 bacilles/100 champs	Nombre par 100 champs	Positif (+)	Environ 5000 à 10 000
1 à 10 bacilles/10 champs	Nombre par 10 champs	Positif (+)	Environ 50 000
1 à 10 bacilles/champs	Nombre par champs	Positif (+++)	Environ 100 000
10 bacilles ou plus par champs	Plus de 10 par champs	Positif (++++)	500 000 au plus

La Microscopie ne permet pas la mise en évidence des bacilles tuberculeux, mais uniquement des bacilles acido alcoolo résistants.

La négativité de la bacilloscopie ne signe pas définitivement l'absence de tuberculose ; son ordre de sensibilité va de 5000 à 10 000 bacilles /ml de produits pathologiques (15).

La bacilloscopie assure la détection de 70% de tous les cas de tuberculose pulmonaire et 90% des cas contagieux (40).

3-3-6 - CULTURE

Comme la bacilloscopie se montre insuffisante à mettre en évidence tous les bacilles tuberculeux, donc il importe pour les isoler de les cultiver sur des milieux appropriés.

Robert Koch obtint la première culture en 1882 sur du sérum coagulé du bœuf.

Nocard et Roux, en 1887 améliorèrent cette culture en ajoutant de la glycérine au milieu de culture. Depuis lors, de nombreux milieux de culture ont été élaborés.

On distingue 2 groupes de milieux : les milieux liquides et les milieux solides.

3-3-6-1-Les milieux liquides : sont plus spécialement utilisés pour l'étude des souches (milieu de Dubos , milieu de Sula ,etc.).

3-3-6-2-Les milieux solides :

Ce sont les plus utilisés pour l'isolement des mycobactéries à partir des produits pathologiques et le milieu de Lowenstein Jensen est celui intéressant notre étude.

3-3-6-2-1-Milieu de Lowenstein Jensen

Composition :	Phosphate mono potassique.....	2,4 g
	Sulfate de magnésium.....	0,24 g
	Citrate de magnésium.....	0,60 g
	Asparagine.....	3,60 ml
	Glycérine	12 ml
	Eau distillée.....	600 ml

Ce mélange est chauffé jusqu'à dissolution, on le stérilise à l'autoclave à +120°C pendant 20 minutes.

Ajouter 30 g de fécule de pomme de terre stérile à la solution déjà préparée et chauffer à +100°C pendant 15 minutes puis maintenir à + 56°C. Mélanger à cette solution un litre d'œufs cassés stérilement et 20 ml de vert Malachite.

Les milieux de culture que nous avons utilisés étaient déjà préparés et hydratés ; nous devons y ajouter des œufs entiers et de la glycérine au moment de la préparation. En plus de ce milieu principal, existe un autre celui de Coletsos enrichi d'oligo-éléments qui est indiqué pour la culture de *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium africanum*.

Les produits pathologiques non contaminés (liquide céphalo rachidien, pus ganglionnaires, etc.) peuvent se cultiver directement, par contre une décontamination préalable est envisagée pour ceux-là qui sont contaminés par d'autres germes.

Ce procédé improprement appelé homogénéisation consiste à faire digérer les produits à examiner par des substances chimiques ou enzymatiques fluidifiantes.

Grâce à leur paroi riche en lipides, les mycobactéries résistent mieux que les autres éléments dont on peut ensuite les séparer par centrifugation.

De nombreuses substances ont été utilisées pour cela :

- La soude : utilisée par de nombreux auteurs dont Bezençon & Philibert

- L'eau de javel ou l'antiformine
- Les produits chimiques tels que : lauryl sulfate de sodium Besançon (31)
- La pancréatine, qui digère le crachat en 24 heures à Ph acide à + 37°c.

Décontamination à la méthode au Lauryl sulfate de sodium (31)

Parmi ces méthodes de décontamination : méthode à l'acide sulfurique, au phosphate trisodique et au bromure de cetyl pyridium, la méthode au lauryl semble être la mieux adaptée.

Réactifs : Solution de décontamination

- Lauryl sulfate de sodium pur..... 30 g
- Hydroxyde de sodium pur en pastilles 10 g
- Eau distillée qsp..... 1000 ml

Maintenir le flacon à +37°c

Solution de neutralisation

- Pourpre de bromocrésol à 1/250..... 2 ml
- Acide phosphorique pur..... 1,5 ml
- Eau distillée qsp..... 1000 ml

Repartir par flacon de 30 ml et stériliser à l'autoclave.

Technique de décontamination

A environ 2 ml du produit pathologique, ajouter 3 ml de la solution de décontamination.

Le mélange peut se faire directement dans un tube à centrifuger conique scellé de 50 ml.

50 ml, boucher ; agiter sur un agitateur de Kahn.

La neutralisation se fait à l'aide de la solution acide de bromocrésol pourpre jusqu'à la coloration jaune.

Centrifuger 30 minutes à 3000 tours /minutes et rejeter le surnageant ; ensemer l'ensemble du culot sur plusieurs tubes de milieu de culture.

Maintenir à + 37°c en position verticale pour les

Le mélange peut se faire directement dans un tube à centrifuger cône stérile de 45 à 50 ml, boucher ; agiter sur un agitateur de Kahn.

La neutralisation se fait à l'aide de la solution acide de bromocrésol pourpre jusqu'à la coloration jaune.

Centrifuger 30 minutes à 3000 tours /minutes et rejeter le surnageant ; ensemercer l'ensemble du culot sur plusieurs tubes de milieu de culture.

Après ensemencement, les tubes sont mis à l'étuve à + 37°C en position verticale pour les milieux liquides et horizontale pour les milieux solides.

Ces dernières sont incomplètement fermées pour que le liquide d'ensemencement s'évapore après quoi ils sont fermés hermétiquement.

Quotidiennement les cultures sont contrôlées pour repérer les éventuelles souillures et les poussées précoces.

Un contrôle hebdomadaire suffit pour les cultures vieilles.

Une culture est négative s'il n'y a pas de poussée après quatre mois révolus.

3-4-LES METHODES RECENTES DE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE

La microscopie et la culture bien qu'étant fondamentales dans le diagnostic de la tuberculose souffrent quelque peu d'insuffisances.

Donc pour soutenir ces lacunes, de nouvelles méthodes diagnostiques ont vu le jour, entre autres on peut citer :

3-4-1- HEMOCULTURE ISOLATOR (43) :

C'est la recherche de mycobactéries dans le sang et consiste à prélever le sang sur un agent lytique et anticoagulant, puis le centrifuger.

Le culot est ensuiteensemencé sur les milieux solides classiques ou sur milieu type BACTEC.

La centrifugation permet de concentrer les mycobactéries, améliorant ainsi la sensibilité de la culture et le délai d'apparition des colonies de la primoculture.

L'hémoculture est une technique non vulnérante qui permet le diagnostic des mycobactéries notamment *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulareae* à un stade précoce de la maladie.

3-4-2-METHODE DE DETECTION RADIOMETRIQUE DE CULTURE EN MILIEU LIQUIDE.

Cette méthode associe en une culture en milieu liquide une détection radiométrique ; la croissance des mycobactéries est détectée par l'augmentation de la radioactivité dans l'atmosphère de culture.

3-4-3-AMPLIFICATION EN CHAINE PAR POLYMERASE (PCR).

La PCR permet en théorie la détecter de l'ADN à partir d'une seule molécule cible dans un délai de 24 à 48 heures.

L'ADN est extrait de l'échantillon puis est soumis à l'action de l'enzyme Taq polymerase thermostable.

Le nombre de séquences d'ADN encadrées par les amorces oligonucléotidiques spécifiques augmente en théorie de façon exponentielle.

Les séquences nucléotidiques sont détectées à l'aide de sondes nucléiques spécifiques radioactives froides.

3-5-IDENTIFICATION :

Elle repose sur les caractères cultureux, biochimiques et sur la sensibilité vis à vis des antibiotiques

3-5-1-CARACTERES CULTURAUX:

On retient pour cela la vitesse d'apparition des colonies, l'aspect des colonies, photo induction (pigmentation des colonies à la présence ou à l'absence de la lumière), température de croissance.

3-5-2-CARACTERES BIOCHIMIQUES :

Il existe plusieurs caractères biochimiques permettant l'identification des Mycobacteries :

- présence de la catalase à + 22°C
 - Présence de la peroxydase
 - production de l'acide nicotinique
 - réduction des nitrates en nitrites
 - transformation du citrate de fer ammoniacal
 - Présence de la glucosidase, de l'uréase, de l'aryl sulfatase, et hydrolyse de Tween 80.
-

La catalase thermosensible à + 22°C

C'est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en libérant de l'oxygène. Sa présence dans une souche donnée se traduit par un dégagement gazeux lorsque l'on met cette souche en présence d'eau oxygénée. Presque toutes les mycobactéries synthétisent la catalase.

Recherche de la niacine (test de KONNO) ou Niacin test :

Toutes les mycobactéries produisent de l'acide nicotinique ou niacine qui joue un rôle essentiel dans les réactions d'oxydoréduction.

En raison d'une voie métabolique bloquée, *Mycobacterium tuberculosis* et certains isolats de *Mycobacterium simiae* et *Mycobacterium chelonae* produisent les plus larges quantités de la niacine qui s'accumule dans le milieu de culture sur lequel les micro-organismes sont en train de pousser et elle peut être extraite du milieu pour test

Recherche de la nitrate reductase :

La nitrate reductase est une enzyme qui permet aux Mycobactéries de réduire les nitrates en nitrites.

Cette propriété a été étudiée par Virtanen.

Mycobacterium tuberculosis réduit fortement les nitrates en nitrites alors que *Mycobacterium bovis* donne une réaction négative ou très faible.

Réactifs

Substrat : 0,01M de nitrate de sodium dans 1/45 tampon phosphate

-Nitrate de sodium.....	0,85 g
-Phosphate monopotassique anhydre.....	0,117 g
-Phosphate dipotassique anhydre (12H ₂ O).....	0,487 g
-Eau distillée.....	10 ml

Réactif de Gries : Réactif A

- Acide sulfanilique.....0,80 g
- Acide acétique.....30 ml
- Eau distillée.....100 ml

Réactif B

- Alphanaphtylamine.....0,5 g
- Acide acétique.....30 ml
- Eau distillée.....100 ml

Ces réactifs se conservent plusieurs mois en flacon à verre brun à + 4°C.

3-6-TEST DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES :

Plusieurs méthodes ont été proposées, celle décrite par Canneti Rist et Grosset (15) qui nous intéresse de plus est la méthode dite de proportion.

Elle comporte 2 techniques : la technique directe et la technique indirecte.

La technique directe s'applique aux produits pathologiques riches en bacilles en particulier les crachats (un bacille par champ). Elle permet d'économiser le temps.

La technique indirecte nécessite une culture préalable et peut être employée quelle que soit la richesse des produits pathologiques en bacilles.

Le principe, l'interprétation des résultats de ces deux techniques restent les mêmes.

Le principe du test repose sur la détermination de la proportion des mutants résistants à un antibiotique dans une population de bacilles tuberculeux.

Pour y parvenir, le test doit permettre de savoir le nombre total de bacilles tuberculeux ensemencés qui ont donné naissance à une colonie et parmi eux le nombre de bacilles résistants à chaque antibiotique.

On ensemence deux dilutions bacillaires qui sont de 100 en 100 fois plus faibles les unes des autres : 10^{-1} et 10^{-3} sur milieu de Lowenstein Jensen avec antibiotiques incorporés avant la coagulation et 2 témoins pour chaque dilution sans antibiotique incorporé.

Les dilutions sont choisies de manière que l'une d'entre elle donne des colonies comptables. En confrontant le nombre de colonies obtenues sur les milieux avec antibiotiques (bacilles résistants) avec le nombre de colonies obtenues sur les milieux sans antibiotiques (bacilles sensibles et bacilles résistants ou population bacillaire totale).

On obtient ainsi la proportion de bacilles résistants qui existent dans la souche testée. En deçà d'une proportion dite proportion critique, la souche est classée souche sensible, et au delà, elle est classée souche résistante.

Le seuil critique varie selon les antibiotiques.

Tableau III : Concentration critique des antibiotiques antituberculeux sur différents milieux et proportions critiques des mutants résistants (ml de milieu) (51). (a* = milieu 7H10 à PH de 5,7-0,1)

molécules	7H10	7H11	L.J	BACTEC	Proportion critique
Isoniaside	0,2	0,2	0,2	0,1	1%
Rifampicine	1,0	1,0	40	2,0	1%
Pyrazinamide	25,0	50,00 a*	200	100	10%
Ethambutol	2,0	7,5	2,0	2,5	10%
Streptomycine	2,0	2,0	4,0	2,0	10%
Thiacetazone			4		

3-7-AUTRES METHODES DE DETERMINATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES :

3-7-1-ANTIBIOGRAMME PAR RODIOMETRIE :

c'est un test rapide ; les résultats sont disponibles après 4-5 jours d'incubation à +37°C.

3-7-2-DETERMINATION RAPIDE DE LA SENSIBILITE PAR LA METHODE PCR –SSCP :

les résultats sont disponibles en 24 à 48 heures.

3-7-3-LA DETECTION DE LA SENSIBILITE OU RESISTANCE PAR LES PHAGES PORTANT LES GENES DE LA LUCIFERASE :

L'antibiogramme systématique sur une souche permet de voir le profil de la résistance primaire et secondaire des bacilles tuberculeux aux antibiotiques utilisés dans les régimes de traitement.

4- LES DIFFERENTES DROGUES ET SCHEMAS THERAPEUTIQUES UTILISES AU MALI :

4-1-LE TRAITEMENT ANTITUBERCULEUX .

Le traitement anti tuberculeux doit assurer la destruction la plus rapide et la plus totale de tous les bacilles présents dans les lésions. Au sein des lésions tuberculeuses, on peut individualiser 3 populations bacillaires distinctes :

- Les bacilles qui se multiplient activement à Ph neutre dans les parois
-

des lésions caséuses ramollies évacuées des cavernes. Cette population la plus nombreuse atteint couramment 10^8 bacilles.

- Les bacilles phagocytés par les macrophages : étant dans un environnement acide et subissant l'effet de nombreux enzymes, ces bacilles ont une multiplication ralentie et leur nombre ne dépassent guère 10^4 à 10^5 bacilles.

Les bacilles extra cellulaires présents dans les foyers caséux solide bien qu'à Ph neutre, ces bacilles se multiplient très lentement en raison des mauvaises conditions de vie (oxygénation). Leur taux dépasse très rarement 10^4 - 10^5 bacilles.

Ainsi les premières à détruire sont ceux qui forment la population dans les parois caséuses. C'est cette population bacillaire qui est responsable de la présence de bacilles tuberculeux dans les crachats et par conséquent de la contagiosité des bacilles tuberculeux.

Les bacilles à multiplication ralentie ne posent pas les mêmes problèmes thérapeutiques. En raison de leur nombre relativement limité, ils ne contiennent pratiquement pas de bacilles résistants, mais comme ils se multiplient au ralenti ou d'une manière intermittente, la majorité des antibiotiques ont une activité bien moins puissante que sur les bacilles à multiplication active. Ils peuvent donc persister au sein des lésions et être à l'origine des rechutes (41).

La streptomycine, l'Isoniazide, la Rifampicine sont les antibiotiques les plus efficaces sur les bacilles à multiplication active dans les parois cavitaires.

Le pyrazinamide, l'Isoniazide et la Rifampicine sont les plus actifs dans un environnement acide à l'intérieur des macrophages, tandis que seule la Rifampicine est efficace sur les bacilles quiescents au sein des foyers caséux. L'Ethambutol et l'acide-para-amino salicylique sont bactériostatiques.

Les mutants résistants sont généralement responsables des échecs de traitement même si les antibiotiques naturellement actifs sont administrés (41).

Tableau-IV Activités des principaux antibiotiques selon l'état métabolique des bacilles.

Antibiotiques	Activité sur les bacilles		
	A multiplication active Ph neutre	Ph acide	PH neutre
Streptomycine	3+ (très active)	0	0
Isoniazide	2+ (active)	+ (nulle)	0
Rifampicine	2+ (active)	+	0 ou +/-
Ethambutol	+/- (Bactériostatique)	+/- (Bactériostatique)	0
Pyrazinamide	0	2 +	0

4-2-LA RESISTANCE ANTIBACILLAIRE ET SES CONSEQUENCES :

4-2-1-LA RESISTANCE DU BACILLE TUBERCULEUX :

La résistance est la capacité d'une bactérie à survivre à l'exposition à une concentration de drogue qui inhibe ou tue les cellules pariétales et de transmettre cette propriété à ses descendants ; cette descendance constitue la population résistante.

Dans cette population, la proportion de mutants résistants s'approche de 100% ; un petit nombre de cellules peut être sensible du fait de mutations reverses (29).

La résistance primaire des mycobactéries aux antibiotiques anti tuberculeux est très élevée.

1/10⁵ bacilles pour l'isoniazide et la streptomycine

1/10⁶ bacilles pour l'ethambutol

1/10³ bacilles pour Ethionamide

1/10⁸ bacilles pour Rifampicine

Le nombre de bacilles présents dans les lésions donc des mutants résistants dépend du type anatomique de celui-ci.

+ Les nodules et les autres foyers caséux non fermés sont pauvres en bacilles (0 à 10³ bacilles) ne contiennent pratiquement pas de bacilles résistants.

+ Un foyer caséux ouvert dans les bronches, moins bien oxygéné contient environ (10⁴ à 10⁶ bacilles) : il n'y a pas ou très peu de bacilles résistants.

+ Les cavernes évolutives sont très riches en bacilles : une caverne de 2 mm de diamètre peut en contenir (10⁷ à 10⁹ bacilles). Le nombre de mutants résistants dépend du nombre de bacilles.

Pour l'isoniazide on note un mutant résistant pour 10⁵ bacilles de population, de ce fait 10⁷ bacilles donneront X.

10⁴ bacilles résistants à l'isoniazide.

De la même manière, on a 10² à 10⁴ bacilles résistants pour la streptomycine

Et 10⁴ à 10⁶ bacilles résistants à l'ethionamide

10⁴ à 10³ bacilles résistants à l'ethambutol

$X=10^7/10^5=10^2$ bacilles résistants ; donc, dans une caverne de 2 mm de diamètre on a 10^2 à 10^4 bacilles résistants à l'isoniazide.

De la même manière, on a 10^2 à 10^4 bacilles résistants pour la streptomycine

Et 10^4 à 10^6 bacilles résistants à l'ethionamide

10^4 à 10^3 bacilles résistants à l'ethambutol

0 à 10 bacilles résistants à la rifampicine

D'où l'explication du grand risque de sélection de mutants résistants en cas de traitement insuffisant ou mal adapté (ex : monothérapie).

4-2-2-PREVENTION DE LA RESISTANCE :

L'émergence des souches résistantes est la conséquence de la sélection par les antibiotiques des mutants résistants présents dans les populations bacillaires d'où l'éviction totale de la monothérapie.

Il est en outre important avant de mettre un traitement en route, d'avoir une idée de l'antibiogramme pour éviter les traitements aveugles source de sélection.

4-3—LES DROGUES ANTITUBERCULEUSES (26)

En 1975, L'union internationale contre la tuberculose (UICT) et l'organisation de coordination et de coopération pour la lutte contre les grandes endémies (OCCGE) ont cité 12 médicaments anti tuberculeux qui étaient utilisés à travers le monde entier.

C'est en 1952, à la conférence de Buenos Aires que 6 médicaments ont été retenus comme médicaments essentiels contre la tuberculose : Isoniazide, Rifampicine, Ethambutol, Streptomycine, Thiosémicarbazone, Pyrazinamide.

4-3-1-RIFAMPICINE (RIF) (20)

La Rifampicine diffère de la Rifamycine SV par l'addition d'un groupement méthyl-piperazinyl iminométhyl. C'est un dérivé hémi synthétique de la Rifamycine SV, celle-ci sous l'action de la N, N diéthylamine et du formol, conduit à la 3-rifamycine SV ; celle-ci condensée avec la N-méthyl N' amino piperazine conduit à la rifampicine.

C'est une poudre cristalline, peu odorante, de couleur rouge brique à marron, peu soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone et l'éther. Elle est soluble dans le chloroforme et l'alcool éthylique.

A activité bactériologique étendue, la rifampicine a une activité anti bacillaire supérieure à celle de la streptomycine et égale à celle de l'isoniazide.

Son avantage est qu'elle est active par voie orale et donne des concentrations sériques élevées.

Diffuse facilement dans les tissus (au niveau des os et des séreuses), passe dans le liquide céphalo rachidien et ainsi que dans les poumons.

Les phénomènes de résistance sont rares à cause des concentrations sanguines élevées, mais ils se produisent rapidement (2 mois) et sont définitifs d'où la nécessité de l'associer à des antibiotiques majeurs :

Associations : Rifampicine + streptomycine +isoniazide : est prescrite en cas de résistance à l'isoniazide avec abandon progressif de celui-ci.

Rifampicine + streptomycine : elle permet une guérison plus rapide et une négativation des cultures en 12 à 15 semaines.

Rifampicine + ethambutol + streptomycine : utilisée dans les tuberculoses mal traitées ou avec rechutes ; dans ce cas, on abandonne progressivement la streptomycine.

Ce médicament appartient à la liste I.

4-3-2-ISONIAZIDE (INB) (20)

Hydrazide de l'acide isonicotinique synthétisé par Meyer et Nelly, ses propriétés ont été mises en évidence par Fox et coll. en 1952 tan dis que Chorine dès 1945 avait découvert les propriétés bactériologiques de la nicotine.

Poudre cristalline blanche ou cristaux incolores, inodores, de saveur d'abord légèrement douce, puis amère. L'isoniazide fond à + 170c à 174°C . Il est soluble dans 8% d'eau à +15°C et 0,7% à + 100°C, dans 80% d'alcool absolu et 7,5% d'alcool absolu bouillant, et dans 97,5% de chloroforme . Elle est mais insoluble dans l'éther.

Sa solution aqueuse est stable et peut être stérilisée sans décomposition à + 120°C Elle réduit fortement la liqueur de Fehling et appartient à la liste I.

4-3-3-STREPTOMYCINE (S) (20)

On désigne sous ce nom, un amino glucoside tuberculo-statique anti-infectieux à fonction basique élaborée dans leur milieu de culture, par diverses souches de *Streptomyces griseus*.

Elle a été isolée en 1944 par Waksman, Bougie et Schatz.

La streptomycine base est une combinaison glucidique de streptidine diguanidino-1-3, tetrehydroxy 2-4-5-6 cyclohexane et de streptobiosamine.

C'est une poudre cristalline blanche à peine colorée, inodore ou presque inodore, de saveur légèrement amère, hygroscopique se décomposant sans fondre vers 250°C, soluble dans l'eau et insoluble dans les solvants organiques. Elle doit être conservée dans les lieux frais et secs dans des récipients de verre incolore munis de bouchons étanches. Elle appartient à la liste I.

4-3-4-ETAMBUTHOL (EMB) (20)

C'est un antibiotique tuberculo-statique ; l'isomère dextrogyre moins toxique a été introduit en France en 1996 par le Professeur Rist de l'Institut Pasteur. Ce nouvel agent anti bactérien connu très rapidement un succès net et modifia les principes thérapeutiques en vigueur à cette époque.

Il remplace complètement l'acide para-amino salicylique (PAS) sous toutes ses formes. Son association avec la rifampicine est actuellement la base de la lutte contre la tuberculose.

Les résistances sont rares et lentes à apparaître. Il n'existe pas de résistance croisée avec les autres antibiotiques.

Pour éviter l'émergence des souches résistantes, l'ethambutol n'est jamais employé seul, mais en association avec un ou plusieurs anti tuberculeux. Ce produit est de la liste I.

4-3-5-THIOSEMICARBAZONES (17)

Les thiosemicarbazones ont été introduites par Damagk dans le traitement de la tuberculose en 1946 ; le composé le plus actif est le thiacetazone ou Tb1 : son activité in vitro sur le bacille tuberculeux est voisine de celui du P.A.S et son efficacité est meilleure en association avec

l'isoniazide après une cure de streptomycine. Les thiosemicarbazones ont l'avantage d'un prix de revient très bas.

4-3-6-LE PYRAZINAMIDE (27)

Comme l'isoniazide, c'est un dérivé de la nicotinamide permettant d'obtenir in vivo aux posologies indiquées une action bactéricide sur les bacilles tuberculeux extra cellulaires (se trouvant dans un environnement acide) condition nécessaire à l'activité du Pyrazinamide. Le taux de mutants est de 1/10 000.

Outre ces 6 principaux anti tuberculeux, existent d'autres qui constituent des antibiotiques de deuxième intention utilisés en dernier recours en cas de résistance prouvée aux principaux cités plus haut. Il s'agit de : ethionamide, acide para-amino salicylique, viomycine, kanamycine, cyclosérine, capréomycine, fluoroquinolones (ofloxacin, ciprofoxacin, sparfoxacin...).

Tableau-V Concentrations minimales inhibitrices des médicaments

Anti tuberculeux selon les différents milieux

Médicaments	Concentration minimale inhibitrice (mg/l)		
	Milieu de Youmans 0,01 mg		Milieu de L.J
	8 ^e jours	18 ^e jours	0,0001mg 28 ^e jours
Isoniazide	0,04	0,075	0,05
Rifampicine	0,15	0,30	20
Streptomycine	0,5	1	2
Kanamycine	0,5	1-2	20
Ethambutol	1	2,5	2
Ethionamide	0,5	2,5	20
Cycloserine	10	15	30
Viomycine	3	10	20
Capréomycine	1	2	20
Pyrazinamide	5	10	10
P.A.S	0,1	0,5	0,1
Thiosemicarbazone	0,4	0,6	2

4-4-LES SCHEMAS THERAPEUTIQUES UTILISES AU MALI :

Le schéma thérapeutique constitue un élément essentiel dans la lutte anti tuberculeuse dans un pays. En effet, il semble que les taux de résistance (acquises et primaires) soient en partie

dépendants des schémas thérapeutiques utilisés dans le pays. Au Mali, 3 schémas thérapeutiques sont utilisés pour le traitement de la tuberculose.

4-4-1-LE REGIME DE CATEGORIE I :

Le schéma dure 8 mois et comporte deux phases :

Une phase initiale de deux mois (phase intensive) consistant en une administration quotidienne de trois médicaments par voie orale : rifampicine, isoniazide, pyrazinamide plus l'administration de la streptomycine par voie injectable (2RHZS).

Une phase de continuation de 6 mois associant l'isoniazide et l'ethambutol tous les jours en une seule prise.

Le traitement doit être obligatoirement supervisé par un personnel de santé tous les jours pendant la phase intensive des 2 premiers mois.

Si l'examen des crachats reste positif à la fin des deux premiers mois de traitement, la phase intensive est prolongée de 4 semaines et l'on passe à la phase d'entretien au début du quatrième mois quel que soit le résultat des crachats.

Ce régime thérapeutique est indiqué pour les malades de catégorie I : nouveaux cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive et autres formes sévères de la maladie jamais traitée ou traitée moins d'un mois.

Tableau VI : Posologie des médicaments pour les régimes chimiothérapie des catégories I et III

CATEGORIE I : 2RHZS/6HE

CATEGORIE II :2RHZ/6HE

		Pendant les deux premiers mois, tous les jours		Pendant les 6 mois suivants, tous les jours
	Poids des malades avant traitement en Kg	Rif(120mg)+INH (50mg)+Z(300mg) RHZ	S* 1g/flacon	INH(150mg)+EMB (400mg) par Comprimé
Adultes	50 et plus	5 comprimés	1 g	2 comprimés
	40 à 49	4 comprimés	750 mg	2 comprimés
	30 à 39	3 comprimés	750 mg	1-1/2 comprimé
Enfants	20 à 29	2 comprimés	500 mg	1comprimé
	15 à 19	1 et ½ comprimés	500 mg	¾ de comprimé
	10 à 14	1 comprimé	250 mg	Voir tableau 8

* Chez les malades atteints de SIDA clinique ou séropositifs VIH, la Streptomycine doit être remplacée par l'ethambutol comprimé dosé à 400 mg pendant la phase initiale : 3 comprimés (120 mg) pour 50 kg et plus ; 2 comprimés (800 mg) pour 30 à 49 kg et on ne doit pas prescrire de thiacetazone pendant la phase d'entretien.

4-4-2-LE REGIME DE CATEGORIE II : 2SRHZE/1RHZE/5R3H3E3

Sa durée est de 8 mois sous surveillance stricte étant donné le risque de résistance secondaire.

Cas de retraitement : ce sont des cas de tuberculose à microscopie positive (et parfois à culture positive seulement) déjà traités.

3 groupes sont à distinguer :

- Les cas de rechutes : définies par la réapparition des bacilles dans l'expectoration du malade à deux examens successifs chez un malade considéré comme guéri auparavant.
- Les cas de reprise après traitement, après interruption prématurée (avec microscopie positive) et ayant reçu plus d'un mois de traitement.
- Les cas d'échec sont définis par la présence de bacille dans l'expectoration d'un malade au cinquième mois de traitement ou au-delà.

Ce schéma comporte 2 phases aussi :

La phase intensive initiale qui dure 3 mois consiste en une administration quotidienne de la rifampicine, de l'isoniazide, de l'ethambutol, du pyrazinamide et de la Streptomycine, mais cette dernière ne sera donnée que pendant 60 jours (2RSHZE/1RHZE)

La phase de continuation (5 mois) avec la rifampicine, isoniazide et l'ethambutol pris 3 fois par semaine sous supervision stricte (5R3H3E3). Si le frottis reste positif après 8 mois, le traitement sera arrêté et le patient référé au centre spécialisé pour décision thérapeutique. Ces malades constituent des réservoirs de bacilles malgré une cure correcte de retraitement complètement supervisée.

Tableau VII : Posologie des médicaments pour le régime de chimiothérapie de la catégorie II

	Pendant la phase initiale, 3 mois			Pendant les 5 mois suivants		
	Tous les jours			3 jours par semaine		
Poids des malades avant traitement en Kg	Rif(120mg)+ INH50 mg +Z(300 mg) par Cp	S 1g Par flacon	EMB (400 mg) par Cp	Rif+ INH Forme Combinée 150 mg+ 100 mg	INH (300 mg) par CP	EMB (400 mg) par Cp
50 et plus	5 Cp	1 g	3 Cp	4 Cp (3/7)	1 Cp (3/7)	4 Cp (3/7)
40 à 49	4 Cp	750 mg	2 Cp	3 Cp (3/7)	1 Cp (3/7)	2 Cp (3/7)
30 à 39	3 Cp	750 mg	2 Cp	2 ½ Cp (3/7)	½ Cp (3/7)	3 Cp (3/7)

4-4-3- LE REGIME DE CATEGORIE III : 2RHZ/HE .

Il est identique au régime de la catégorie I, mais ne comporte pas de streptomycine pendant la phase initiale. Il est indiqué pour les nouveaux cas de tuberculose à microscopie négative à lésions peu étendues et autres cas de tuberculoses extra pulmonaires non retenues dans la catégorie I. Ce régime inclus :

- Les enfants et les adolescents qui ont des primo infections patentes avec opacité pulmonaire (chancre d'inoculation ou opacités systématisées) ou de petites lésions pulmonaires, nodulaires et non cavitaires peu étendues.
- Les quelques cas de tuberculose à frottis négatif autres que les cas sévères.
- Adénopathies périphériques, pleurésies abondantes, tuberculose osseuses et ostéo ariculaires des membres.

Tableau-VIII: Posologie des médicaments pour les régimes de chimiothérapie des Catégories I et III chez les enfants pesant moins de 15 Kg (moins De 6 ans) ou atteints de formes sévères de tuberculose (méningite, Miliaire, méningo- miliaire, tuberculose vertébrale).

	Pendant les deux premiers mois, tous les jours		Pendant les mois suivants, tous les jours
Poids des malades avant traitement en Kg	Rif +INH+Z (120mg+50mg+300mg) par Cp	S 1 g Par flacon	Rif +INH 150 mg+100 mg par Cp
10 à 14	1 Cp	250 mg	1 Cp
	½ CP*	125 mg	½ Cp*

* Chez les petits enfants, écraser le comprimé et le mélanger à de la confiture ou à un jus de fruit non acide pour le faire avaler à la cuillère.

5-RAPPELS SUR LE VIH/SIDA.

5-1-HISTORIQUE :

Un retro virus a été isolé en 1983 par Barre Sanoussi et son équipe à Paris chez un malade présentant une LAV (Lymphadenopathy Associated virus) (3).

En 1984, l'équipe de Gallo aux USA a isolé un virus appelé HTLV3(Human cell Lymphotropic virus 3 (23).

Ces deux virus étaient identiques et reconnus comme l'agent responsable de SIDA : c'est le VIH1.

En 1985,Barin et coll. Ont montré qu'un autre virus (rétrovirus) humain apparenté au type I circulait en Afrique de l'Ouest : il s'agit du VIH2 (4).

VIH1 et VIH2 sont similaires à quelques différences près.

VIH1 est cosmopolite donc le plus répandu à l'échelle mondiale, et VIH2 a été décrit chez les personnes originaires de l'Afrique de l'Ouest ou y ayant séjourné (3), il a un temps

d'incubation plus long (20 à 25 ans) que le type I et s'observe chez les personnes âgées (45 à 75 ans) mais passe difficilement de la mère à l'enfant.

5-2-EPIDEMIOLOGIE (5)

Selon les statistiques de l'ONU/SIDA datant de 2000, il existe 36,1 millions de personnes vivant avec le VIH depuis le début de la maladie dont 34,7 millions d'adultes ; 16,4 millions de femmes et 1,4 millions d'enfants de moins de 15 ans.

Dans les pays en voie de développement, l'Afrique subsaharienne occupe la tête avec 70% des cas (25,3 millions vivant avec le VIH).

La sero prévalence augmente du nord au sud avec de forte prévalence dans les pays d'Afrique du centre, de l'Est et du sud (20 à 30% de la population).

Au Mali, la sero prévalence nationale est de 3 à 4%, 24 à 33% chez les femmes libres, 2,7 à 4% chez les donneurs de sang et 7 à 9% chez les camionnaires routiers.

Le nombre de personnes vivant avec le VIH s'élève à 136 000, et le nombre de cas de SIDA cumulés à 5060 (Programme National de Lutte contre le SIDA).

5-3-CONSEQUENCE DE LA CO-INFECTIION :

La plupart des sujets qu'acquièrent *Mycobacterium tuberculosis* ne développe pas la maladie.

Le risque de passer de l'infection à la maladie est de 5 à 10% dans toute une vie pour les sujets VIH négatifs (39), par contre pour les sujets VIH positifs, ce risque est 10 fois supérieur.

Les notifications de cas de tuberculose ont augmenté dans les populations où les deux infections sont courantes, c'est ainsi que dans certaines parties de l'Afrique subsaharienne, le nombre de cas notifiés a triplé dans la dernière décennie.

La séroprévalence peut atteindre 70% chez les sujets atteints de tuberculose. En Afrique subsaharienne 1/3 ou plus des personnes infectées par le VIH sont susceptibles de développer la tuberculose (39).

5-4-IMPACT DU VIH SUR LA LUTTE CONTRE LA TUBERCULOSE (40).

L'association de ces deux maladies ont pour conséquences :

- Diagnostic en excès des tuberculoses pulmonaires à frottis négatifs.
- Défaut de diagnostic des tuberculoses à frottis positifs.
- Surveillance inadaptée de la chimiothérapie antituberculeuse.
- Faible taux de guérison.
- Taux élevé de morts durant le traitement.
- Taux élevé d'abandon à cause des effets secondaires des médicaments.
- Taux élevé de rechutes de la tuberculose.
- Augmentation de l'apparition des cas à bacilles résistants aux médicaments.

Le VIH a des impacts à divers niveaux du diagnostic de la tuberculose :

___ Au niveau de l'intra dermo réaction :

L'interprétation de l'Intra Dermo Reaction (IDR) à la tuberculine est plus difficile chez les sujets VIH positifs que chez les sujets VIH négatifs et les résultats moins fiables. Un enfant immunodéprimé peut donner une réaction négative à ce test malgré sa tuberculose.

A la suite de l'infection par *M. tuberculosis*, le sujet développe une hypersensibilité à la tuberculine. Lorsque cette dernière est injectée dans la peau d'une personne contaminée, il se produit une réaction locale retardée au bout de 24 à 48 heures.

On quantifie cette réaction en mesurant le diamètre d'induration cutanée (épaississement au point d'injection 72 heures après).

Cette réaction montre que le sujet a été contaminé à un moment ou à un autre par *Mycobacterium tuberculosis*.

L'IDR est négatif lorsque le diamètre d'induration est inférieur à 10mm que le sujet ait reçu le BCG ou non.

L'IDR est positif chez un enfant n'ayant pas été vacciné par le BCG quand le diamètre de l'induration atteint ou dépasse 15 mm. Certains états suppriment cette réaction et le VIH en est un.

Chez les sujets séropositifs, le seuil de positivité de l'IDR est de 5 mm (39).

___ Au niveau de la microscopie

Le taux de positivité des frottis chez les tuberculeux VIH+ est tributaire du degré de la déficience immunitaire.

La probabilité d'avoir un frottis positif est semblable à ceux des séronégatifs pour VIH tan dis que pour ceux qui ont une déficience immunitaire, cette probabilité semble être diminuée à cause de la diminution de l'inflammation pulmonaire (40).

— Au niveau du traitement

Le traitement de la tuberculose reste le même chez les malades séropositifs et les malades séronégatifs pour le VIH à une exception près ; ne pas donner de thiacetazone chez les sujets VIH + (augmentation du risque de réactions cutanées graves et parfois mortelles).

5-5- DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DU VIH AU LABORATOIRE :

Le virus de l'immunodéficience humaine est constitué d'ARN associé à une transcriptase reverse, protégé par une capsule et une enveloppe.

2 types de virus, VIH1 et VIH2 présentant des pronostics et des taux de transmission différents ont été identifiés.

Le VIH affecte les CD4 ; la chute progressive du taux de CD4 au cours de la maladie favorise les infections opportunistes aux conséquences fatales.

Deux tests sérologiques rapides sont utilisés pour le diagnostic du VIH dans ce travail :

- Le **GENIE II**
- **L'IMMUNO COUMB II**

Principe : (voir méthodologie) .

METHODOLOGIE

III-METHODOLOGIE

1-TYPE D'ETUDE :

Notre étude est une étude prospective à passage unique qui s'est déroulée d'octobre 2000 à décembre 2001 au laboratoire de référence de l'Institut National de Recherche en Santé Publique.

2-LES SUJETS ETUDIES :

2-1-POPULATION D'ETUDE :

Elle est constituée de malades suspectés tuberculeux dans les formations sanitaires de Bamako et pour lesquels une recherche de BAAR et /ou une culture de mycobactéries ont été effectuées.

Il convient là de distinguer les nouveaux patients des anciens. On appelle nouveau malade tuberculeux tout patient n'ayant jamais bénéficié d'un traitement anti tuberculeux et ancien malade, un patient qui a déjà subi un traitement anti tuberculeux.

2-1-1-CRITERES D'INCLUSION POUR L'ECHANTILLONNAGE :

font partie de nos échantillons :

- Les patients à bacilloscopie positive et /ou à culture positive
- Les patients à bacilloscopie négative mais à culture positive
- Ceux ayant manifesté un consentement libre et éclairé pour le test VIH

2-1-2- CRITERES D'EXCLUSION POUR L'ECHANTILLONNAGE :

sont exclus de nos échantillons :

- Tout patient ayant une bacilloscopie négative à la recherche de BAAR

3-MATERIELS ET METHODES

3-1- MATERIELS:

MATERIELS POUR EXAMEN DIRECT.

- Microscope optique électrique
- Lames porte-objet
- anse de platine
- bec bunsen avec gaz (butane)
- marqueurs et crayon diamant
- colorant de Ziehl Neelsen à froid
- huile de paraffine et alcool à 90°
- portoir de lames
- Boite de conservation de lames
- pinces et crachoirs

MATERIEL POUR CULTURE***pour décontamination :**

- Réfrigérateur
- Centrifugeuse et tubes à centrifuger
- Hotte à pression négative
- Agitateur de Kahn et pipettes Pasteur
- Gants et bavettes
- Solution de soude à 4%
- Solution de bleu de bromothymol ou de bleu de tournesol
- Solution d'acide phosphorique à 0,5%
- Solution de lauryl sulfate de sodium 30 g /l
- portoirs de tubes
- Tubes à essais bouchés à vis

***Pour préparation des milieux de culture :**

- Coagulateur Gössner
- Mixeur
- Casseroles et baguettes en verre
- Milieu de Lowenstein Jensen base en poudre (Lot 136982xD boîte de 500 g Exp :
Dec : 03 -DIFCO).
- Tubes à essai à vis
- Œufs et glycérine
- Balance graduée jusqu'au 1/20 de milligramme et des papiers stériles
- Coton et pipettes graduées de 10 ml
- Réchaud

***Pour la mise en culture :**

- Etuve à 37°C + plateau Lowenstein Jensen
- Milieu de Lowenstein Jensen en tubes (préparé par nous-même au laboratoire)
- Pipettes graduées de 1ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml, 20 ml stériles

MATERIELS POUR IDENTIFICATION :

Catalase : -bain-marie
-Eau oxygénée à 110 volumes + eau distillée + Tween 80

Niacin Test : -Bandelettes réactives de Niacin test (réf : L.000171
25 bandelettes /boîte - SIGMA)

Nitrate reductase :
-Solution de nitrate de sodium : 1M
- Les réactifs : Réactif A et Réactif B

Réactif A : -Acide sulfanilique (réf : S 5263 lot 78H1098-SIGMA).. 0,80 g
-Acide acétique(réf :6283Lot49H3452) - SIGMA.....30ml
-Eau distillée.....100 ml

- Réactif B:** -Alphanaphtylamine(réf : N.9005Lot108H0008- **SIGMA**..... 0,50 g
 -Acide acétique(réf :6283Lot49H34) -**SIGMA**..... 30 ml
 - Eau distillée.....100 ml

MATERIEL POUR ANTIBIOGRAMME :

- Ballons en verre de 100 ml, 150 ml, 250 ml.
- Billes en verre
- Milieux de Loweinstein Jensen en tubes incorporés d'antibiotiques :
 Isoniazide (0,2 µg /ml) ; rifampicine (40 µg /ml)
 streptomycine (4 µg /ml) ; ethambutol (2 µg /ml).
- Etalon BCG
- Tubes à essai stérile à vis
- Becher contenant du sable
- Alcool

3-2-METHODES :

3-2-1-PRELEVEMENT :

La majeure partie des crachats étaient prélevés à l'Institut National de Recherche en Santé Publique(INRSP).

Les produits pathologiques des malades des hôpitaux (hôpital du point G, hôpital Gabriel Touré) étaient prélevés depuis les hôpitaux puis acheminés à l'INRSP par les patients eux-mêmes ou par des parents accompagnateurs en cas d'alitement du patient.

Le prélèvement sanguin pour la sérologie VIH a été effectué sur place à l'Institut sur consentement libre et éclairé des patients, et les résultats fournis par les patients déjà testés au VIH ont été directement pris en compte et confirmés à l'INRSP.

Pour avoir les trois échantillons de crachats, nous procédions de la manière suivante : Nous demandions aux malades un premier échantillon dès qu'ils se présentent à l'Institut ; le second nous sera livré le lendemain matin dans un crachoir en plastique à usage unique que nous les donnions la veille et le troisième aussitôt qu'il apportera le second.

Pour les malades alités des hôpitaux, des crachoirs sont envoyés chaque matin jusqu'à compléter les trois échantillons.

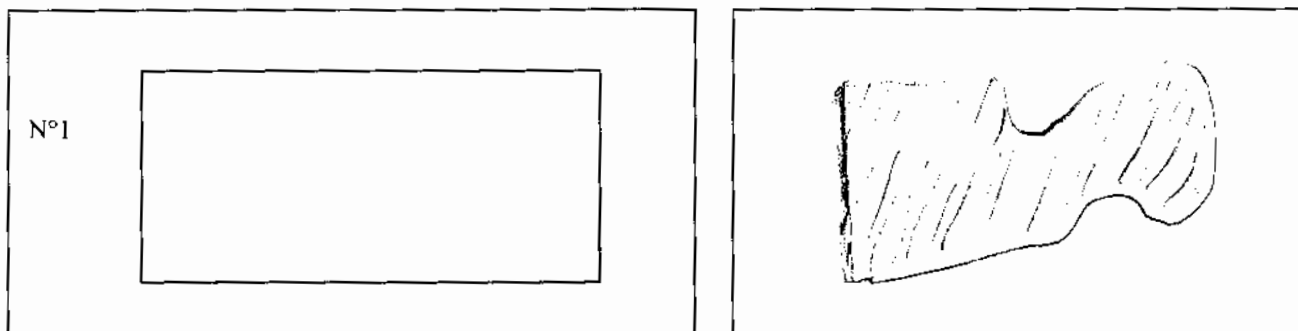
3-2-2--CONSERVATION DES PRODUITS PATHOLOGIQUES :

La bacilloscopie était pratiquée le même jour du prélèvement et les produits pathologiques étaient directement mis en culture ; dans le cas contraire, ils étaient conservés à + 4°C pour le lendemain.

3-2-3-EXAMEN MICROSCOPIQUE :

3-2-3-1 Confection des frottis :

En s'aidant de l'anse de platine déjà stérilisée à la flamme du bec Bunsen, nous prélevons une parcelle purulente ou hémorragique du produit pathologique. Le frottis occupe les 2/3 de la lame à 0,5 cm de chaque bord, un mouvement de va et vient étale le contenu d'une anse de platine de façon à avoir un frottis mince nous permettant de déchiffrer les écritures d'un journal à son travers.



Frottis parfait

frottis mauvais

Fig :2 Schéma montrant le bon frottis et le mauvais.

Après confection, les frottis sont fixés à la chaleur.

3-2-3- 2- Coloration des frottis :

La technique utilisée est celle de Ziehl Neelsen à froid.

Technique de préparation du colorant utilisé : (document technique DAT- Mali 1985).

||||-Préparation du colorant (fuchsine) (Solution A)

Formule :

-Eau.....	500 ml
-Fuchsine.....	25 g
-Alcool à 95%.....	20 ml
-Solution de phénol à 80%.....	25 ml
- Teepol.....	75 gouttes

Pour obtenir la solution de fuchsine, triturer la fuchsine dans le mortier et ajouter petit à petit l'alcool pour bien dissoudre la poudre ; ajouter ensuite le phénol puis l'eau et ensuite les 75 gouttes.

||||||-Préparation du mélange décolorant & contre colorant (Solution B)

- préparation du contre colorant de bleu de méthylène (Solution I)

Formule : Bleu de méthylène7 g
Alcool à 95%.....quelques gouttes

Eau distillée..... 700 ml

Dissoudre la poudre de bleu de méthylène avec quelques gouttes de l'alcool et ensuite ajouter l'eau

- Préparation du décolorant alcool / acide (Solution II)

Formule : Alcool à 95%..... 400 ml

Acide chlorhydrique concentré à 36%..... 100 ml

Mélanger l'acide et l'alcool et laisser refroidir une quinzaine de minute.

Ajouter ensuite, à la solution de bleu de méthylène (Solution I + Solution II).

Le lendemain, filtrer chacune des solutions.

3- 2- 3- 3- Technique de coloration :

Elle s'effectue en 2 temps :

Premier temps : placer la lame sur un support (bac de coloration), recouvrir de solution A ; laisser agir pendant 5 minutes. Au bout de ce temps rejeter le colorant.

Deuxième temps : recouvrir la lame de la solution B pendant 3 minutes ; laver à l'eau puis sécher.

3- 2-3 – 4- Lecture des lames et expression des résultats :

Après coloration, la lecture utilise l'objectif x 100 en immersion et se fait de façon standardisée sur 300 champs microscopiques (Guide du PNLT- Mali) .

Les BAAR apparaissent comme de fins bâtonnets rouges légèrement incurvés, longs de 0,5 à 1,4 μm sur 0,5 à 0,6 μm de diamètre ; isolés par paires ou en amas se détachant nettement sur le fond bleu de la préparation.

Les résultats ont été quantifiés et notés au moyen de croix après énumération des BAAR par champs, 10 champs, 100 ou 300 champs (tableau IX) .

Tableau (IX) : codification des résultats de la bacilloscopie (21)

Nombre de bacilles acido-alcool-résistants	Noter	Répondre	Concentration bacillaire par ml de crachat
0 bacille dans 300 champs	Négatif	Négatif	Moins de 1000
1 à 2 bacilles/300 champs	Nombre observé	Douteux à reprendre	Environ 5000
1 à 10 bacilles/100 champs	Nombre par 100 champs	Positif (+)	Environ 5000 à 10 000
1 à 10 bacilles/10 champs	Nombre par 10 champs	Positif (+)	Environ 50 000
1 à 10 bacilles/champs	Nombre par champs	Positif (+++)	Environ 100 000
10 bacilles ou plus par champs	Plus de 10 par champs	Positif (++++)	500 000 au plus

3- 2- 4-LA MISE EN CULTURE :

En vue d'isoler des bacilles acido- alcool résistants, des cultures étaient effectuées sur milieux de Lowenstein Jensen.

Préparation du milieu de Lowenstein Jensen :***Œufs :**

Brosser doucement les œufs (20 à 24 selon la grosseur) dans l'eau du robinet ; les laisser tremper pendant une heure dans l'alcool à 95°c ; les égoutter sur gaz stérile ; les casser ensuite un à un et verser le contenu dans une éprouvette jusqu'à atteindre 1000 ml (64) ; mixer pendant 10 secondes à vitesse lente sur (100 v) dans un Mixeur (waring).

*** Réhydratation de la poudre de milieu de Lowenstein Jensen**

Pour la réhydrater, mettre en suspension 37,2 g de poudre dans 600 ml d'eau distillée stérile contenant 12 ml de glycérol et chauffer au réchaud jusqu'à ébullition avec agitation constante. Stériliser à l'autoclave à +121°C.

Ajouter la base stérile à un litre de suspension d'œufs frais entiers préparée aseptiquement. Mélanger soigneusement en évitant la formation de bulles d'air.
Répartir le milieu complet dans de tubes stériles (16/160 mm) avec bouchon à vis à raison de 6 ml par tube.
Faire coaguler le milieu 45mn à 85°C dans le coagulateur de Gössner en position inclinée.
Conserver les milieux préparés à + 4°C au réfrigérateur.

Préparation des milieux à antibiotiques

Le procédé de préparation reste le même que celui des milieux simples, mais dans ce cas les solutions d'antibiotiques sont incorporés avant coagulation.

Préparation des solutions d'antibiotiques

* **Streptomycine (S)** : poudre de Dihydrostreptomycine 78,81%

(Réf : S.6501 Lot :54H0264-SIGMA)

Réaliser une solution à 1mg/ml dans l'eau distillée
Diluer cette solution au 2/5, c'est à dire dans 2 ml de cette solution mère ajouter 3 ml d'eau distillée : on obtient une solution d'antibiotique d'une concentration de 400 µg /ml
Cette dernière solution est ensuite diluer au 1/100 dans le milieu de Lowenstein Jensen simple préparé donnant ainsi un milieu fini de 4 µg /ml .

* **L'isoniazide (H ou INH)** : réf :I.3377Lot 55H2622 Labo SIGMA)

Réaliser une solution de 1mg/ml dans l'eau distillée ; diluer cette solution au 1/10, puis cette dernière au 1/5 (20 µg /ml).
Cette solution de 20 µg /ml est incorporé dans le milieu en raison de 1/100 pour obtenir une solution de 0,2 µg /ml de milieu.

***L'ethambutol (EMB)** (Réf : E4630 Lot 24H0118-SIGMA)

Réaliser une solution de 1 mg /ml dans l'eau distillée ; cette solution est ensuite diluée au 1/5 dans l'eau distillée pour avoir une solution de 200 µg /ml de concentration ; incorporer là dans le milieu de culture en raison d'un pour cent qui donnera une solution d'une concentration finale de 2 µg /ml de milieu.

***Rifampicine (Rif ou R)** (Réf : R. 3501 Lot 54H2622-SIGMA)

Réaliser une solution à 10 mg /ml dans l'alcool à 30% ; diluer la au 1/5 dans l'eau distillée pour obtenir une solution d'antibiotique à 400 µg /ml, cette dernière est mélangée au milieu de culture à la proportion d'un pour cent pour obtenir un milieu final à 40 µg /ml
Ainsi pour chaque milieu à antibiotique, on a les concentrations suivantes :

Streptomycine	4 µg /ml
Isoniazide	0,2 µg /ml

Ethambutol	2 µg /ml
Rifampicine	40 µg /ml

3-2-5-CULTURE :

Les produits pathologiques non contaminés (liquide cephalo rachidien, pus ganglionnaires...) sont cultivés directement sans traitement préalable à raison de 3 à 4 gouttes par tube de milieu, tandis que ceux qui sont contaminés subissent une décontamination avant d'être cultivés par la méthode au lauryl sulfate de sodium.

3-2-5-1-Décontamination à la méthode au Lauryl sulfate de sodium :

Il existe plusieurs méthodes, mais la méthode au lauryl semble être la mieux adaptée (31).

Composition de la solution de décontamination :

-Lauryl sulfate de sodium pur.....	30 g
-Hydroxyde de sodium pur en pastilles	10 g
-Eau distillée qsp.....	1000 ml

Maintenir le flacon à 37°C

Composition de la solution de neutralisation :

-Pourpre de bromocrésol à 1/250.....	2 ml
-Acide phosphorique pur.....	1,5 ml
-Eau distillée qsp.....	1000 ml

Répartir par flacon de 30 ml et stériliser à l'autoclave.

Technique de décontamination

A environ 2 ml du produit pathologique, ajouter 3 ml de la solution de décontamination.

Le mélange peut se faire directement dans un tube à centrifuger cône stérile de 45 à 50 ml, boucher ; agiter sur un agitateur de Kahn.

La neutralisation se fait à l'aide de la solution acide de bromocrésol pourpre jusqu'à la coloration jaune.

Centrifuger 30 minutes à 3000 tours /minutes et rejeter le surnageant ; ensemercer l'ensemble du culot sur plusieurs tubes de milieu de culture.

Après ensemencement, les tubes sont mis à l'étuve à 37°C en position verticale pour le milieu liquide et horizontale pour les milieux solides.

Ces dernières sont incomplètement fermées pour que le liquide d'ensemencement s'évapore après quoi ils sont fermés hermétiquement.

Quotidiennement les cultures sont contrôlées pour repérer les éventuelles souillures et les poussées précoces.

Un contrôle hebdomadaire suffit pour les cultures vieilles.

Une culture est négative s'il n'y a pas de poussée après 4 mois révolus.

3-2-6-IDENTIFICATION:

Les caractères culturaux et biochimiques ont été à la base de l'identification des mycobactéries.

On retient à cet effet, la recherche de la niacine, de la catalase et de la nitrate reductase.

3-2-6-1- Recherche de la catalase :

Cette recherche doit être faite sur de cultures jeunes de moins d'un mois

Placer 10 mg (une anse pleine) de colonies dans deux tubes à hémolyse contenant chacun deux gouttes d'eau distillée stérile ; porter l'un des tubes au bain-marie à 70°C pendant 15 minutes ; le refroidir aussitôt.

Après, introduire dans les deux tubes 1 ml de la solution suivante :

Eau oxygénée à 110 volumes.....10 ml
 Tween 80..... 10 ml
 Eau distillée.....10 ml

Pour préparer cette solution, dissoudre le Tween 80 dans l'eau, ajouter l'eau oxygénée lorsque le mélange est refroidi.

Lire 5 minutes après

-Pas de mousse	Négatif
-Hauteur de mousse < 4 cm	Douteux
-Hauteur de mousse > 4 cm	Positif

Presque toutes les mycobactéries synthétisent la catalase.

3-2-6-2- Recherche de l'acide nicotinique (niacine) ou Test de Konno ou Niacin Test

Cette recherche se fait sur des cultures vieilles de plus d'un mois, on opère de préférence sous hotte ou devant une fenêtre ouverte.

Konno a conçu le test standard de la niacine qui a été ensuite modifié par Runyon et al.

La niacine produite par l'organisme réagit avec le bromure de cyanogène et une amine primaire ou secondaire (en général l'aniline).

Nous disposons pour le test des bandes L Taxo de la niacine (Réf L.000171) en papier absorbant imprégnées de thiocyanate de potassium, de la chloramine T, d'acide citrique et d'acide salicylate de Sodium.

Ces bandes réagissent en présence de la niacine des micro-organismes et produisent une coloration jaune.

Si aucune niacine n'est présente, aucune coloration ne se produit.

3-2-6-2-1-Prélèvement et préparation des échantillons :

Ajouter 1,5 ml d'eau distillée à la culture au moyen d'une pipette stérile de 1 ml ; gratter doucement pour prélever un petit morceau de culture. Enfoncer une pipette stérile de 1 ml à travers la culture dans le milieu pour extraire la niacine.

Laisser le liquide en contact avec le milieu pendant 15 à 20 minutes ; incliner de manière que le liquide recouvre les colonies.

Prélever 0,6 ml d'extrait liquide de la culture au moyen d'une pipette capillaire stérile et le verser au fond d'un tube à essai 13x75 mm, propre, étiqueté, à capuchon vissé.

En présence de la niacine, la bande donne une coloration jaune.

3-2-6-3- Recherche de la Nitrate reductase :

Réactifs : Substrat : 0,01 M de nitrate de sodium dans 1/45 tampon phosphate

Nitrate de sodium.....0,85 g

Phosphate monopotassique anhydre.....	0,117 g
phosphate dipotassique anhydre.....	0,48 g
Eau distillée.....	10 ml

Réactif de Gries

Réactif A	Acide sulfanilique.....	0,80 g
	Acide acétique.....	30 ml
	Eau distillée.....	100 ml

Réactif B	Alphanaphtylamine.....	0,50 g
	Acide acétique.....	30 ml
	Eau distillée.....	100 ml

Ces réactifs se conservent plusieurs mois en flacon à verre brun à + 4°C

Technique :

Emulsionner dans un tube à hémolyse une ansée de la souche étudiée (10 à 15 mg) dans 2 ml d'une solution M/100 de nitrate de sodium.

Incuber pendant 2 heures à 37°C, ajouter le réactif de Gries : 0,1 ml de réactif A et 0,1 ml de réactif B.

Il se produit une coloration rouge pour les cas positifs et une absence de coloration signe une négativité du test. Un témoin est nécessaire pour une meilleure appréciation du test.

Dans les cas où la couleur rouge n'apparaît pas on a :

- soit une réaction négative
- soit les nitrates ont été réduits au stade de l'azote : dans ce cas, ajouter de la poudre de zinc qui catalyse la réduction des nitrates en nitrites. Si la couleur apparaît (c'est la réaction qui est réellement négative).

Si la réaction reste incolore (c'est que la réaction est positive car tous les nitrates ont été réduits jusqu'au stade d'azote libre.

3-2-7-TEST DE SENSIBILITE :

Seule la méthode indirecte a été utilisée pour le test dans ce travail.

3-2-7-1- préparation de la suspension bacillaire

Prélever à l'aide d'une spatule de platine environ 5 mg de culture qui sera placé au fond d'un ballon contenant une trentaine de billes en verre de 3 à 5 mm de diamètre.

Agiter le ballon en mouvement circulaire pendant 20 à 30 secondes pour écraser les colonies ; puis ajouter 0,1 ml d'eau distillée et agiter encore.

Ensuite ajouter 5 ml d'eau distillée stérile et agiter une dernière fois pendant 15-20 secondes.

On ajuste l'opacité de la suspension ainsi réalisée en la comparant avec celle d'une suspension bacillaire de BCG à 1 mg/ml (code 53.211).

3-2-7-2- Ensemencement

A partir de cette solution mère, 2 dilutions (10^{-1} et 10^{-3}) sont préparées puis ensemencées à raison de 0,2 ml par tube. Chaque dilution utilise 6 tubes (2 tubes témoins et 4 tubes d'antibiotiques : ethambutol, streptomycine, isoniazide, rifampicine.) donc pour un test aux 2 dilutions nous avons au total 12 tubes.

3-2-7-3- Lecture et interprétation des résultats :

La lecture des résultats est effectuée à 2 reprises : à J28 et à J42 .

Les résultats sont toujours sortis après la dernière lecture à J42 pour éviter des conclusions hâtives.

Cette lecture consiste en 2 opérations simples :

- Compter le nombre de colonies visibles sur les différents tubes
- En déduire la proportion des mutants résistants

3-2-7-4-Calcul de la proportion de bacilles résistants contenus dans une souche :

Pour interpréter l'antibiogramme, on doit compter toutes les colonies dans tous les tubes et noter le nombre par tube dans un tableau. Normalement, on doit obtenir dans les tubes contrôles (témoins) de 10^{-1} une croissance confluyente et dans les tubes contrôles 10^{-3} , 10 à 100 colonies qu'on doit compter correctement.

Tableau :XI : exemple de résultat d'antibiogramme

Dilutions	Nombre de colonies dans les tubes témoins	Tube INH	Tube S	Tube EMB	Tube Rif
10^{-1}	∞ ∞	18	84	∞	0
10^{-3}	65 87	0	0	28	0
	$(65+87)/2=76$	S	S	R	S

∞ = infini

Calcul pour conclure «sensible » ou « résistant » :

Nombre limite de colonies pour les antibiotiques :

-Nombre de colonies dans les tubes à INH : au maximum 1% de la moyenne dans les tubes témoins

-S	_____	10%
-EMB	_____	10%
-Rif	_____	1%

Cela veut dire :

INH S < 1% < R

S S < 10% < R

EMB S < 10% < R

Rif S < 1% < R

Dans cet exemple, pour le tube à **EMB** (à 10^{-3}) :

Dans le tube témoin, on a une moyenne de $(65+87) = 76$ colonies et la limite de sensibilité étant 10%, on peut donc avoir pour EMB 7,6 colonies.

Il y a dans notre cas 28 colonies donc la souche est résistante à l'EMB.

Pour l'**INH** (dans le tube à concentration 10^{-1}) :

Il y a dans les tubes contrôles (témoins) d'innombrables colonies, pour cela le calcul direct est impossible.

On doit donc compter le nombre de colonies dans 10^{-1} à partir de 10^{-3} .

Contrôle 10^{-3} : $65 + 87 = 152 / 2 = 76$ donc 76 colonies dans 10^{-3}
 $76 \times 10 = 760$ colonies dans 10^{-2}
 $760 \times 10 = 7600$ colonies dans 10^{-1}

Donc dans 10^{-1} , on a une moyenne de 7600 colonies.

Dans le tube INH de 10^{-1} on a 18 colonies ; nombre limite pour INH = 1% alors on peut avoir $7600 / 100$ colonies = 76 colonies . On a seulement 18 colonies, cela veut dire que la souche est sensible à l'INH.

Pour la streptomycine

On calcule de la même façon que l'INH, car nous avons d'innombrables colonies dans les contrôles 10^{-1} et 0 colonie dans les tubes 10^{-3} de la Streptomycine.

Dans les témoins 10^{-3} , la moyenne est 76.

Donc dans le témoin 10^{-1} il y a une moyenne de 7600 colonies ; nombre limite pour la Streptomycine = 10% donc 760 colonies.

On a dans le tube 10^{-1} de la Streptomycine que 84 colonies donc la souche est sensible à la Streptomycine.

Pour la rifampicine

Il n'y a pas de problème, les témoins ont bien poussé et rien ne pousse dans les tubes rifampicine : la souche est sensible à la rifampicine.

3-2-7-5-Interprétation des résultats :

La première lecture est faite à J28. Si elle indique une résistance, une seconde lecture à J42 est inutile. Si la souche paraît sensible, la lecture à J42 donne une réponse définitive.

4-Test sérologique VIH

Nous avons pour ce travail utilisé deux tests rapides de dépistage du VIH :

LE GENIE II et L'IMMUNO COUMB II.

- **GENIE II : (Code : 72323 Version : E3 Format : 40 tests) « BIO RAD »**

Le test GENIE II HIV1/HIV2 est un test immuno- enzymatique de double reconnaissance, basé sur la détection spécifique des anticorps anti HIV1 et anti HIV2 par des antigènes .

Le test utilise l'immunochromatographie et l'immuno concentration en combinaison.

Le support de réaction (fig3) est constitué de deux puits : un puits A de forme circulaire pour le dépôt de l'échantillon et un puits B plus grand et elliptique qui est le puits de réaction.

Le test débute par le dépôt dans le puits échantillon A de l'échantillon dilué . Les anticorps anti VIH contenus dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux antigènes VIH biotinylés et migrent le long de la membrane chromatographique.

Au niveau du puits B les complexes antigènes –anticorps se lient aux antigènes VIH immobilisés au cours d'une étape de double reconnaissance.

Le complexe résultant réagit avec un conjugué streptavidine-phosphatase alcaline.
 L'addition d'un substrat chromogénique permet la visualisation des résultats sous la forme d'un spot gris bleu.
 Enfin, l'addition d'une solution de visualisation termine la réaction : l'apparition de deux ou trois spots gris bleu dans le puits B indique la présence d'anticorps anti VIH.
 Dans le cas d'un résultat négatif, seul le spot de contrôle interne sera visible (Fig : 3).

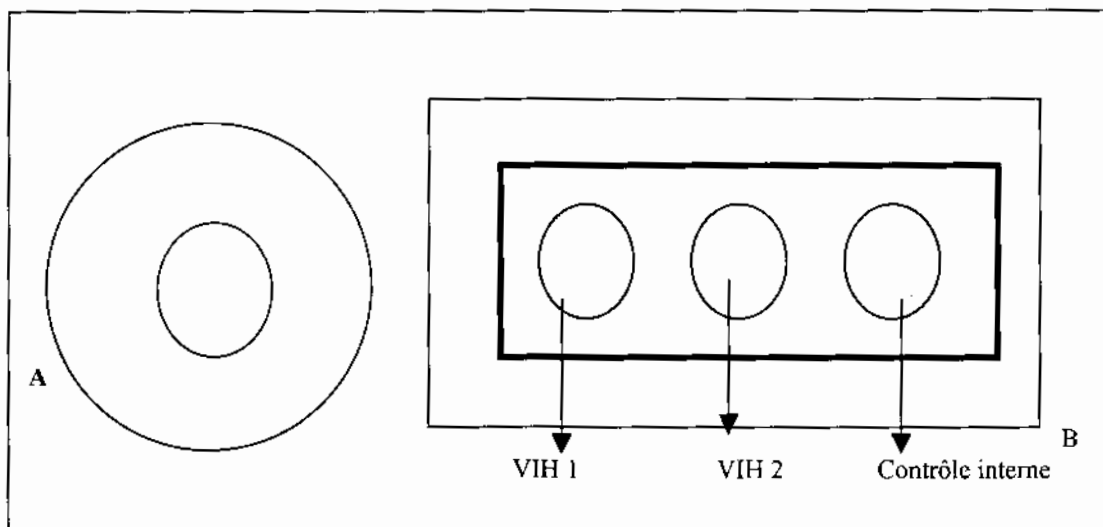


Figure 3 : schémat du test Genie II

IMMUNO COUMB II (code : 60432002 -Version : 432/E7-
 Format :3x12 tests « **ORGENICS** »

La trousse IMMUNO COUMB II HIV1&HIV2 BISPOT est un test immunoenzymatique indirect en phase solide(EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents ; chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points ou spots de réaction.

-Spot supérieur : anticorps de chèvre anti immunoglobulines
 humaines (contrôle interne)

-Spot médian : peptides synthétiques (HIV2)

-Spot inférieur : peptides synthétiques (HIV1)

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et pré-distribués dans le bac de développement.

Le bac de développement est divisé en 6 compartiments (A-F) de 12 puits chacun ; chaque compartiment correspond à un réactif et à une étape du test. Le déroulement du test consiste à transférer le peigne d'un compartiment à un autre.

Le test débute par la distribution des échantillons de sérum ou du plasma dans les puits du compartiment A ; le peigne est alors introduit dans les puits du compartiment A, les anticorps anti VIH éventuellement présents dans les échantillons testés se lient de façon spécifique aux peptides synthétiques VIH immobilisés à la surface des dents du peigne.

Parallèlement, les immunoglobulines contenues dans les échantillons sont capturées au niveau supérieur par les anticorps anti immunoglobulines humaines (contrôle interne).

Tout anticorps non fixé de façon spécifique lors de cette étape est éliminé au cours d'une étape de lavage dans le compartiment B.

Dans le compartiment C, les immunoglobulines humaines de classe IgG fixées sur les dents de peigne sont reconnues par les anticorps de chèvre anti IgG humains conjugués à la phosphatase alcaline (PA).

Après deux nouvelles étapes de lavage dans les compartiments D et E, la phosphatase alcaline réagit dans le compartiment F avec un composé chromogénique ; cette dernière réaction permet la visualisation des résultats sous forme de spot gris bleu à la surface des dents du peigne.

En 10mn, 3 spots gris bleu doivent être visibles sur la dent du contrôle positif.

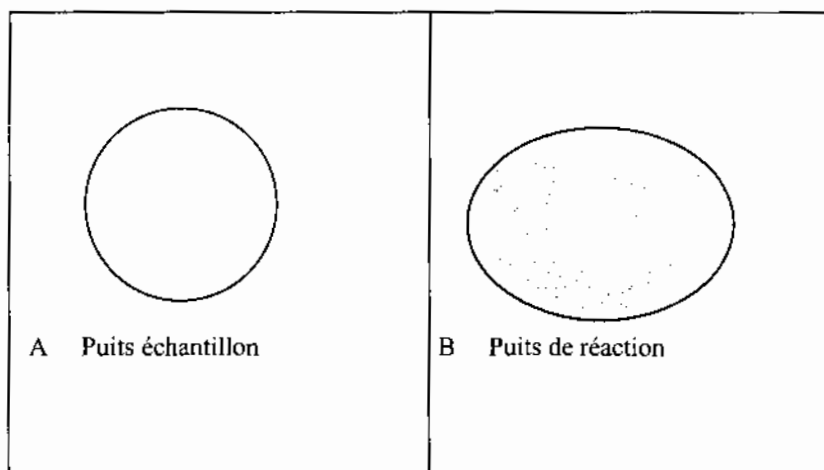


Fig : 4 : schémat du test Immuno Coumb II

RESULTATS

IV-RESULTATS

1-LES RESULTATS GLOBAUX :

Nous avons travaillé sur 1309 produits pathologiques dont 1158 crachats (88,46%) et 151 autres produits divers (11,54%).

Sur les 1309 échantillons étudiés, 188 échantillons étaient positifs (14,36%) dont 182 à la microscopie et 6 cas positifs à la culture sur milieu de Lowenstein Jensen. Parmi ces 188 patients, 113 ont été testés à la sérologie VIH avec 17 cas positifs soit (15,04%).

2-LES CARACTERISTIQUES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES DES PATIENTS :

2-1-LA NATURE DES PRODUITS PATHOLOGIQUES :

Tableau XII : Répartition des produits pathologiques en fonction de leur nature.

Produits pathologiques	nombre	Pourcentage
Crachats	173	92,02%
Sécrétions endo-bronchiques	3	1,60%
Aspiration bronchique	1	0,53%
Liquides de ponction	9	4,79%
Urine	1	0,53%
Liquide péricardique	1	0,53%
Total	188	100%

Nous avons majoritairement des crachats avec 92,02% contre 7,98% pour les autres produits pathologiques.

2- 2-LA PROVENANCE DES PRODUITS PATHOLOGIQUES :

Nos patients viennent essentiellement de l'Hôpital national du point G avec 98 cas (52,13%), suivi du centre de santé communautaire de Banconi avec 16 cas 8,51% (tableau XIII).

Tableau XIII : Répartition des échantillons en fonction de leur provenance.

Produits pathologiques	DAT	H.P.G	H.G.J	INRSP	C I	C II	ASACOBA	Autres	Total
Crachats	10	83	13	7	10	5	16	29	173
Aspiration bronchique	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Sécrétions endo bronchiques	0	3	0	0	0	0	0	0	3
Liquide de Ponction	0	9	0	0	0	0	0	0	9
Urine	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Liquide péricardique	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Total	10	98	13	7	10	5	16	29	188

2-3-REPARTITION DES PRODUITS PATHOLOGIQUES EN FONCTION DE LA CATEGORIE DES PATIENTS :

nos malades se divisent en anciens et nouveaux (Tableau XIV).

Nous avons majoritairement des crachats avec 92,02% contre 7,98% pour les autres produits pathologiques.

2- 2-LA PROVENANCE DES PRODUITS PATHOLOGIQUES :

Nos patients viennent essentiellement de l'Hôpital national du point G avec 98 cas (52,13%), suivi du centre de santé communautaire de Banconi avec 16 cas 8,51% (tableau XIII).

Tableau XIII : Répartition des échantillons en fonction de leur provenance.

Produits pathologiques	DAT	H.P.G	H.G.T	INRSP	C I	C II	ASACOBA	Autres	Total
Crachats	10	83	13	7	10	5	16	29	173
Aspiration bronchique	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Sécrétions endo bronchiques	0	3	0	0	0	0	0	0	3
Liquide de Ponction	0	9	0	0	0	0	0	0	9
Urine	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Liquide péricardique	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Total	10	98	13	7	10	5	16	29	188

2-3-REPARTITION DES PRODUITS PATHOLOGIQUES EN FONCTION DE LA CATEGORIE DES PATIENTS :

nos malades se divisent en anciens et nouveaux (Tableau XIV).

Tableau XIV : Répartition des produits pathologiques selon la catégorie des sujets :

Produits pathologiques	Nouveaux	Anciens	Total
crachats	142	31	173
Autres	15	0	15
Total	157 (83,51%)	31 (16,49%)	188 (100%)

La quasi-totalité de nos patients était des nouveaux avec (83,51%).

2-4-REPARTITION DES PRODUITS PATHOLOGIQUES EN FONCTION DU

SEXE :

Tableau XV : Répartition des produits pathologiques en fonction du sexe.

Produits pathologiques	Sexe		Total
	Masculin	Féminin	
Crachats	127	46	173
Aspiration bronchique	1	0	1
Secretions endo-bronchiques	1	2	3
Urine	0	1	1
Liquide péricardique	1	0	1
Liquide de ponction	6	3	9
Total	136 (72,34%)	52 (27,66%)	188 (100%)

Ce tableau montre que les hommes sont plus représentés que les femmes dans notre échantillon avec un sexe ratio de $136/52 = 2,62$.

2-5- REPARTITION DES PRODUITS PATHOLOGIQUES EN FONCTION DE L'AGE DES PATIENTS :

Plus de 75% de nos patients ont une tranche d'âge comprise entre 20 à 50 ans qui est la tranche d'âge de la population hautement productive (tableau XVI).

Tableau XVI : Répartition des produits pathologiques selon l'âge des patients :

Age (année)	crachats	Aspiration bronchique	Secretions Endo bronchiques	Liquide de ponction	Urine	Liquide péricardique	Total
[0-10[0	0	0	1	0	0	1
[10-20[6	0	0	0	0	0	6
[20-30[57	0	1	2	0	1	61
[30-40[51	0	0	4	0	0	55
[40-50[24	0	1	1	0	0	26
[50-60[18	1	0	1	1	0	21
[60-70[8	0	0	0	0	0	8
[70-80[6	0	1	0	0	0	7
[80-90[0	0	0	0	0	0	0
[90-100[0	0	0	0	0	0	0
Indéterminé	3	0	0	0	0	0	0
Total	173	1	3	9	1	1	188

2-6-- REPARTITION DES PRODUITS PATHOLOGIQUES EN FONCTION DE LA PROFESSION DES PATIENTS .

Tableau XVII : Répartition des produits pathologiques selon la profession des malades :

Professions	crachats	Aspiration bronchique	Secrétions Endo bronchiques	Liquide de ponction	Urine	Liquide péricardique	Total
Cultivateurs	26	0	0	0	0	0	26 (13,83%)
Ménagères	25	0	1	0	0	0	26 (13,83%)
Commerçants & vendeurs	15	0	0	0	0	0	15 (7,98%)
Chauffeurs	8	0	0	0	0	0	8 (4,26%)
Eleveurs	6	0	0	0	0	0	6 (3,19%)
Elèves	13	0	0	1	0	0	13 (7,45%)
Autres	80	1	2	8	1	1	93 (49,46%)
Total	173	1	3	9	1	1	188 (100%)

3- LES RESULTATS DU LABORATOIRE :

3-1- LA BACILLOSCOPIE :

Tous les échantillons retenus étaient positifs à l'examen direct sauf 3 produits pauci bacillaires et trois crachats qui se sont révélés positifs à la culture sur milieu de Lowenstein Jensen.

3-1-1- Résultats de la bacilloscopie en fonction de la catégorie des patients.

Tableau XVIII : Résultats de la bacilloscopie selon la catégorie des patients :

Bacilloscopie	Catégories des malades				Total	%
	Nouveaux		Anciens			
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage		
Positive	155	96,88%	27	96,55%	182	93,10%
Négative	5	3,22%	1	3,45%	6	6,90%
Total	160	100%	28	100%	188	100%

La majorité des patients avait une bacilloscopie positive quelle que soit leur catégorie.

3-2-LES RESULTATS DU TEST SEROLOGIQUE VIH

Sur les 188 patients, le test sérologique VIH a pu être effectué sur 106 patients avec 7 résultats fournis par les malades eux-mêmes (dont 4 positifs et 3 négatifs) soit un total de 113 patients (60,11%).

Les 75 patients (39,89%) n'ont pas approuvé leur consentement pour le test VIH.

Tableau XIX : Répartition des patients selon les résultats du test sérologique.

Sérologie	Nombre de cas	Pourcentage
Positifs	17	15,04%
Négatifs	96	84,96%
Non testés	75	39,89%
Total	188	100%

La séroprévalence du VIH dans cette population étudiée est de **15,04%**.

Le VIH1 est le plus fréquent (15 cas/17) soit 88,24%.

VIH2 et l'association VIH1/VIH2 représentent 5,88% chacun.

3-3- CULTURE :

Nous avons effectué la culture de 182 produits pathologiques frottis positifs sur milieu de Lowenstein Jensen auxquels s'ajoutent les cultures positives des frottis négatifs.

3- 3- 1- Résultats de la culture :

Tableau XX : Résultats de la culture :

Culture	Nombre de cas	Pourcentage
Positive	117	65,31%
Négative	32	17,02
Contaminée	39	20,75%
Total	188	100%

3- 3- 2- Résultats de la culture en fonction de la nature des produits pathologiques.

Tableau XXI : Résultats de la culture en fonction de la nature des produits pathologiques.

Produits pathologiques	Nombre	Culture positive	
		Nombre	Pourcentage
Crachats	173	108	62,42%
Aspiration bronchique	1	0	0
Liquide de ponction	9	7	77,78%
Urine	1	1	100%
Secrétions endo-bronchiques	3	1	33,33%
Liquide péricardique	1	0	0
Total	188	117	65,31%

3- 3- 3- Résultats de la culture en fonction de la bacilloscopie.

Tableau XXII : Résultats de la culture selon la bacilloscopie :

Culture	Bacilloscopie				Total
	Positive		Négative		
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
Positive	111	60,99%	6	100%	117
Négative	32	17,58%	0	0	32
Contaminée	39	21,43%	0	0	39
Total	182	100%	6	100%	188

Seulement 61% des cas positifs à la bacilloscopie ont donné une culture positive.

3- 3- 4- Résultats de la culture en fonction de la sérologie VIH :

Tableau XXIII : Résultats de la culture selon les résultats du test sérologique VIH.

Culture	Sérologie						Total
	Positive		Négative		Non testés		
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	
Positive	9	52,94%	67	67,79%	41	54,67%	117
Négative	5	29,41%	18	18,75%	9	12,00%	32
Contaminée	3	17,65%	11	11,46%	25	33,33%	39
Total	17	100%	96	100%	75	100%	188

P = 0,67

3- 4- IDENTIFICATION DES MYCOBACTERIES :

Sur les 117 cultures positives obtenues, 58 cultures positives ont fait l'objet d'identification soit 49,57%.

Tableau XXIV : Identification des souches de mycobactéries :

Espèces	Nombre	%
<i>M. tuberculosis</i>	50	86,20%
<i>M. africanum</i>	4	6,9%
<i>M. atypiques</i>	4	6,9%
Total	58	100%

Nous n'avons pas identifié *Mycobacterium bovis* ; cela est lié peut être au fait que nous n'avons pu utiliser du pyruvate qui est un facteur stimulant de cette croissance.

3- 5-SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.

Nous avons effectué 64 antibiogrammes ; 57 ont été interprétés soit 84,38% dont 45 nouveaux malades et 12 anciens. Nous avons testé la sensibilité des souches à 4 anti tuberculeux :

Isoniazide (I), Streptomycine (S), Rifampicine (Rif), Ethambutol (EMB).

3-5 1- L'étude de la résistance chez les nouveaux malades.

La résistance chez les nouveaux malades ou résistance initiale est la résistance rencontrée chez les malades n'ayant jamais subi un traitement anti tuberculeux.

Elle est la conséquence de la contamination des sujets sains par des porteurs de bacilles résistants.

Cette résistance peut être simple (monorésistance = résistance à un seul antibiotique) ou multiple (polyrésistance).

Tableau XXV: Etude de la résistance chez les nouveaux malades.

Profil de résistance	Nombre total	Résistance	
		Nombre	pourcentage
Isoniazide seul (H)	45	4	8,89%
Streptomycine seul (S)	45	1	2,22%
Rifampicine seul (R)	45	2	4,44%
Ethambutol seul (EMB) ou (E)	45	0	0
Rifampicine & Streptomycine (RS)	45	1	2,22%
Isoniazide & Rifampicine (HR)	45	2	4,44%
Isoniazide & Streptomycine (HS)	45	1	2,22%
Ethambutol & Streptomycine (ES)	45	1	2,22%
Isoniazide, Streptomycine & Rifampicine (HSR)	45	3	6,66%
H S R E	45	1	2,22%
Total	45	16	35,55%

La résistance globale est de 16 souches sur 45 soit 35,55%.

Sur les 45 souches hébergées par ces nouveaux malades 29 souches sont sensibles à tous les antibiotiques testés soit 64,44%.

Nous avons 7 souches qui sont monorésistantes soit 15,56% et 9 souches polyrésistantes soit 20% dont une souche résistante à tous les antibiotiques (HSRE) soit 2,22% .

Les souches multi-drogues résistantes (toutes les souches comportant le phénotype de résistance HR) sont au nombre de 6 sur 45 soit environ 13,33%.

Tableau XXVI: Résumé des phénotypes de résistance chez les nouveaux patients.

Phénotypes	Nombre	Pourcentage
Résistants à un antibiotique	7	15,56%
Résistants à 2 antibiotiques	5	11,11%
Résistants à 3 antibiotiques	1	2,22%
Résistants à 4 antibiotiques	3	6,67%
Sensibles à tous les antibiotiques	29	64,44%
Total	45	100%

3- 5- 2- Résistance chez les anciens :

La résistance chez les anciens ou résistance acquise est la résistance apparue au cours du traitement chez un sujet qui auparavant hébergeait des bacilles sensibles.

Elle est la conséquence de la sélection de mutants résistants dans une population normale de bacilles tuberculeux par une antibiothérapie inadéquate.

12 souches provenant d'anciens malades ont été testés pour l'étude de la sensibilité chez les anciens malades.

Tableau XXVII : Phénotype de résistance chez les anciens malades.

Phénotype de résistance	Nombre total	Nombre de résistants	% de résistance
Isoniazide seul	12	3	25%
Rifampicine seul	12	1	8,33%
Isoniazide & Rifampicine	12	3	25%
Rifampicine & Streptomycine	12	1	8,33%
Rifampicine, Ethambutol & Streptomycine	12	1	8,33%
Total	12	9	75%

On note 3 souches qui sont sensibles à tous les antibiotiques.

Tableau XXVIII: Résumé des phénotypes de résistance chez les anciens malades.

Phénotype de résistance	Rapports	Pourcentage
Résistants à un antibiotique	4/12	33,33%
Résistants à 2 antibiotiques	4/12	33,33%
Résistants à 3 antibiotiques	1/12	8,34%
Sensibles à tous les antibiotiques	3/12	25%
Total	1	100%

La résistance globale chez ces malades se situe à 75%.

Nous n'avons noté que 4 cas de monorésistance : à l'INH (25%) et à la Rifampicine (8,33%) donc un taux global de 33,33%.

Le taux de polyrésistance se situe à 41,66% et les souches multidrogues résistantes (HR) sont au nombre de 3/12 soit 25%.

Parmi les 9 anciens malades présentant des résistances :

- 5 personnes étaient au cours de leur contrôle de deuxième mois de traitement tous traités au régime court de 8 mois (2RHZS/6HE) sauf un qui était traité au régime de 2RHZ/6HE.

- Un sixième malade était au cinquième mois de son traitement et résistait à la Rifampicine ; il était aussi traité au régime de 2RHZS/6HE.

- Deux des neufs étaient au cours de leur premier retraitement :

L'un au cinquième mois après un premier échec de traitement hébergeant un bacille résistant à la fois à la Rifampicine et à l'Isoniazide.

L'autre pour irrégularité au traitement hébergeant aussi des bacilles résistant à la fois à la Rifampicine et à la Streptomycine.

- Le neuvième malade était reçu pour un contrôle au cours de son deuxième retraitement ; il hébergeait un bacille qui résistait aux trois antibiotiques majeurs du programme national de lutte contre la tuberculose au Mali (rifampicine ,ethambutol ,streptomycine).

Pour ces 2 derniers groupes, les régimes anciens de traitement auxquels ils ont été soumis n'ont pu malheureusement être élucidé.

DISCUSSIONS

2-DISCUSSIONS SUR LES OBJECTIFS PRINCIPAUX

- La nature des espèces de mycobactéries en cause
- La fréquence du VIH chez les tuberculeux
- La résistance du bacille tuberculeux chez les nouveaux et les anciens malades tuberculeux.

***La nature des espèces de mycobactéries en cause :

Dans ce travail, sur les 117 cultures positives obtenues, 58 souches ont été identifiées soit 49,47%.

A l'issue de cette identification, nous avons obtenu :

86,20% de *Mycobacterium tuberculosis*

6,9% de *Mycobacterium africanum*

6,9% de *Mycobacterium atypiques*

Nous n'avons pas isolé de *Mycobacterium bovis*

Nous pouvons confronter ces résultats à ceux d'autres études similaires.

En 1972/1973, Grosset et al trouvaient 67,5% de *Mycobacterium tuberculosis* et 32,5% de *Mycobacterium africanum* (19).

En 1979/1980, Touré et Sangaré trouvaient 67,2% de *Mycobacterium tuberculosis* contre 30,4% de *Mycobacterium africanum* (60).

En 1981/1982, Sangaré (S) avait trouvé 68,18% de *Mycobacterium tuberculosis* et 29,54% de *Mycobacterium africanum*(50).

1982/1983, Maïga avait trouvé 65% de *Mycobacterium tuberculosis* et 32% de *Mycobacterium africanum*(29).

EN 1989, Ba avait trouvé 95% de *Mycobacterium tuberculosis* et 2,5% de *Mycobacterium africanum* et 2,5% de *Mycobactérium atypiques* (2).

En 1989, Tangara trouvait 96,4% de *Mycobacterium tuberculosis* contre 1,8% de *Mycobacterium africanum* et 1,8% d'atypiques (57).

En 1991, Guindo avait trouvé 91% de *Mycobacterium tuberculosis* et 5% de *Mycobacterium africanum* et 3,13% de *Mycobactérium atypiques* (27).

En 1996, Sanogo avait eu 76,09% de *Mycobacterium tuberculosis*, 17,39% de *Mycobacterium africanum* et 0 *Mycobacterium bovis* (34).

En 1998, Sangaré a trouvé 82,35% de *Mycobacterium tuberculosis*, 11,77% de *Mycobacterium africanum* et 5,88% d'atypiques (19).

En 2000, Sissouma trouvait 85,51% de *Mycobacterium tuberculosis*, 10% de *Mycobacterium Africanum*, 14,49% d'atypiques et 0 *Mycobacterium bovis* (54).

D'autres études faites dans d'autres pays et selon la publication de l'OCCGE N° 166/BIO.

CM. 7533/ DOC-TECH 80, On a noté :

En Mauritanie, sur 156 souches , 67% de *Mycobacterium tuberculosis* contre 57% de *Mycobacterium africanum* en 1979.

Au Niger (NIAMEY), sur 264 souches, 54,4% était *Mycobacterium tuberculosis* en 1980.

Au Burkina Fasso, sur 55 souches étudiées à Dori, il y avait 49% de *Mycobacterium tuberculosis*

En 1975, sur 429 cultures positives 68% était *Mycobacterium tuberculosis* contre 32% de *Mycobacterium africanum*

En 1987, on a trouvé 67,04% de *Mycobacterium tuberculosis* et 32,06% de M. africanum.

Au Togo, 1981/1983, Touré et coll. trouvaient 47,80% de M. tuberculosis et 48,25% de *Mycobacterium africanum* (60).

A la lumière de tous ces résultats, nous pouvons dire qu'il y a une inégalité dans la répartition des espèces de mycobactéries dans nos pays avec une nette prédominance de *Mycobacterium tuberculosis*.

Aussi, dans notre pays, ces résultats montrent qu'il y a une prééminence de cette dernière souche par rapport aux autres espèces de mycobactéries dans la survenue de l'infection tuberculeuse.

Et aussi les trois sujets porteurs de VIH de notre étude pour lesquels nous avons identifié les souches étaient infectés par *Mycobacterium tuberculosis*.

En certaines zones d-Afrique (Est, Centrale), *Mycobacterium africanum* reste élevé 60-90%(61) ; mais demeure rare en Afrique du Nord où elle est presque absente (49).

Par contre la rareté de pourrait être liée à la non-utilisation constante du pyruvate qui est un facteur de développement pour elle.

*****La fréquence du VIH chez les tuberculeux :**

Dans notre étude, sur les 113 patients, 17 avaient une sérologie VIH positive soit 15,04%.

En Afrique : La proportion de tuberculeux séropositifs varie de 20-60% en Moyenne en Afrique subsaharienne. Les taux les plus significatifs publiés par différents pays sont :

- Zambie (52), 60% parmi les patients admis au Sanatorium.
- Zimbabwe (16), 40-60% au centre anti tuberculeux de Harare.
- Kenya (35), 26,5% parmi les patients de « Infections Diseases Hospital ».
- Zaïre (55), 36% parmi les malades dépistés de l'hôpital Mama Yemo de Kinshassa.
- Côte d'ivoire (12), 26-48% au sein de la population tuberculeuse.
- Au Maghreb, le taux de séropositivité chez les tuberculeux en milieu hospitalier varie de 30% en Tunisie (28) à 1,25% en Algérie (25).

Au Mali, ce taux reste encore bas comparativement à celui d'autres pays car il passait de 4% en 1987 à 12,4% en 1988 dans le service de pneumo phtisiologie de l'hôpital du point G à Bamako (51).

Ce taux était de 11,34% en 1998/99 (55).

En 2000, Sissouma a trouvé un taux de 14,03% (54) dans une étude réalisée à l'institut National de Recherche en santé Publique.

*****La résistance du bacille tuberculeux chez les nouveaux et les anciens malades tuberculeux :**

Nous avons déterminé la sensibilité de 57 souches aux anti tuberculeux ; il y avait 45 nouveaux malades et 12 anciens.

◆ *Résistance chez les nouveaux :*

Les mycobactéries ont une bonne sensibilité vis à vis des antibiotiques testés ; néanmoins présentent quelques résistances qui méritent d'être étudiées.

Dans cette étude, 29 des 45 souches étaient sensibles à tous les antibiotiques soit 64,44% contre 59,60% en 1996 (34) et 60% en 2000 (54).

- **La résistance globale :**

Dans cette étude, nous avons une résistance globale (résistance à un antibiotique ou plus) de 35,55%.

Ce taux de résistance globale était de 68% en 1980/1989 ; 67% en 1990/1999 ; 57,84% en 2000 et 40% en 2000/2001 (54).

On constate une diminution progressive de ce taux global qui témoigne de la réussite de la chimiothérapie anti tuberculose.

- **La monorésistance :** elle est de 15,56% et reste dominée par la résistance à l'isoniazide (8,89%) suivie de celle à la rifampicine (4,44%).

La résistance à la streptomycine est de 2,22% contre 0% pour l'ethambutol.

Les résistances à la streptomycine et à l'isoniazide semblent être plus étudiées, ainsi on a les résultats suivants :

En 1980-1981, Touré avait trouvé une résistance de 10,10% pour l'isoniazide et 5,10% pour S (49).

En 1982-1983, Maïga a trouvé 12,06% pour l'isoniazide et 5,17% pour la streptomycine (29).

En 1989-1990, Touré avait trouvé 6,1% pour l'isoniazide et 7,1% pour la streptomycine (62).

En 1993-1993, Sanogo trouvait 16,16% pour l'isoniazide et 9,09% pour la streptomycine (34).

Des études réalisées respectivement en 1978 et 1994 font état de 8,7% pour l'isoniazide contre 6,5% pour la streptomycine.

Et 7,6% pour l'isoniazide contre 12,4% pour streptomycine (44).

La résistance à l'isoniazide est de l'ordre de 8% en Algérie (60).

Et quelques chiffres par rapport aux résistances à la rifampicine et à l'ethambutol montrent que :

En 1990-1991, Guindo a trouvé 2,7% pour la rifampicine et 0 pour l'ethambutol (17).

En 1993-1996, Sanogo a trouvé 0 pour la rifampicine et 1,01 pour l'ethambutol (34).

En 1996-1997, Sangaré a trouvé 1,11% pour Rif et 2,22% pour l'ethambutol (48).

Une étude réalisée en 1987 en France faisait état de 4% pour l'isoniazide, 7% pour la streptomycine, 0,02% pour l'ethambutol et 0,05% pour la rifampicine (46).

Nous remarquons que la résistance à la rifampicine augmente peu à peu au fil des ans et passe ainsi de 1981-2001/2002 au Mali de 1,40%-4,44%.

1981-1982 (Sangaré) 1,40% (50).

1982-1983 (Maïga) 1,72% (29).

1989-1990 (Ba) 2,32% (2).

1993-1996 (Sanogo) 0 (34).

1996-1997 (Sangaré) 1,11% (49%).

1999-2000 (Sissouma) 14,29% (54). Pour ce travail : 4,44%.

Tableau XXIX : Evolution de la résistance chez les nouveaux patients au Mali de 1980-2001

Auteurs »	1980	1981-1982	1982-1983	1989-90	1990-91	1993-96	1996- 97	1999-00	Ce
Antibiotiques	Sangaré (50)	Sangaré (50)	Maïga (29)	Ba (2)	Guindo (17)	Sanogo (34)	Sangaré (50)	Sissouma (54)	travail
H	-	10,10%	12,06%	23,26%	22,70%	16,16%	4,44%	4%	8,89%
S	-	05,10%	05,17%	20,93%	18,20%	09,9%	14,44%	-	2,22%
H&S	21,4%	20,80%	09,17%	18,60%	18,20%	3,03%	8,88%	-	2,22% ⁴
R	-	01,40%	01,72%	02,32%	02,70%	00,00%	1,11%	-	4,44%
H+S+E	-	-	-	-	-	-	-	4%	-
H+R+S+E	-	-	-	-	-	-	-	12%	6,66%

-La polyrésistance chez les anciens malades :

Nous avons eu les résultats suivants :

2,22% de résistance à l'isoniazide et à la streptomycine

4,44% de résistance à l'isoniazide et à la rifampicine

6,66% de résistance à la fois à la streptomycine , à l'isoniazide et à l'ethambutol

2,22% de résistance à la fois à l'isoniazide, à la streptomycine et à la rifampicine

4 des 6 phénotypes de résistance comportent de l'isoniazide et les deux autres phénotypes comportent la streptomycine.

En raison de leur effet bactéricide, une résistance à la fois à la streptomycine et à l'isoniazide compromet la réussite du traitement.

♦ *La résistance chez les anciens malades :*

3 souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés soit 25%.

La résistance globale se situait à 75% chez ces malades contre 50% en 2000 (54), 96% en 1989 (57) et 93,50% en 1996 (34) tandis qu'étude faisait cas de 30,4% en 1978 (32).

La monorésistance : elle était dominée par l'isoniazide (25%) contre 16,12% en 1996 (34) ; on note un seul cas de résistance à la rifampicine soit 8,33%.

Il n'y a pas de monorésistance ni à la streptomycine, ni à l'ethambutol dans cette population.

La polyrésistance chez les anciens : le taux de poly résistance est de 5/12 (41,67%) contre 50% en 2000 (54) et 74,13% en 1996 chez Sanogo (34).

Les phénotypes RS et HR sont les plus dominants avec des fréquences respectives de 8,33% et (25%).

Tous les phénotypes des cas de polyrésistance comportent la rifampicine.

Nous avons 4 souches qui résistaient à 2 antibiotiques (33,33%) contre (27,27%) en 1989 et une souche qui résistait à 3 antibiotiques (8,33%) contre 8% en 2000.

Tableau XXX: Etude comparative de la poly résistance chez les nouveaux dans certains pays d'Afrique de l'Ouest

Année	Pays	Auteurs	Nombre de souches étudiées	Pourcentage de résistance aux associations d'antibiotiques						
				H+S	H+T	+R	H+S+R	H+S+T	H+S+E	H+S+R+E
1996	Côte d'Ivoire	Delormas (24)	130	-	4,7	-	-	-	-	-
1973	Sénégal	N'Diaye (33)	16	6,2	6,2	-	-	-	-	-
1974	Côte d'Ivoire	Rondant (45)	318	2,2	0,65	-	-	-	-	-
1974	Sénégal	N'Diaye (33)	32	9,3	6,2	-	-	-	-	-
1975	Sénégal	N'Diaye (33)	116	6	4,3	-	-	-	-	-
1975-1976	Mauritanie	Villon (65)	90	23	-	-	-	-	-	-
1976	Sénégal	N'Diaye (33)	71	7	2,8	-	-	-	-	-
1977	Sénégal	N'Diaye (33)	66	0	0	-	-	-	-	-
1978	Sénégal	N'Diaye (33)	99	10	4	-	-	-	-	-
1981	Mali	Sangaré (50)	33	20,80	-	-	1,4	-	-	-
1980-1982	Mali	Touré (62)	116	9,5	10,3	1,7	-	7,8	-	-
1982-1983	Togo	Touré (60)	227	6,25	2,54	0,78	10	1,56	-	-
1982	Mali	Maïga (29)	58	9,17	-	-	-	-	-	-
1983-1990	Mali	Ba(2)	43	18,60	13,95	0	2,33	13,95	-	-
1988-1990	Mali	Touré (62)	98	6,1	6,1	1,0	-	3,1	-	-
1990-1991	Mali	Guindo (17)	44	18,20	-	-	2,70	-	-	-
1993	Bénin	Amagou nou	108	8,5	-	-	-	-	-	-
1993-1996	Côte d'Ivoire	Maurice (9)	105	-	-	5	-	-	-	-
1993-1996	Mali	Sanogo (34)	99	3,03	1,54	1,0	1,01	2,02	-	-
1996-1997	Mali	Sangaré (50)	114	8,88	0	1,11	5,55	0	-	-
1999-2000	Mali	Sissou Ma (54)	20	-	-	-	-	-	4	12
2000-2001	Mali	Ce travail	57	2,22	-	4,44	2,22	-	-	6,66

CONCLUSION

VI-CONCLUSION

Au terme de cette étude effectuée au laboratoire de référence de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) d'octobre 2000 à décembre 2001, nous avons 188 produits pathologiques positifs à la recherche de bacilles acido alcool résistants (BAAR) sur 1306 échantillons étudiés.

Ces 188 produits pathologiques provenaient essentiellement de l'hôpital national de Point G. Nous avons eu 117 cultures positives soit 65,31% ; Parmi lesquels nous avons pu faire l'identification de 58 souches soit 49,57%.

Nous avons eu 50 souches (86,20%) de *Mycobacterium tuberculosis*, 4 souches (6,9%) de *Mycobacterium africanum* et 4 souches (6,9%) de *Mycobacterium atypiques* ; il n'y a pas eu de *Mycobacterium bovis*

La séroprévalence du VIH dans la population tuberculeuse est de **15,04%**.

Parmi les 45 souches des nouveaux sujets, 29 souches étaient sensibles à tous les antibiotiques soit 64,44% . Le taux de mono résistance est de 15,56%

Pour la poly résistance, le taux de polyrésistance globale était de 20%.Et le taux de monorésistance est de (15,56%).

Parmi les anciens (au nombre de 12) malades, 3 souches sont sensibles à tous les antibiotiques soit 25%, avec 4 souches mono résistantes (33,33%) et 5 souches poly résistantes (41,67%).

Au regard des résultats observés ça et là, nous constatons que la résistance chez les nouveaux tuberculeux (résistance initiale) est en baisse ce qui dénote l'efficacité de la lutte anti tuberculeuse. Ces résultats encourageants nous appelle plus à l'effort pour enrayer cette maladie qui ne cesse de gagner du terrain grâce à la pandémie du SIDA.

RECOMMENDATIONS

VII- Recommandations :

- ◆ Dépister et traiter de tous les cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive

 - ◆ Rédynamiser le programme national de lutte contre la tuberculose

 - ◆ Renforcer les infra structures du dépistage au niveau du district

 - ◆ Renforcer le laboratoire national de référence de la tuberculose en équipements , réactifs et personnels.

 - ◆ Encourager la chimiothérapie de courte durée pour minimiser la transmission inter humaine et aussi financer le programme national de lutte contre la tuberculose .

 - ◆ Entretenir une relation entre le programme national de lutte contre la tuberculose et le programme national de lutte contre le SIDA.
-

BIBLIOGRAPHIE

1- ALBERT(JP), MENARD (M), RETIF(M).

Résultats des antibiogrammes pratiqués sur les mycobactéries isolées au centre Muraz en 1967-1968. Med Afr noire 1969 ; 16 :425-426.

2-BA (A).

Nouvelle contribution à l'étude de la résistance primaire du bacille tuberculeux au Mali
Thèse de pharmacie. Bamako 1989 , N° 18 ; 99P.

3-BARRE SINOUSI(F), CHERMAN(JC), REY(F) et al.

Isolation of a lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrom(AIDS).

Sciences 1983 ; 220 : 868-71.

4-BARRIN(F), M'BOUP(S), DENIS(F) et al.

Serologic evidence for virus related to simian T.lymphotropic retrovirus III in resident of west Africa .Lancet 1985 ; II :138-139.

5-Bulletin de l'ordre national des pharmaciens du Mali. N° 007 d'octobre 2001 ; P.5.**6.CANETTI(G), RIST(N), GROSSET(J).**

Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues anti bacillaires par la méthode de proportion, méthodologie, critère de résistance résultats, interprétation.

Rev Tuber Pneumo 1963 ; 27 :217-272.

7-CASTETS (M), RIST (N), BOISVERT(H), GRUMBACH (F), BRUNEL (N).

Les bacilles tuberculeux, Type africain.

Tuber Pneumol 1968 ; 32 : 179-184.

8-CASTETS(M), RIST(N), BOISVERT(H).

La variété africaine du bacille tuberculeux.

Paris 1960 ; 9 :16- 321.

9-CHANTAL(M), ADAM(ML), KOUASSI(J) et al .

La résistance aux antibiotiques de *Mycobacterium tuberculosis* à Abidjan (C.I).

1^{er} congrès scientifique de la SOAMI N° 1 Tub ; 49 P.

10-DE SOUZA(VC).

Contribution à l'étude bactériologique, épidémiologique, immunologique de
Mycobacterium africanum.

Thèse médecine.Dakar 1974, N° 8 ; 101P.

11-Dictionnaire petit Larousse illustré en couleur 1998.

12-DOSSO(M), COULIBALY(M), PORTAELS(F), KACOU N'DIOU(A)

KOUAKOU(A).

La résistance des mycobactéries aux antituberculeux, nouveau problème de santé
Publique lié au VIH : la situation de Côte d'ivoire.

Sid Alerte N° 23 ; Avril 1993.

13-DUVAL(J), SOUSSY(J).

Antibiothérapie (base bactériologique pour l'utilisation des antibiotiques).

Paris : Masson,1985 ;180P.

14-FELDMAN (W.H) et HINSHAW (H.C).

Proceeding of the staff meeting of the Mayo clinic 1944 ; 19 :590-593 .

15-FERNAND (T), BERNARD (C).

Recherche, isolement et étude du bacille tuberculeux et des autres mycobactéries.

Paris : Crouan & Roques, 1986 ;399P.

16-GENTILINI(M), KAPTUE(L), CHIEZE(F), M'PELE(P), NASPLEZES(B).

Le SIDA en Afrique

O. P. A. L. S 1992 ;12.

17-GUINDO (A).

Etude de la résistance aux anti tuberculeux des souches de bacille hébergés par les malades tuberculeux à Bamako.

Thèse de Pharmacie .Bamako 1990-1992, N° 12 ; 115P.

18- GROSSET(J), SANGARE(S), RIST(N), MEYER(L).

Caractères culturaux et biochimiques des bacilles tuberculeux isolés chez 230 tuberculeux pulmonaires au Mali.

Bull UICT 1974 ; 49 : 1990-2000.

19-GROSSET(J), BOIS VERT(H).

Le bacille de Koch : objectif médical.

Ed Afr Noire Francophone 1987 ; 47 : 42-64.

20-HAZERBROUCQ(g),FAURE (p), GIRRE (L) et al.

Officine de Dorvault . Paris :Vigot 1995 ;23^e édition, 2039P.

21-HEYM(B), COLLE(SI).

Détermination de la sensibilité de *Mycobacterium tuberculosis* aux agents anti tuberculeux.

Med Mal Info 1995 ; 25 : 61- 358.

22-INSTITUT PASTEUR (DIVISION DIAGNOSTIC).

Les mycobactéries : recherche, identification et antibiogramme production 1995.

Paris, 1995 ; 312P.

23-KALYANA RAMAN(VS), SANGAPHARAN(MG) et al.

T cell Leucomia virus (HTLV-III) associated with a T cell variant of hairy cell leucomia

Science 1982, 218 : 571-573.

24-KANGOYE (LT).

Contribution à l'étude de la tuberculose de l'enfant en Afrique de l'Ouest.

Thèse de médecine .Dakar 1976 , N° 19 ; 102P.

**25-KHALED(S), TOUATIOUI(N), AIT KHALED(P), CHAULET(D), LARBAOUI
BOUGERMOUH(A).**

Evaluation de l'infection par le VIH chez les tuberculeux dans un secteur hospitalier

Spécialisé.

J.A.M.(suppl. 1) 4 juillet-Août 1992.

26-LEON LE MINOR , MICHEL VERON.

Bactériologie médicale. Paris :Flam, Med-Sciences 1989 ; 970 P.

27.LEMINOR (L), VERON(M).

Bactériologie médicale. Flam . Paris : Flam ,1982 ; 412P.

**28- MAALEL(K), GARROUCHE(A), HAYOUNI(A), BENZARTI(N), JEMNI(L)
JERRY(M).**

Particularité de la maladie tuberculeuse au cours de l'infection à VIH.

J.A.M.(suppl-1) 4 juillet-Août1992.

29- MAIGA (MD).

Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la tuberculose au Mali.

Thèse de pharmacie. Bamako 1982, 52, N° 3 ;52P.

30-MEYER(L), HUGO(D).

Les mycobactéries en santé publique.

Publication du centre national de référence pour la tuberculose et les mycobactéries

Paris : Institut Pasteur,1979 ; 208P.

31-MEYER(L), HUGO(D).

Mycobactéries en santé publique : centre national de référence pour la tuberculose et les Mycobactéries. Institut Pasteur , Paris 1980.

32- NDHATZ(M), DOMOUA(R), COULIBALY(G) et al .

Les aspects de la radiologie thoracique chez les tuberculeux infectés par le VIH en Côte d'ivoire.

Rév Pneumo clinique 1994 ; 50 : 371-322.

33-N'DIAYE(I).

Surveillance et évolution des résistances aux anti tuberculeux des Mycobactéries humaines isolées à Dakar (1973-1978).

Thèse de médecine. Dakar 1979 , N° 51 ; 104P.

34-N'FAMARA SANOGO.

Etude de la résistance aux anti tuberculeux des souches de bacilles hébergés par les malades tuberculeux dans le district de Bamako.

Thèse de Pharmacie. Bamako1996, N° 21 ;122p.

35-NUNN(P), GICHELA(C), HAYES(R) et al .

Etude transversale de l'infection à VIH parmi les patients tuberculeux à Nairobi (Kenya)

Sid Alerte N° 13 , 1992. 5.

36-O'BRIEN RJ, PERRINS JH .

Preventive therapy for tuberculosis in HIV infection : the promise and the reality.

SIDA 1995 ;9 :665-673.

37-OMS/UICT MR. Guide pour la surveillance de la résistance bactérienne aux

médicaments anti tuberculeux. Geneve : WHO , 1996-97 ;36P.

38. OMS. Communiqué du 21-23 avril 2001 : le VIH responsable du doublement de la tuberculose en Afrique.

Internet : WWW.WHO.Int/inf-pr-2001/fr/cp2001-21.html.

39-ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE.

Tuberculose dans les pays réfugiés .OMS info 1997 ; 2^e édition : 12-13.

40-ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE .

Tuberculose et VIH, manuel clinique. Suisse :OMS ,1996 ;140P.

41-PARROT(R), BRAUM(J), GALLAR(JP), SORS(GH), GROSSET(J).

Les mycobactéries à *Mycobacterium xenopi* à propos de 50 cas, éléments de diagnostic

Rev Fr Mal - Resp 1979 ;7 : 501-503.

42-PETROF(SA).

Some cultural studies on the tubercule bacilli.

Bull Hepkins Hosp 1915 ; 5 : 276-279.

43-PIERRE (C), AUDIGIER.

Techniques récentes pour le diagnostic des infections à Mycobactéries .

Paris : presse médicale 1994 ; 25 : 60-70.

44- REY, VILLON(A).

Etude bactériologique succincte des souches de bacilles tuberculeux isolés dans la région de Bobo Dioulasso entre 1975-1976.

Doc. Tech. O. C. C. G. E. 1977 ; N° 6567.

45- RONDANT(M), TIENDREBEOGO(M), SCHMIDT(D).

La résistance initiale du bacille de Koch en Côte d'ivoire.

Rev Fr Mal Resp 1977 ; 5 : 683-696.

46- ROUSSEL(G).

Les différents aspects cliniques de la tuberculose de l'adulte : objectif médical.

Rev Mens déc 1987 ; 47 : 46-47.

47- SARAT(A).

Infections à Mycobactéries au Senegal : aspects biologiques.

Dakar : monographie Institut Pasteur 1972, 210P.

48- SANGARE(A).

Etude de la sensibilité des mycobactéries de la tuberculose aux antibiotiques anti tuberculeux dans le district de Bamako et dans le cercle de Sikasso 1998.

Thèse de Pharmacie. Bamako 1998, N° 28 ; 96P.

49-SANGARE(S), TOURE(IM), DOUMBIA(S).

Etude bactériologique de 235 expectorations provenant du service national de la tuberculose en république du Mali.

Doc. Tech. O. C. C. G.E 1983 ; N° 8234 .

50-SANGARE(S).

Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la tuberculose au Mali.

Thèse de pharmacie. Bamako 1982 , N°8 ;98P.

51-SANGARE (B).

Aspects bactériologiques de la tuberculose à Bamako

Mémoire pharmacie . Bamako1980, N° 2 ; 102 P.

52-SCHULZER(M), FITZGERALD(JM), ENARSON(DA), GRZYBOWSKI(S) .

Une estimation du développement de la tuberculose liée à l'infection par le VIH en Afrique subsaharienne.

Sid Alerte N° 13 , 1992.

53-SISSOKO(BF) .

Contribution à l'étude de l'influence du type de VIH sur les aspects épidémiologiques, cliniques et radiologiques de la tuberculose associée à l'infection VIH en milieu hospitalier spécialisé à Bamako.

Thèse de médecine. Bamako 1993 ; 71P , N° 1.

54- SISSOUMA (B).

Contribution à l'étude bactériologique de la tuberculose pulmonaire à Bamako.

Thèse de Pharmacie Bamako 2001 , N° 53 ;118 P.

55-SOUKOU DJOU(P) .

Aspects radiologiques de la tuberculose chez les sujets infectés par le VIH au Mali : apport de la radiologie thoracique standard.

Thèse de médecine. Bamako 1999, 43P + annexes, N° 88.

56-SOUREYA (Z).

Dépistage du VIH au centre national de transfusion sanguine de Bamako de 1993-1999

Thèse de pharmacie Bamako 2001 , N° 9 ; 60 P.

57- TANGARA(D).

Etat de sensibilité des antibiotiques anti tuberculeux des souches de bacilles hébergés par les malades tuberculeux en traitement à Bamako.

Thèse de pharmacie . Bamako 1990, N° 29 95P.

58-TISON (F).

Nouveau procédé d'isolement du bacille tuberculeux dans les crachats, usage du teepol dilué.

Institut Pasteur 1960 ;99 :475-495.

59-TOMAN (K).

Dépistage et chimiothérapie de la tuberculose.

Paris : Masson 1980 ;79 P.

60-TOURE(IM), TIDINI(O), AMEDOME (A) et al.

Etude des résistances initiales des bacilles tuberculeux isolés d'expectoration de malades atteints de tuberculose du service pneumo phthisiologique du CHU de Lomé(Togo).

Med Afr Noire 1987 ; 5 : 429-442.

61-TOURE(IM), SANGARE(S).

Contribution à l'étude des souches de mycobactéries isolées et leur sensibilité à différentes drogues anti bacillaires. Afr Med 1980 ; 21 :10-20.

62- TOURE(IM), KEITA(B), SANGARE(S).

Evolution des résistances primaires des bacilles de la tuberculose au Mali entre 1980-1990.

Bull Soc Path Ex 1994 ; 87 :152-156.

63-UICT : Guide Technique concernant le recueil, la conservation, le transport et l'examen des crachats pour le diagnostic de la tuberculose par microscopie directe.

1977 , 2^e édition ; 28P.

64-UICT-MR . Guide de la tuberculose pour les pays à haute prévalence.

Relevé épidémiologique hebdomadaire 1993 ; 2 : 360-364.

65-VILLON (A), REY(JL), SALIOU(P), RENAUDET(J).

Etude bactériologique de la tuberculose en Mauritanie : identification et sensibilité aux antibiotiques des souches isolées(1976).

Doc. Tech. O. C. C. G. E 1976 ; N° 6236.

ANNEXES

RESUME

Nom : OUOLOGUEM

Prénom : OUMAROU KANDA

Titre de la thèse : Evaluation de la prévalence de l'infection à VIH chez malades tuberculeux et de la résistance des mycobactéries à Bamako.

Année universitaire : 2001-2002

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et de Pharmacie et d'Odontologie.

Secteur d'intérêt : Bactériologie

Ce travail a pour but :

- ◆ D'évaluer la fréquence des sujets VIH+ dans la population tuberculeuse
- ◆ D'évaluer le niveau de résistance des bacilles tuberculeux aux anti tuberculeux à Bamako.

L'étude a été réalisée à Bamako à l'Institut National de Recherche en Santé Publique d'octobre 2000 à décembre 2001.

Au terme de cette étude, nous avons obtenu 1309 produits pathologiques pour recherche de BAAR avec 188 positifs dont 182 à la microscopie et 6 à la culture sur milieu de Lowenstein Jensen.

113 patients ont été testés à la sérologie VIH donnant une fréquence de 15,04%.

L'identification des souches de mycobactéries a donné 86,20% de *Mycobacterium tuberculosis*, 6,9% de *Mycobacterium africanum* et 6,9% de *Mycobacterium atypiques*.

Le test de sensibilité a été effectué sur 45 souches.

Mots clés : mycobactéries, anti tuberculeux, résistance, BAAR, Bamako.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples:

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.
