

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2009-2010

N° 3

ETUDE DE LA CO-INFECTION VIH/TB DANS LES CENTRES DE SANTE DE REFERENCES DE BAMAKO

Présentée et soutenue publiquement...../...../2010 Devant
la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie

Par

M. Salifou DAO pharmacie

Pour obtenir le grade de **Docteur en Médecine**
(DIPLOME D'ÉTAT)

Président :

Pr Soukalo DAO

Membres :

Dr GAOUSSOU BERTHE

Co-Directeur :

Dr Abdelaye KEÏTA

Directeur de thèse :

Pr Flabou BOUGOUDOGO

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE : 2002-2010

ADMINISTRATIF

DOYEN : **AMATELLE YOUNKARA** - PROFESSEUR
 1^{er} ADJESSECTEUR : **DUBACAR TRAORE** - MAITRE DE CONFERENCES
 2^{em} ADJESSECTEUR : **ERANIM I MAIGA** - MAITRE DE CONFERENCES
 SECRETAIRE PRINCIPAL : **DEBISSA A. CHEBRE-MAYE** - PROF ASSISTANT
 AGENT COMPTABLE : **MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL**
 CONTROLEUR DES FINANCES

LES CHAIRE ET DES HONORAIRES

Mr TOUBA	Ophthalmologie
Mr TOURAYE	Orthopédie et traumatologie-Secourisme
Mr TOURAYE	Hématologie
Mr Mamadou TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Uala COUMBELE	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Ula MARE	Pharmacogénie
Mr Abdou MALIQE	Médecine Interne
Mr Ula	Gastro-entérologie
Mr Ula	Pédiatrie
Mr Ula	Anatomie Pathologie Histo-embryologie
Mr Ula	Santé Publique
Mr Ula	Medicine Interne
Mr Ula	Legislation
Mr Ula	Toxicologie
Mr Ula	Chimie Analytique
Mr Ula	Chimie Générale
Mr Ula	Santé Publique
Mr Ula	Orthopédie Traumatologie
Mr Ula	Chimie Générale & Minérale
Mr Ula	Radiologie
Mr Ula	Cardiologie
Mr Ula	Gynéco-obstétrique
Mr Ula	Gynéco-Obstétrique

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

D.E.B. CHIMIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Ula	Chirurgie Générale
Mr Ula	Urologie
Mr Ula	Gynéco-obstétrique
Mr Ula	O.P.L.O. (Rino-laryngologie)

Mr. Kouta TAP
 Mr. Karami AYO
 Mr. Kouta TAP
 Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA

Malacologie Biologie Animale
 Bactériologie-Virologie
 Parasitologie Mycologie
 Biophysique
 Biologie Parasitologie
 Entomologie Moléculaire Médicale
 Parasitologie Mycologie

3. MAITRES AGENCANTS

Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA

Chimie Organique
 Hématologie
 Biologie
 Immunologie
 Bactériologie-Virologie
 Anatomie Pathologie
 Entomologie Moléculaire Médicale
 Entomologie Appliquée Médicale
 Immunologie Cellulaire
 Anatomie Pathologie
 Immunologie
 Biochimie

4. ASSISTANTS

Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA

Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
 Parasitologie Entomologie
 Chimie Analytique
 Hématologie

D.E.I. DE MEDICINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA

Néphrologie
 Psychiatrie, D.E.I. de D.E.R.
 Neurologie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Hématologie
 Gastro-entérologie-Hépatologie
 Dermatologie-Léprologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Radiologie

2. MAITRES AGENCANTS

Mr. Koussas DIARRA
 Mr. Koussas DIARRA

Médecine Interne
 Radiologie
 Médecine Interne
 Néphrologie
 Psychiatrie
 Gériatrie
 Gastro-Entéro-Hépatologie

Mme SHUBA TRAORE

Mr. Samba Diallo

Mr. Samba Diallo

Mme TRAORE Fatou SYLLA

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo

Endocrinologie

Radiologie

Maladies infectieuses

Pédiatrie

Maladies infectieuses

Pneumologie

3. MALADIES DES YEUX

Mme Fatoumata AVARA

Mr. Samba Diallo

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo

Mme KAYA Rose SOUCKO

Mr. Soudou Diallo

Mme KAYA Rose SOUCKO

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo MAIGA

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo SASSARA SISSOKO

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo LULIBALY

Dermatologie

Cardiologie

Cardiologie

Psychiatrie

Médecine Interne

Pédiatrie

Radiologie

Dermatologie

Cardiologie

Hépto Gastro-entérologie

Hépto Gastro-entérologie

Psychologie

Neurologie

Radiologie

Dermatologie

Pneumo-phthisiologie

Pédiatrie

Médecine Interne

Neurologie

Pédiatrie

Cardiologie

Radiologie

Neurologie

Pédiatrie

Pneumologie

Radiologie

Cardiologie

Cardiologie

D.E. DES ÉLÈVES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo

Chimie Analytique, **Chef de D.E.R**

Pharmacie Chimique

Pharmacologie

2. MAÎTRES DE CONFÉRENCES

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo

Mr. Soudou Diallo UMARE

Mme Soudou Diallo

Mme Soudou Diallo

Matières Médicales

Galénique

Chimie Analytique

Toxicologie

Pharmacognosie

3. MAÎTRES ENSEIGNANTS

Mr. ...	Galénique
Mr. ...	Législation
Mr. ...	Parasitologie Moléculaire
Mr. Yaya COULIBALY	Législation
Mr. ...	Microbiologie-Immunologie
Mr. ...	Pharmacologie
Mr. ...	Pharmacie Hospitalière

D.E.R. DE SANTÉ PUBLIQUE

1. MAÎTRES DE CONFÉRENCES

Mr Mamadou Soumalou TRAORE	Santé Publique, chef de D.E.R.
Mr. ...	Santé Publique
Mr. ...	Santé Publique
Mr. ...	Santé Publique
Mr. ...	Epidémiologie
Mr. ...	Anthropologie Médicale
Mr. ...	Santé Publique

2. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr. ...	Santé Publique
Mr. ...	Infectiologie Médecine
Mr. ...	Santé Communautaire

3. MAÎTRES

Mr. ...	Biostatistique
Mr. ...	Anthropologie Médicale

CHANGEMENTS DE MAÎTRES & ENSEIGNANTS VACANTURES

Mr. ...	Botanique
Mr. ...	Bactériologie
Mr. ...	Physiologie
Mr. ...	Galénique
Mr. ...	Général
Mr. ...	Mathématiques
Mr. ...	Botanique
Mr. ...	Hygiène du Milieu
Mr. ...	Général
Mr. ...	Chimie Organique
Mr. ...	Bibliographie

ENSEIGNANTS DE MISSION

Pr. ...	Pharmacodynamie
Pr. ...	Microbiologie
Pr. ...	Physiologie
Pr. ...	Pharmacie Hospitalière

DEDICACES ET REMERCIMENTS

Je ne saurai dédier ce travail sans rendre grâce à :

♦ **DIEU :**

Le tout puissant, le miséricordieux, créateur des cieux et de la terre de m'avoir permis de voir le jour, de grandir et de faire ce travail.

♦ **NOTRE PROPHETE MOHAMED :**

Salut et paix sur lui, à toute sa famille, à tous ses compagnons et à tous ceux qui le suivent jusqu'au jour du jugement.

Je dédie ce travail à :

♦ **Mon père ADAMA DAO**

♦ Je te dois tout.

Les mots sont incapables de traduire les liens qui unissent un enfant à ses parents.

Ton amour bienveillant, ton dévouement, ta rigueur et ta persévérance m'ont assuré une éducation fondée sur la probité, l'intégrité, la dignité. Tu as toujours souhaité pour tes enfants les meilleures études et les meilleures conditions de vie. Sans toi je ne serais pas là où je suis aujourd'hui. Merci père ; Que Dieu te donne longue vie pour cueillir le fruit de ta semence et j'aurai toujours besoin de toi pour guider mes pas et ma pensée.

• **Ma mère SAYO SOGOBA**

Femme dynamique, joviale, généreuse, loyale sociable, croyante et attentionnée. Tes conseils, tes encouragements, tes câlins ne m'ont jamais fait défaut. << Ton sein >> a toujours nourri tes enfants et les enfants d'autrui sans distinction. Je te dois tout. Merci encore une fois pour tes très longues prières nocturnes afin que

le bon Dieu m'apporte ta bénédiction. Que Dieu te donne longue vie pour jouir du fruit de ce travail. J'aurai toujours besoin de toi pour guider mes pas et ma pensée.

Mes mères : MAMA DAO ; SALIMATA DOUMBIA ; DIATA

COULIBALI

Vous m'avez toujours traité avec amour, affection et sans distinction .La paix, l'entente, le respect et l'amour qui se trouvent dans la famille sont le fruit de votre bon sens. Je vous suis reconnaissant et je prie que Dieu vous accorde longue vie et santé.

♦ **Mes grands parents qui ne sont plus parmi nous :**

- Feu N'golo DAO
- Feu Wassa DAO
- Feu FATOUMATA COULIBALY
- Feu M'PE DAO
- Feu Kinta DAO

Que le messager d'Allah vous apporte la bonne nouvelle. Votre amour sera éternellement gravé dans mon cœur. Que le bon Dieu vous accorde la paix éternelle, aussi à Adama Dao et sa femme, Issa Dao, Chata Dao ; eux qui sont parmi nous.

.: **A tous mes oncles et toutes mes tantes :**

Particulièrement, Noumouké Dao, Siaka Dao, Nairi Dao, Drissa Sogoba, Zoumana Sogoba, Timothé Dao, Korotimi Coulibaly, Karia Dao, Alimatou Toure, Tata Diarra, Awa Dao Moussa Tigani Dao

Pour ne citer que ceux-ci. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi depuis mon jeune âge.

Je vous en serai toujours reconnaissant et prie pour le repos de l'âme de ceux qui ne sont pas parmi nous aujourd'hui.

♦ **Mes frères et sœurs :**

Zoumana Sanogo, Souleymane Dao; Salif ; Seydou ; Moumoune ;
Dramane ; Saïbou Konate; Adama ; Zana, Madani Diarra et les autres à
Koutiala et Kemeny. La fraternité n'a pas de prix, on le dit. J'espère qu'elle
restera toujours un lien sacré pour nous. Trouvez tous ici l'expression de mon
fraternel amour et merci infiniment pour votre soutien moral et matériel. Ce
travail est le votre.

♦ **Mes cousins et cousines :**

Bakary ; Sékou ; Karim ; Yacouba ; Sanata ; Mamadou Coulibaly bien d'autres
pour leur affection et leur sympathie.

♦ **Tous mes amis :**

Harouna, Tiokoro ; Dr Mariam Doumbia, Promotion 2004-2008, Mahamane
Mamadou Kampo ; Malick Dao; Fadio Dagnoko ; à l'officine Dian, Madame
Ramata Nadio pour l'affection et les conseils donnés. J'aurai toujours besoin de
vous et votre amitié est devenue une fraternité. Je prie que cette amitié ne
s'éteigne jamais.

♦ **Toutes mes Amies, Camarades :**

Principalement Mohamed Coulibaly, Mme Ly Sidibé Fatoumata. Mamadou
Béré.

Aux collaborateurs et à tous les personnels du Laboratoire National de
Référence (LNR) pour leur amour et leur considération.

♦ **A ma belle sœur Kadiatou Togola :**

Juste pour te dire merci.

- ♦ **A la mémoire de toutes les personnes qui sont décédées de Tuberculose et VIH/SIDA**

La lutte ne fait que commencer afin d'ajouter à la Bacilloscopie la culture

Mes remerciements vont à l'endroit :

- ♦ Du corps professoral de la Faculté de Médecine de pharmacie et d'Odonto -Stomatologie pour la qualité des enseignements.
- ♦ De tous les personnels du Programme National de lutte contre la Tuberculose pour tout le soutien apporté. Vous avez donné le meilleur de vous pour ma formation et la réussite de ce travail. Merci à vous, que Dieu vous donne succès dans votre profession.
- ♦ Du DR Abdelaye Keita:
Je ne saurai finir ce travail sans vous dire merci. Votre encadrement de qualité, votre dévouement pour notre formation, vos conseils, votre disponibilité m'ont beaucoup émerveillé. Vous êtes aujourd'hui une référence pour moi et je vous citerai toujours comme exemple de bienfaiteur. Recevez cher docteur l'expression de ma profonde gratitude. Que Dieu vous donne succès dans votre vie.
A Dr Traoré Cisse Aissata et Mme Sangaré Fatoumata Camara
- ♦ De tous les chargés de dépistage et de traitement de la Tuberculose pour tous les aides apportées.
- ♦ De tous les personnels de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), des Centres de Santé de Référence de Bamako: Merci pour vos accords et soutiens.
- ♦ De tous les personnels des structures de prise en charge ARV pour leur accord.

- ◆ De tous mes camarades thésard de l'INRSP:

Mamadou Dao, Mamadou Diallo, Mamadou M Kampo, Diamoutene
Aboubacar, Fatoumata Dao, Ramata Nadio, Bintou Maiga korotimi Karabéta,
Badiallo Diawara

De tous mes cadets internes de l'INRSP

De tous les étudiants et étudiantes de la Faculté de Médecine de Pharmacie et
d'Odontostomatologie.

- ◆ De tous les personnels de l'officine Dian Sidibé de Bamako
principalement
- ◆ Le Dr Cheick Dagnoko je ne cesse de te remercier, pour ton
assistance.
- ◆ De tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail. Que
chacun trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.
- ◆ De tous les patients pour la confiance qu'ils ont placé en moi.
- ◆ De l'Union des Etudiants Ressortissants et Sympathisants du cercle de
Koutiala(AESCK), des Elèves et Etudiants de la commune Rurale de
Kemeny(AEECRK)
- ◆ De ceux auxquels je pense et qui n'ont pas été nommément cités.

**A la mémoire de toutes les personnes qui sont décédés de Tuberculose et du
VIH/SIDA :**

Puissiez-vous obtenir miséricorde et repos éternel.

H&M IMAGES

AND MERCHES

DUJURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur SOUNKALO DAO,

Maître de conférences à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS),

Président de la Société Malienne de Pathologie Infectieuse (SOMAPIT),

Membre de la société Africaine des Maladies Infectieuses

Membre de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF).

Investigateur clinique au CeReFo sur la tuberculose /VIH.

Cher maître,

C'est un grand honneur que vous nous faites, en acceptant malgré vos multiples occupations de présider ce jury.

Votre entière disponibilité, votre sociabilité, votre esprit critique et scientifique font de vous un maître remarquable.

Veillez accepter cher maître, l'expression de notre plus profond respect.

Puisse Dieu le tout puissant vous accorder longue vie.

A notre maître et juge

Dr GAOUSSOU BERTHE

Médecin au CHU du Point G

Médecin chargé de traitement et suivi des Tuberculeux MDR référés au service de pneumologie

Cher maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail, malgré vos multiples occupations.

Votre abord facile, votre désir de transmettre le savoir, et votre rigueur dans la démarche scientifique, restent pour nous un exemple.

Cher maître recevez ici nos sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur FLABOU BOUGOUDOGO ;

Maître de conférence agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie,

Directeur Général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique,

Responsable des cours de Bactériologie et Virologie à la Faculté de

Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie,

Chevalier de l'Ordre du Mérite de la Santé.

Cher maître,

Ce travail est le témoignage de la confiance que vous avez placée en nous. Nous avons été séduits par votre simplicité, votre amour pour le travail bienfait et, votre souci constant de la bonne formation des futurs cadres. Nous vous serons toujours reconnaissants pour toutes les opportunités que vous avez offertes.

Par ailleurs, nous vous prions d'accepter nos excuses pour toutes les fois où nous n'avons pas été à la hauteur de mission.

Veillez croire cher maître, en l'expression de notre profonde gratitude.

ABBREVIATIONS

ABREVIATIONS

ARN: Acide RiboNucleique

AN: Amikacine

ARV : antirétroviraux

AZT : Zidovudine

BAAR: Bacille Acido-Alcool Résistant

BCG: Bacille de Calmette Guérin

BK : Bacille de Koch

CDT : Centre de Dépistage et de Traitement

CV: Charge Virale

CS Réf : Centre de Santé de Référence

Comm: commune

CMI: concentration minimum d’Inhibitrice

DO: Doxycycline

DOTS: Directly Observed Treatments Short –course

DRS : Direction Régionale de la Santé

DDI: Didanosine

E : Ethambutol

EDTA : Éthylène Diamine Tétra Acétique Acide

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

g : gramme

h: heure

H : isoniazide

HTS : Haute Autorité de santé

IECS: Information Education Communication pour la Santé

IDR : Intra Dermo Réaction

IFN γ : l'interféron gamma

IM : Intra Musculaire

INRSP : Institut Nationale de Recherche en Santé Publique

L: litre

LCR : Liquide Céphalo Rachidien

LTCD4 : Lymphocyte Cluster de Différenciation type 4

LIPA: Line Probe Assay

LNR : Laboratoire National de Référence

M : *Mycobacterium*

MTBC: *Mycobacterium tuberculosis, bovis, calmen*

My : Mycobactérie

MTBC : Mycobactérie *tuberculosis ; bovis ; calmen*

mg : milligramme

ml : millilitre

mg/L : gramme/litre

MO : Minocycline

MOX : Moxifloxacin

mn : minutes

NC : nouveaux cas

N° : numéro

OADC : Acide Oléique Albumine Dextrose Catalase

OFX : Ofloxacin

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCRSSP : Polymérase Chaîne Réaction Single Strand polymorphisme
Conformation

PEV : Programme Elargi de Vaccination

PV/VIH : personne vivant avec le VIH

PNLT : Programme National de Lutte contre la Tuberculose

r : ribosome

R ou **Rif**: Rifampicine

RCL : Réaction par Ligase

RCP : réaction de chaîne de polymérase

RD : Région de différence

S ou **Sept**: Streptomycine

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

SIV : virus d'immuno déficience simien

SPS : Sodium Poly anéthol Sulfonate

TB: Tuberculose

TB-MR: Tuberculoses à bacille Multi -Résistant

TCH : Trihydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique

TEP: Tuberculose Extra Pulmonaire

TPM+ : Tuberculose Pulmonaire à Microscopie Positive

TPM-:Tuberculose Pulmonaire à Microscopie négative

UICTMR: Union Internationale de Lutte Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoire

VIH : Virus de l'Immuno Déficience Humaine

Z : Pyrazinamide

1+ : positif à une croix

2+ : positif à deux croix

3+ : positif à trois croix

°C : degré Celsius

% : pourcentage

μ : micro

SOMMAIRE

Sommaire

Sommaire.....	14
INTRODUCTION.....	16
OBJECTIFS.....	18
1-OBJECTIFGENERAL.....	18
2-OBJECTIFS SPECIFIQUES	18
GENERALITES.....	19
1. GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE	19
1. 2. Les formes de tuberculose : TB pulmonaire et extra pulmonaire	20
1.3. Agents Pathogènes :	21
1.4. Mode de contamination :	21
1.5. Physiopathologie :	22
1.6. Clinique :	22
1.7. Epidémiologie :	23
1.8. Diagnostic :	24
1.9. Mise en évidence des mycobactéries.....	25
1.10. Traitement :	56
2. GENERALITES sur l'infection au VIH / Sida	58
2.1. Historique sur la problématique du SIDA.....	58
2.2. Définition de l'infection au VIH	59
2.3. Mode de contamination :	60
2.4. Diagnostic.....	60
3. CO-INFECTION VIH/TB :.....	61
3.1-Notion de la pathogenèse sur l'infection VIH/TB :	61
3.2. Interaction entre le VIH et la tuberculose.....	62
3.3. Impact du VIH sur la lutte contre la TB :	63
3.4 Diagnostic.....	64
3.5 Prise en charge de la co-infection VIH/TB	65
METHODOLOGIE	66
1. Cadre de l'étude :	66
2. Période d'étude :	66
3. Type d'étude :	66
4. Population d'étude:.....	66
5. Echantonnage :	66
6. Techniques de laboratoire :	67
7. Variables étudiées :	68
8. Saisie et analyse des données :	68
9. Contraintes, considération éthique et difficultés :	69
10. Définition opérationnelle des cas :	69
11. Considérations éthiques :	70
12. CHRONOGRAMME DES ACTIVITES :	72
RESULTATS	73
1) Caractéristiques sociodémographiques :	73
2) Prévalence de la tuberculose chez les patients à VIH positifs :	77
3) Identification des souches de Mycobactéries isolées :	77
3. Taux de résistance des souches de Mycobacterium aux antituberculeux :	78
4) Evaluation de la prise en charge des patients à VIH positif.....	80
5) Résultats Analytiques :	82
COMMENTAIRES ET DISCUSSION :	87
	14

1) Caractère socio-démographiques :	87
2) Evaluation de la prise en charge des patients à VIH positif.....	90
2.3 Traitement prophylactique:	91
3. Identification des souches :	91
4. Résistance aux antituberculeuses :	91
5. Résultats Analytiques : les co-infectés.....	91
CONCLUSION	94
RECOMMANDATIONS	95
1-Aux autorités politico administratives et sanitaires :	95
2-Aux prestataires de services :	95
3-Au PNLT :	96
4-Aux patients :	96
5-A la population :	96
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES.....	97
ANNEXES	107
ANNEXE1	107
ANNEXE2.....	122

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La tuberculose est une maladie infectieuse et contagieuse secondaire à la multiplication de bactéries appartenant à la famille des mycobactéries.

La principale espèce responsable de la tuberculose chez l'homme est le *Mycobacterium tuberculosis*, isolé par Robert KOCH en 1882 d'où son nom de BK (Bacille de Koch ou BK) [14].

Ces microorganismes appelés bacilles « tuberculeux » à cause des lésions qu'ils entraînaient : des « tubercules » ou Bacilles Acido- Alcoolo Résistants (B.A.A.R) comprennent différentes espèces (*M tuberculosis* ; *M bovis* ; *M africanum*) [11].

Sans traitement, l'infection par le VIH entraîne une diminution progressive du système immunitaire accompagnée d'une sensibilité de plus en plus grande aux infections, plus particulièrement la tuberculose. Il est prouvé que dans les populations à forte prévalence du VIH, la TB est la première cause de morbidité et de mortalité [79].

Le déficit immunitaire cellulaire résultant de la déplétion des lymphocytes CD4+ chez les patients infectés par le virus de l'immuno déficience humaine (VIH), rend ceux-ci plus susceptibles à plusieurs maladies infectieuses, y compris la tuberculose (TB). En effet, l'infection par le VIH augmente le risque, non seulement de récurrence d'une TB latente, mais aussi de maladie rapidement progressive à partir d'une infection récente [7].

Les patients présentant une co-infection dans 70% des cas vivent en Afrique subsaharienne ; 20% en Asie ; 8% en Amérique Latine et au Caraïbe en 1997. En 1997 l'Afrique comptait environ deux millions de tuberculeux et les deux tiers (2/3) d'entre eux étaient VIH positifs [72].

En 2001, plus d'un tiers (1/3) des 36 millions de personnes vivant avec le VIH avaient une infection tuberculeuse évolutive, 70% d'entre eux vivent en Afrique subsaharienne.

Le rapport 2005 de l'OMS sur la TB, publié en mars indiquent 8,8 millions de nouveaux cas de TB dont 3,8 millions avec crachat positif à la microscopie (62/100000) et 674000 cas de TB associés au VIH (11/100000). Selon le même rapport 1,7 millions de décès étaient dus à la TB en 2003 avec 229000 cas associés au VIH.

Au Mali la fréquence de l'association BK/VIH a subi une légère augmentation ces dernières années. Elle est passée de 15,04% en 2002 à 16,2% en 2006 [72].

La TB reste l'infection opportuniste du Sida la plus fréquente à l'échelle mondiale et la seule infection représentant un problème de santé publique.

Nous ne disposons pas d'informations suffisantes au Mali sur la situation de la co-infection parmi les PV/VIH et le seul moyen disponible dans les centres de santé pour le diagnostic reste la microscopie.

Par ailleurs l'OMS recommande qu'un examen des crachats soit systématiquement réalisé pour tous patients VIH+ stade III-IV ou Sida, même en absence de symptômes respiratoires chez ces patients. Cependant pour améliorer la prise en charge des PV/VIH il est nécessaire de faire la culture chez ces patients même négatifs à la microscopie.

De nos jours la fréquence de la co-infection après Bacilloscopie et culture combinée n'est pas connue.

Notre études est motivée par notre volonté de déterminer la prévalence de la tuberculose chez les PV/VIH des CSRef de Bamako après réalisation de la culture d'une part, d'identifier les souches isolées ; les problèmes rencontrés chez les PV/VIH et les aspects de résistances au antituberculeux d'autre part.

OBJECTIFS

OBJECTIFS

1-OBJECTIF GENERAL

Etudier la Co-infection VIH/TB par la culture sur milieu solide chez les patients à VIH positif dans les centres de santé de référence de BAMAKO.

2-OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Déterminer la prévalence de la tuberculose par la culture chez les personnes vivant avec le VIH/ dans les CSRef de Bamako ;
- Identifier les souches de Mycobactéries isolées chez ces patients VIH positif ;
- Déterminer le taux de résistance des souches de Mycobactéries isolées chez les patients VIH positif ;

GENERALITES

GENERALITES

1. GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE

1.1. Historique : [63] [60] [77]

L'histoire de la tuberculose est difficile à exposer de manière systématique et synthétique. Elle porte en effet sur une infection dont les origines semblent remonter à celle du genre humain et de la vie en société. L'unité nosologique et la cause effective n'ont été connues qu'à partir du XIX siècle.

En1819 : Laennec isola la tuberculose des autres maladies pulmonaires ;

En1865 : le médecin Jean Antoine Villemin prouve par la méthode expérimentale la transmission de la tuberculose et affirme en conséquence que cette maladie est due à un microbe invisible avec les moyens techniques de l'époque ;

En1882 : le médecin allemand Robert Kock, à la suite des travaux de Pasteur, découvre le bacille responsable de la tuberculose ;

En1890 : Robert Kock et plusieurs auteurs mettent au point la tuberculine qui ne sera utilisée qu'en 1909 pour mettre en évidence l'allergie à la tuberculine ;

En1921 : le médecin Albert Calmette et le vétérinaire Camille Guérin mettent au point le BCG, vaccin contre la souche bovine ;

En1929 : Sous l'impulsion de la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming, le milieu scientifique va se mobiliser et cela aboutira en 1944 à la découverte de la Streptomycine ;

Entre 1940–1950 : mise en place des premiers traitements efficaces entraînant la régression de la tuberculose.

En1968 : Castels, Bris Vert, Brunel et collaborateurs découvrent le *Mycobacterium africanum* ;

En 1984 : la société de Pneumologie de langue française recommande deux régimes thérapeutiques aux choix l'un de six mois, l'autre de huit mois pour les cas de TB.

1. 2. Les formes de tuberculose : TB pulmonaire et extra pulmonaire

1.2.1 Tuberculose pulmonaire

Cette tuberculose est caractérisée par des lésions pulmonaires. Il existe deux formes.

Tuberculose pulmonaire à microscopie positive ou TPM+ :

Elle se définit selon le guide du PLNT par :

- Au moins deux échantillons de crachats BAAR positifs au Ziehl à la microscopie directe
- Au moins un échantillon de crachat positif pour le BAAR à la microscopie directe avec des anomalies radiologiques compatibles avec une tuberculose pulmonaire évolutive.
- Au moins un échantillon de crachat positif pour le BAAR à la microscopie directe et mise en évidence du bacille de Koch par culture sur cet échantillon.

Les nouvelles directives de l'OMS et de UICTMR, recommande de considérer comme TPM+ tout cas suspect même avec un seul crachat positif pourvu que le réseau bénéficie d'un système d'assurance qualité performant.

Tuberculose pulmonaire à microscopie négative TPM-:

Elle se définit par :

Au moins trois échantillons de crachats négatifs pour la recherche de BAAR en microscopie directe avec des anomalies radiologiques compatibles avec une tuberculose pulmonaire évolutive étendue.

Au moins deux séries des trois échantillons de crachats négatifs pour le BAAR en microscopie directe avec des anomalies radiologiques compatibles avec une tuberculose pulmonaire active et persistante malgré un traitement antibiotique à large spectre non spécifique.

Au moins un échantillon de crachats négatifs pour le BAAR en microscopie directe et dont la seule culture est positive pour le BAAR.

1.2.2. Tuberculose extra pulmonaire

Elle atteint des organes autres que le poumon, le plus souvent la plèvre, les ganglions lymphatiques, la colonne vertébrale, les articulations, les voies génito-urinaires, le système nerveux, l'abdomen et la peau.

1.3. Agents Pathogènes :

Les mycobactéries peuvent être classées en deux groupes très différents malgré leur appartenance au genre *Mycobacterium* [19] [41]:

Les Mycobactéries tuberculeuses : *Mycobacterium tuberculosis hominis*; *Mycobacterium bovis*; *Mycobacterium africanum* etc.

Les mycobactéries non tuberculeuses : *Mycobacterium leoprae*, *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. mucogenicum*, *M. senegalense* etc.

1.4. Mode de contamination :

1.4.1. Contamination directe :

Elle se fait par :

La voie aérienne, d'un sujet tuberculeux pulmonaire à un sujet sain. Lors d'un effort de toux ou d'un éternuement, le patient tuberculeux contagieux expulse dans l'air des gouttelettes microscopiques contenant des bacilles appelées des gouttelettes de Pflüge qui peuvent rester en suspension dans l'air pendant plusieurs heures [20] [51].

La voie entérogène par l'intermédiaire de certains aliments.

1.4.2. Contamination indirecte

Elle se fait généralement par l'intermédiaire de crachats desséchés expectorés par les malades et remis en suspension par les mouvements de l'air [82] [24].

1.5. Physiopathologie :

1.5.1. Tuberculose infection :

Dans 97% des cas, la contamination tuberculeuse se fait par voie aérienne. Le sujet tuberculeux émet lors de la toux un aérosol de particules contenant des bacilles tuberculeux ou gouttelettes de Pflüger. Les plus petites particules pénètrent au niveau alvéolaire. Les bacilles tuberculeux vont se multiplier dans les macrophages et déterminer la formation d'un chancre d'inoculation au niveau des lobes [25].

La dissémination se fait d'abord par voie lymphatique et ganglionnaire, puis sanguine avec localisations secondaires, dont la plus importante au niveau pulmonaire se situe aux apex [26]. Dans la majorité des cas, cette infection évolue favorablement.

1.5.2. Tuberculose maladie :

Les défenses de l'organisme étant insuffisantes ou dépassées, les bacilles se multiplient : c'est la phase de la tuberculose maladie. Elle est due soit à une réinfection de l'organisme par les BK soit à une activation des BK restés quiescents dans l'organisme.

A ce stade de la tuberculose maladie, on note la présence de signes cliniques et de signes radiologiques [2].

1.6. Clinique :

1.6.1. Primo infection tuberculeuse

Les manifestations du premier contact d'un organisme avec le BK peuvent être cliniques [3] [6][18]:

-Une altération de l'état général : asthénie, amaigrissement, baisse du rendement scolaire.

-L'érythème noueux ou « érythème induré de Bazin » est un peu plus fréquent. Il s'agit d'une éruption de nodosités démo-hypodermiques contusiformes, un peu douloureuses, siégeant souvent à la face tibiale des jambes, évoluant par poussées, avec parfois une fébricule et des arthralgies.

La kérato conjonctivite avec l'œil rouge larmoyant unilatéral qui est de nos jours rare.

Dans la majorité des cas, cette primo infection est latente.

1.6.2. Tuberculose pulmonaire commune

Les signes les plus fréquents de tuberculose pulmonaire sont [10] [54] :

Une toux persistante pendant 3 semaines ou plus. Tout patient âgé de 15 ans ou plus, se présentant dans une formation sanitaire avec ce symptôme est un cas « suspect de la tuberculose ».

Tout patient ayant été en contact avec un tuberculeux contagieux et/ou présentant les symptômes ; une hémoptysie, une dyspnée, des douleurs thoraciques, une anorexie, un amaigrissement, une asthénie, une hypersudation et parfois une hyperthermie; est susceptible de souffrir de tuberculose [70].

1.7. Epidémiologie :

Environ un tiers de la population mondiale est infectée par le bacille de la tuberculose. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime à 8,8 millions, le nombre de nouveaux cas de tuberculose par an et à 2 millions, le nombre de décès dus à cette maladie. Plus de 95% des cas et des décès surviennent dans les pays à faible revenu économique. L'Asie du Sud-est fait face à plus de 3 millions de cas, soit un tiers des cas mondiaux. Les chiffres sont aussi vertigineux pour l'Afrique sub-saharienne qui compte 2 millions de cas, soit plus d'un quart de l'ensemble des cas de tuberculose. L'incidence de la tuberculose dans cette sous-région est deux fois plus élevée qu'en Asie et

dépasse les 350 cas pour 100.000 habitants. De même, si la majorité des décès dus à la maladie survient en Asie, le taux de mortalité par habitant le plus élevé au monde est en Afrique sub-saharienne. L'incidence mondiale de la tuberculose augmente d'environ 1,1% par an et le nombre des cas d'environ 2,4% par an. L'augmentation est la plus importante en Afrique sub-saharienne, et en Europe de l'Est, dans les pays de l'ex-Union soviétique [61] [71].

Au Mali, Selon l'OMS, le taux d'incidence de la Tuberculose à microscopie positive est estimé à 138/ 100 000 habitants. En 2006, le PNLT a notifié 5 224 cas de Tuberculoses toutes formes confondues dont 3 802 nouveaux cas de Tuberculose pulmonaire à microscopie positive soit un taux de détection de 26%.

L'analyse des tendances épidémiologiques observées entre 2000 et 2006 au Mali montre une augmentation des cas de Tuberculose toutes formes qui sont passées de 4 216 cas (2000) à 5224 cas (2006) soit une augmentation de 23,90%. Dans le même temps, la notification des nouveaux cas TPM+ a augmenté de 50,45% passant de 2 527 en 2000 à 3 882 en 2006 [39].

1.8. Diagnostic :

1.8.1. Circonstance de découverte :

- Consultation spontanée dans une formation sanitaire, pour des symptômes évocateurs de la tuberculose ;
- Contact avec un tuberculeux dont l'examen de crachats est positif ;
- Réalisation d'une radiographie du thorax qui montre une anomalie évoquant une tuberculose [22].

1.8.2. Diagnostic présomptif :

A l'heure actuelle, le seul moyen de diagnostiquer une infection tuberculeuse latente est de pratiquer un test tuberculinique. Mais d'autres tests sont en cours d'évaluation comme le Quantiferon TB, basés sur la détection de l'interféron gamma (IFN γ) sécrété par les lymphocytes T spécifiques de M. tuberculosis. En

France la Haute Autorité de santé (HAS) a émis un avis favorable quant à l'inscription de ces tests à la nomenclature des actes de biologie médicale.

Le diagnostic de la tuberculose maladie nécessite le recours à plusieurs types d'examen mais sa confirmation n'est obtenue qu'après la mise en évidence de BK dans les expectorations ou dans tout autre prélèvement humain. [43]

1.8.3. Radiographie pulmonaire

La localisation pulmonaire de la tuberculose étant plus fréquente, une radiographie pulmonaire constitue un examen de base. Toute image suspecte peut faire l'objet d'investigations radiologiques complémentaires.

1.8.4. Intradermoréaction

La tuberculose est une infection généralement liée dans la majorité des cas à *Mycobacterium tuberculosis*. Dans 90 % des cas, la prolifération de *M. tuberculosis* est arrêtée par les défenses immunitaires de l'hôte. Les bacilles peuvent cependant rester vivants sous forme latente, d'où la notion de tuberculose-infection latente pouvant évoluer dans 10 % des cas en tuberculose-maladie. Le seul test diagnostique de tuberculose-infection latente actuellement disponible est l'intradermoréaction à la tuberculine (IDR), test cutané dont la limite principale réside dans son résultat positif chez les personnes vaccinées par le BCG.

1.9. Mise en évidence des mycobactéries

Quelle que soit la localisation de la tuberculose, il faut effectuer des examens bactériologiques pour obtenir la confirmation de la tuberculose. La recherche des BK se fait sur des expectorations matinales ou sur tout autre prélèvement spécifique de la localisation extra pulmonaire. Les échantillons envoyés au laboratoire sont examinés au microscope, puis mis en culture [1].

1.9.1. Prélèvements

La probabilité de mettre en évidence des mycobactéries dépend de la qualité et de la répétition des prélèvements ainsi que de la rapidité de leur transport jusqu'au laboratoire de bactériologie [17] [33].

Les prélèvements doivent, idéalement, être effectués avant la mise sous traitement. Ils doivent être recueillis dans des flacons stériles, à usage unique, ne contenant aucun additif, en particulier aucun conservateur. Les flacons sont fermés hermétiquement, pour éviter tout risque de contamination lors du transport, et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire. Si l'analyse doit être différée, ils doivent être conservés à + 4°C, pour préserver la viabilité des bacilles tuberculeux et limiter la multiplication d'éventuel micro-organismes contaminants.

L'usage de désinfectants comme le chlorure de cétyl pyridinium pour conserver les prélèvements avant leur traitement par le laboratoire n'est pas utilisé dans nos régions mais peut être utile quand l'acheminement vers le laboratoire est très long [21].

Il existe plusieurs types de prélèvements.

1.9.1.1 Les prélèvements d'origine pulmonaire

a) Les crachats

En cas de suspicion de tuberculose pulmonaire, il est conseillé de recueillir les crachats émis spontanément après un effort de toux, de préférence le matin au réveil, dans des flacons stériles, à large embouchure afin d'éviter la contamination des bords extérieurs. La présence de bacilles dans les sécrétions respiratoires étant discontinue, les prélèvements sont généralement répétés trois jours de suite [48].

La nébulisation de sérum salé stérile peut aider à obtenir des crachats de bonne qualité, c'est à dire d'origine bronchique (et pas salivaire ou nasopharyngée) et en quantité suffisante (au minimum 3 et mieux 5 ml). Il est parfois nécessaire

d'avoir recours au tubage gastrique, en particulier chez les enfants et les adultes qui ne savent pas ou ne veulent pas cracher, voire à des examens plus invasifs comme la fibroscopie bronchique ou le lavage broncho-alvéolaire, si les crachats ou les tubages n'ont pas été contributifs ou si l'endoscopie est réalisée en première intention dans un but bien défini.

b) Les tubages gastriques

Le tubage gastrique, qui consiste à prélever les sécrétions bronchiques qui ont été dégluties pendant le sommeil, doit être effectué chez un malade alité depuis la veille, le plus tôt possible après le réveil. Comme pour les crachats, les prélèvements doivent être répétés et la quantité recueillie suffisante (5 à 10 ml). Si le prélèvement ne peut pas être traité rapidement après son recueil, il est souhaitable qu'il soit additionné de carbonate de sodium (100 mg) pour neutraliser l'acidité des sécrétions gastriques qui pourraient nuire à la vitalité des mycobactéries.

c) Les prélèvements sous fibroscopie

L'aspiration bronchique, le brossage et le lavage broncho-alvéolaire, qui sont obtenus sous contrôle visuel grâce à l'introduction d'un fibroscope, permettent de réaliser des prélèvements au niveau des lésions.

- L'aspiration bronchique ramène des sécrétions bronchiques qui sont diluées dans l'eau stérile et recueillies dans un flacon stérile. Au laboratoire, si leur volume le nécessite, elles sont centrifugées et traitées comme un crachat.
- Le brossage bronchique est réalisé par brossage au niveau d'une lésion suspecte. La brosse est déposée dans un tube contenant 1 ml d'eau stérile qui est adressé au laboratoire. C'est sur ce liquide qu'est réalisée l'analyse. Le produit est traité comme un crachat.
- Le liquide de lavage broncho-alvéolaire, si son volume est important, est centrifugé. Le culot est traité comme un crachat.

Ces prélèvements provoquent une irritation bronchique suivie, au cours des jours suivants, par l'émission spontanée de crachats de bonne qualité qu'il est indispensable de recueillir et d'analyser. Le recueil des prélèvements respiratoires est source d'aérosols de bacilles tuberculeux et fait courir des risques de contamination au personnel et aux autres malades. Il doit être assuré par un personnel compétent, portant un masque respiratoire.

1.9.1.2 Les prélèvements extra-pulmonaires

En cas de suspicion de tuberculose extra-pulmonaire ou de mycobactériose, les prélèvements issus de ponctions ou de biopsies, à priori non contaminés par des microorganismes commensaux (liquide pleural, liquide céphalo-rachidien, sang, biopsies), sont recueillis aseptiquement dans des flacons stériles. Les prélèvements contaminés (urines, lésions superficielles...) sont recueillis avec les mêmes précautions que les crachats.

a) Les urines

Les mycobactéries sont recherchées dans les urines après avoir vérifié la présence d'une leucocyturie et l'absence de bactériurie à germes banals. Les urines sont prélevées, trois jours de suite, le matin au réveil et en quantité suffisante (40 ml minima). Une restriction hydrique prescrite la veille au soir est souhaitable. L'urine est centrifugée. C'est sur le culot que seront réalisées les opérations de fluidification décontamination.

b) Les abcès, lésions cutanées et tissus divers

Les abcès sont prélevés à la seringue après désinfection de la peau. Les mèches et les compresses sont déconseillées pour la recherche des mycobactéries. Pour les lésions cutanées, on peut être amené à utiliser un écouvillon, bien que ce ne soit pas recommandé, ou mieux à pratiquer une biopsie. La biopsie sera faite de préférence à la périphérie des lésions.

Les fragments d'organes profonds sont prélevés par les chirurgiens, leur volume doit être suffisant. Le prélèvement destiné aux analyses bactériologiques est

déposé "à sec" dans un flacon stérile et adressé au laboratoire dans les délais les plus courts. Si la nature du prélèvement le permet, un examen macroscopique est réalisé éventuellement après avoir tranché la pièce pour y rechercher des zones de pus ou de caséum sur lesquelles porterait alors l'analyse. Selon le volume de la biopsie, celle-ci sera traitée en totalité ou en partie. A l'aide d'un scalpel stérile, on découpe les tissus prélevés en petits morceaux dans une boîte de pétri, les fragments ainsi obtenus sont prélevés et placés dans un broyeur homogénéiseur de Potter. Ils sont broyés en eau distillée stérile. Deux ou trois millilitres de ce broyat sont recueillis. Un premier ensemencement sera réalisé sans traitement décontaminant et le reste subira le traitement.

c) Les liquides d'épanchement

Pour les liquides d'épanchement : liquide pleural, liquide céphalo-rachidien, liquide d'ascite, liquide articulaire, qui sont souvent paucibacillaires, on recueillera la quantité la plus importante possible. Les liquides sérofibrineux ou hémorragiques peuvent être additionnés d'héparine ou de S.P.S. On évitera l'E.D.T.A. qui inhibe la croissance des mycobactéries. Ces liquides, si leur volume le permet sont centrifugés et subissent un double ensemencement, le premier sans traitement, le second après fluidification décontamination.

d) Le sang et la moelle osseuse

Les mycobactéries peuvent être facilement isolées du sang ou de la moelle osseuse chez les malades profondément immunodéprimés, en particulier chez les malades atteints de SIDA qui font fréquemment des infections généralisées. Il est toutefois nécessaire de les libérer des leucocytes où elles se trouvent. On y parvient en collectant le sang dans un tube spécial, qui contient de la saponine, le tube Isolator™ 10 (Oxoid). La saponine qui lyse rapidement les cellules sanguines, peut aussi, si le contact est trop prolongé, lyser les mycobactéries. Aussi faut-il acheminer le tube au laboratoire et faire la culture dans les 24 heures qui suivent le prélèvement. On peut aussi prélever le sang directement

dans un flacon de milieu de culture pour mycobactéries additionné d'un agent lytique approprié. Plusieurs flacons de ce type sont actuellement disponibles dans le commerce (Bactec 13A – MB Blood – MycoF-lytic...). Ils sont adaptés à un appareil de détection. On peut encore, si au lit du malade on ne dispose ni de tube Isolator ni de flacons de culture spéciaux, prélever le sang sur un tube stérile hépariné et l'adresser à un laboratoire spécialisé.

e) Les selles

Compte tenu de la richesse de la flore commensale, la recherche des mycobactéries dans les selles est difficile et déconseillée. Elle est parfois réalisée chez des malades, séropositifs pour le VIH pour détecter un éventuel portage de MAC et, en cas de positivité, prescrire un éventuel traitement préventif. La biopsie colique est préférable.

1.9.2. Préparation de l'échantillon – Décontamination - Fluidification

a) Principe et but

Pour décontaminer les prélèvements on met à profit la propriété des mycobactéries d'être plus résistante à certains antiseptiques que les autres bactéries. L'addition aux prélèvements de soude, ou d'acides dilués élimine les bactéries de la flore commensale et respecte au moins partiellement les mycobactéries. Pour que la décontamination soit de bonne qualité il faut que les prélèvements, notamment les crachats, soient homogénéisés, c'est-à-dire liquéfiés par un agent fluidifiant (détergent, mucolytique) qui libère les bactéries contenues dans le mucus, le pus et dans les cellules. Les bactéries commensales sont ainsi mises en contact avec l'agent décontaminant et sont détruites. Les mycobactéries plus résistantes survivent, le rendement de la culture est ainsi augmenté de façon notable [17] [33].

Toutefois, bien que plus résistantes aux antiseptiques que les autres bactéries, les mycobactéries n'y sont pas complètement insensibles et la décontamination doit

être effectuée en respectant scrupuleusement la concentration de l'antiseptique et le temps de son contact avec le prélèvement.

b) Contrôle d'une bonne décontamination

L'analyse du pourcentage des échantillons mis en culture et perdus par souillure fournit un contrôle de qualité interne de la méthode d'homogénéisation - décontamination employée. Le pourcentage doit être compris entre 2 à 5 % : inférieur à 2 % il signe une trop forte décontamination et la destruction trop importante de mycobactéries ; supérieur à 5 % il signe une trop faible décontamination entraînant une survie trop importante de bactéries commensales qui provoquent la dégradation rapide des milieux de culture et l'inhibition du développement des mycobactéries.

c) Circonstances dans lesquelles on peut éviter la décontamination

Les prélèvements provenant de cavités fermées habituellement stériles et souvent paucibacillaires, tels que les liquides d'épanchement, la moelle osseuse et le sang, doivent être recueillis dans des conditions d'asepsie très rigoureuses etensemencés directement sans décontamination. Dans les cas exceptionnels où l'on peut craindre la présence de contaminants il est conseillé de conserver l'échantillon à +4°C et de différer sa mise en culture jusqu'à ce qu'on dispose du résultat de la culture pour recherche des germes banals.

d) Les différentes méthodes de décontamination

De nombreuses méthodes de décontamination ont été décrites qui procèdent toutes du même principe. L'action de l'agent fluidifiant et décontaminant est suivie d'une phase de neutralisation puis d'une centrifugation. Le choix de la méthode à utiliser au laboratoire tient compte du nombre et de la nature des échantillons à traiter, des milieux de culture employés, de l'application ou non de méthodes d'amplification génique et encore du transport éventuel des échantillons vers un autre laboratoire pour une mise en culture différée.

1° Les méthodes utilisant la soude

La soude est l'agent décontaminant le plus utilisé, seul ou associé à un agent homogénéisant.

Si l'agent homogénéisant est un ammonium quaternaire ou un détergent, seuls les milieux à l'œuf pourront être utilisés. En effet, la lécithine de l'œuf neutralise les résidus tensio-actifs qui ont une action néfaste importante sur la culture des mycobactéries.

Méthode à la soude à 4 % ou méthode de Petroff [38]

La méthode de Petroff est la plus simple à mettre en œuvre. La soude agit à la fois en tant qu'agent homogénéisant et agent décontaminant. La neutralisation est effectuée par l'acide sulfurique en présence de teinture de tournesol. La concentration finale de la soude étant de 2%, la méthode est plus "agressive" que les méthodes ci-dessous citées et se traduit par une moindre sensibilité. Sauf indications spéciales, elle ne doit pas être recommandée.

2° Autres méthodes

D'autres méthodes de décontamination sont disponibles. Elles sont habituellement réservées au traitement de prélèvements très contaminés dans des circonstances particulières. La plupart ne sont pas compatibles avec les milieux de culture liquides ni avec les techniques d'amplification génique.

- Décontamination à l'acétyl cystéine et à la soude (méthode de Kubica).
- Décontamination au lauryl sulfate de sodium (méthode de Tacquet-Tison).
- Décontamination à l'acide sulfurique à 4 % (méthode de Löwenstein).
- Préparation du tampon phosphate 0,067 M pH 6,8

1.9.3. Examen microscopique

L'examen microscopique d'un produit pathologique est la première étape du diagnostic bactériologique de la tuberculose et parfois la seule dans les pays en développement. Il est effectué directement sur le frottis d'une parcelle purulente

ou hémorragique du produit pathologique ou mieux, sur le culot du produit homogénéisé et centrifugé après un traitement fluidifiant décontaminant.

Pour mettre en évidence les mycobactéries, on utilise leur propriété d'acido-alcool-résistance. C'est à dire leur capacité à former des complexes stables avec des colorants basiques, fuchsine ou fluorochromes phéniqués, qui persistent malgré la double action de l'alcool et des acides forts dilués [17] [33]. Les principales méthodes utilisant la fuchsine sont la méthode de Ziehl-Neelsen et ses variantes dont la méthode de Kinyoun.

En pratique, deux méthodes sont bien codifiées, elles sont bien adaptées à la pratique quotidienne où elles ont fait leurs preuves. Ce sont la méthode de Ziehl Neelsen et la méthode de coloration à l'auramine [12].

Modalités techniques de l'examen microscopique

a) Réalisation du frottis

A partir du crachat, on examine le produit prélevé, on repère les parcelles purulentes et, avec une anse bouclée, on prélève une de celles-ci. On l'étalera sur une lame porte objet, soigneusement dégraissée et préalablement identifiée au nom ou numéro du patient correspondant. L'étalement se fera de la lame par un mouvement d'aller et retour de l'oesse sur la lame de telle façon qu'une surface de 20 mm de long sur 10 de large soit couverte. Souvent, les frottis sont trop épais. Un frottis d'épaisseur correcte doit permettre de distinguer les caractères d'un journal regardé en transparence. Après coloration de Ziehl, un tel frottis apparaîtra de couleur légèrement bleue. Les frottis bleu foncé sont trop épais. Le frottis est séché à l'air, l'utilisation d'une platine chauffante permet d'accélérer la dessication.

A partir du culot d'homogénéisation, après centrifugation, le culot est remis en suspension dans 1 ml d'une solution tamponnée stérile additionnée d'albumine bovine à 0,1 %. Une goutte de cette suspension est étalée sur une lame porte objet dans les mêmes conditions que celles qui viennent d'être développées.

b) Fixation

Avant coloration, le produit déposé sur les lames doit être fixé. Plusieurs méthodes sont utilisées : la chaleur et l'alcool méthylique. Le but est le même, dénaturer les protéines du produit pour permettre une meilleure adhésivité au support. Les plus sûres consistent à recouvrir le frottis maintenu sur la platine chauffante avec de l'alcool méthylique jusqu'à évaporation complète ou par immersion à froid pendant 10 minutes. La fixation à la chaleur consiste à passer rapidement à trois reprises la lame dans la flamme d'un bec bunsen de telle façon que la face du frottis soit directement exposée à la flamme.

c) Coloration de Zieh Neelsen

A chaud c'est la méthode de référence utilisée par le PNLT Mali. Elle est simple, reproductible, et ne nécessite pas d'équipements sophistiqués.

Elle peut être pratiquée à froid, les lames sont alors immergées dans un bain de fuchsine pendant au moins trois heures. La décoloration peut se faire de différentes façons avec un acide fort dilué et l'alcool. Le bleu d'Armand ou le réactif de Fraenkel Gabbet associant dans un même réactif l'acide, l'alcool et le bleu de méthylène, permettent d'assurer, dans une même opération, décoloration et contre coloration mais les résultats obtenus sont de moins bonne qualité.

d) Expression des résultats

Le résultat de l'examen microscopique est exprimé quantitativement (en précisant la méthode de coloration utilisée), ce qui permet de contrôler la disparition progressive des bacilles chez un malade sous traitement (tableau I). Basé sur la propriété d'acido alcool résistance caractéristique de l'ensemble des mycobactéries, l'examen microscopique met en évidence des bactéries appartenant au genre *Mycobacterium* mais ne permet pas de déterminer l'espèce mycobactérienne en cause. Il n'en reste pas moins que le risque d'infection à mycobactéries atypiques étant, depuis la généralisation des traitements anti-VIH

comportant les antiprotéases, de nouveau rare, l'observation de BAAR à l'examen microscopique, surtout si elle se répète et si les signes cliniques et radiologiques sont en faveur, déclenche l'isolement du malade et la mise immédiate sous traitement antituberculeux.

Comme il faut de 5000 à 10000 bacilles par ml de produit pathologique pour que la probabilité de voir au moins un BAAR sur le frottis atteigne 95%, il n'est pas étonnant que l'examen microscopique ne soit pas très sensible. En effet comparée à la culture, sa sensibilité varie de 20 à 80 % selon la population de malades considérés, les prélèvements examinés et aussi selon les méthodes de coloration et de culture employées [36].

Les prélèvements d'origine respiratoire provenant de malades présentant des lésions excavées sont très fréquemment positifs à l'examen microscopique tandis que les prélèvements d'origine extra pulmonaire ne le sont que rarement. La concentration des échantillons et l'utilisation de la méthode fluorescente, qui permet d'observer facilement la totalité du frottis, améliorent la sensibilité de l'examen microscopique [50].

Tableau I : Expression des résultats de l'examen microscopique [29].

Nombre de BAAR observés : Rapports après coloration à la fuschine

Nombre de BAAR observés	Champs examinés en immersion	Réponse à rendre
Zéro (0) BAAR	300 champs	NEGATIF
1 à 9 BAAR	100 champs	Faiblement positif (indiquer le nombre)
10 à 99 BAAR	100 champs	1+ (positif à une croix)
1 à 10 BAAR	par champ	2+ positif à deux croix)
Plus de 10 BAAR	par champ	3+ positif à trois croix)

1.9.4. Mise en culture

En dernière instance, des techniques d'identification permettent de différencier les mycobactéries tuberculeuses des autres bactéries du même genre. Ces examens demandent un certain temps et la confirmation de la tuberculose ne peut être obtenue qu'après quinze à trente jours. Un résultat n'est déclaré négatif qu'après 42 jours d'incubation.

1.9.4.1 Historique de la Culture [29] [75] [78] [81]

C'est en 1882 que Koch obtint la culture de *Mycobacterium tuberculosis* sur sérum de bœuf coagulé; mais, sur ce milieu, elle était si mauvaise que Robert Koch avait douté que cela puisse apporter une notion importante dans l'étude de la maladie.

La première culture du bacille tuberculeux a été obtenue par Robert Koch en 1882 sur le sérum de bœuf coagulé.

Nocard et Roux ont obtenu une croissance satisfaisante du bacille en 1887 par l'adjonction de glycérine en proportion convenable (5 à 8%). Depuis lors, de nombreux milieux de culture ont été élaborés. On en distingue trois groupes :

- Les milieux liquides [Dubos, Sulla]
- Les milieux solides [Löwenstein-Jensen, Colestos-base]
- le milieu gélosé [Middle brook]

En effet, obtenir en culture pure le germe responsable est certainement le moyen le plus rigoureux de faire le diagnostic de certitude de la tuberculose, c'est aussi un moyen très sensible, puisque à priori tout bacille viable va donner naissance à une colonie. Mais la culture est d'exécution relativement laborieuse et dont les résultats ne sont disponibles qu'après un délai de 3 à 4 semaines voire plus. L'isolement du bacille tuberculeux dans les produits de l'expectoration nécessite un certain nombre de conditions recommandées par l'union Internationale de lutte contre la tuberculose et les maladies respiratoires à savoir:

- un confinement approprié de la salle pour minimiser le risque de dispersion des aérosols dans l'environnement ;
- un équipement de qualité et qui assure la sécurité du personnel ;
- du matériel à usage unique pour limiter les multiples manipulations ;
- un personnel engagé.

1.9.4.2 Généralités sur la culture

La culture des mycobactéries est une des activités principales de tout laboratoire de référence de la tuberculose qui a en charge la responsabilité de la surveillance périodique de la résistance aux antituberculeux.

La culture des Mycobactéries peut se faire ; soit par milieu solide ou par milieu liquide.

❖ Milieux solides

Les milieux de culture solides sont des milieux gélosés ou des milieux à l'œuf, les seconds étant les plus utilisés au LNR (**Milieux à l'œuf de Löwenstein-Jensen et Colestos**).

Les milieux à l'œuf contiennent des œufs ou des extraits d'œufs, qui apportent des vitamines et sont inhibiteurs de diverses substances toxiques, de l'amidon de pomme de terre, des sels minéraux, du glycérol et du vert malachite, colorant qui inhibe la croissance d'éventuels contaminants. Ils sont à la fois sensibles, la plupart des espèces de mycobactéries et en particulier les bacilles de la tuberculose s'y développent facilement, et d'un prix de revient modéré. Ils se conservent plusieurs mois à +4°C. Si l'hydratation et l'aération des milieux sont satisfaisantes les colonies de *M. tuberculosis*, présentent sur le milieu de Löwenstein-Jensen l'aspect caractéristique bien connu " en chou fleur " (colonies de couleur crème, rugueuses, d'aspect verruqueux) qui permet d'orienter le diagnostic [23].

Le milieu de Colestos est un milieu enrichi. Il contient davantage d'œuf, du pyruvate de sodium, de la cendre d'anthracite et une solution d'oligo-éléments. Il est particulièrement indiqué pour la croissance des mycobactéries exigeantes : *M. bovis*, *M. africanum* ainsi que celle de certaines mycobactéries atypiques exigeantes : *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. triplex*

Remarques :

Règles à observer pour obtenir une bonne culture sur milieux solides

Selon la nomenclature des actes de biologie, 4 tubes de milieux de culture doivent être inoculés.

En pratique, on inocule 2 tubes de milieu de Löwenstein-Jensen et 2 tubes de milieu de

Colestos à raison de 0,2 ml du culot de centrifugation par tube. Les tubes sont placés dans une étuve à 37°C sur des portoirs spéciaux, en position inclinée. Les

tubes ne sont fermés qu'après évaporation du liquide, le milieu devant être sec mais non desséché pour que les mycobactéries puissent s'y développer. Des conditions particulières de culture sont requises pour la mise en évidence de certaines espèces de mycobactéries. Elles sont exposées plus loin.

Les milieux doivent être incubés pendant 8 semaines au moins et mieux pendant 12 semaines.

Les prélèvements dont l'examen microscopique était positif et dont les cultures n'apparaissent pas seront conservés encore plus longtemps.

❖ **Culture en milieux liquides :**

Au cours des deux dernières décennies, l'augmentation du nombre des tuberculoses, en particulier chez les malades immunodéprimés et l'apparition de souches multi résistantes ont conduit à la mise au point de nouvelles méthodes de culture pour pallier la lenteur du développement des colonies sur milieux solides. Toutes ces méthodes sont basées sur l'utilisation de milieux de culture liquides. Placée en atmosphère confinée, la croissance microbienne est mise en évidence, soit par la mesure de la consommation d'oxygène, soit par la mesure de la production d'anhydride carbonique. Il est recommandé d'ensemencer, en plus du milieu liquide, un milieu solide. En effet, l'utilisation des milieux liquides ne permet ni l'observation ni le dénombrement des colonies, ce qui est parfois préjudiciable à l'établissement du diagnostic, au suivi de l'efficacité du traitement, et à la détection de la présence de cultures mixtes de mycobactéries. Les deux types de milieux sont complémentaires et la sensibilité du résultat final est améliorée [67].

a) Principe :

Le test a pour but d'évaluer la proportion de bacilles résistants qui existent dans une souche de bacilles tuberculeux. Pour y parvenir, le test doit indiquer le nombre total de bacilles ensemencés et le nombre de bacilles résistants présents

dans la population totale. Cette méthode consiste à ensemencer deux dilutions bacillaires choisies de telle façon qu'elles contiennent un nombre de bacilles suffisamment élevé pour être représentatif de la souche étudiée, et qu'elles permettent d'obtenir avec l'une ou l'autre dilution des colonies en nombre comptable.

b) Aspect des colonies :

Les mycobactéries cultivables donnent sur les milieux de culture des colonies dont l'aspect est caractéristique et variable d'un milieu à l'autre. Cependant, les milieux solides sont les mieux indiqués à cet effet. Sur milieu de Löwenstein-Jensen par exemple :

- *Mycobacterium tuberculosis* : donne des colonies eugoniques rugueuses, sèches de teint crème beige de 1 à 4 millimètres de diamètre. Les colonies âgées peuvent prendre l'aspect de chou-fleur. Il existe de rares colonies dysgoniques.

- *Mycobacterium africanum* : donne des colonies dysgoniques rugueuses, poussant lentement sur Löwenstein-Jensen. Sa croissance peut être stimulée par addition de pyruvate de sodium. Les colonies sont plates mates avec un mamelon central sur les vieilles cultures.

- *Mycobacterium bovis* : donne des colonies lisses dysgoniques non pigmentées, blanchâtres. - Bacille de Calmette et Guérin : donne des colonies similaires à celles de *Mycobacterium bovis*

. Mais, ces colonies sont rugueuses eugoniques ; pigmentées en crème beige et apparaissent en 10 à 30 jours comme *Mycobacterium tuberculosis*.

- Les mycobactéries atypiques, donnent des colonies variant selon les espèces.

c) Lecture des cultures

La surveillance journalière des cultures est faite pendant la première semaine d'incubation afin de laisser évaporer le liquide résiduel, d'éliminer rapidement les tubes contaminés et de refaire la décontamination ou de demander

rapidement un nouveau prélèvement. Elle permet aussi de détecter les mycobactéries à croissance rapide.

La lecture des cultures est faite une fois par semaine jusqu'à l'apparition des colonies. L'aspect caractéristique en chou-fleur, des colonies de *M. tuberculosis* est rarement reconnu avant 21 à 28 jours d'incubation. La culture de *M. africanum*, *M. bovis* et de certaines mycobactéries atypiques comme *M. xenopi* apparaît rarement avant 6 à 8 semaines.

d) Rendu des résultats des cultures

Le rendu des cultures positives doit faire apparaître la date à laquelle les colonies ont été observées, le nom de l'espèce de mycobactérie et le nombre de colonies isolées. La quantification des colonies permet de suivre l'efficacité du traitement. Le nombre est habituellement formulé de la façon suivante : nombre exact si inférieur à 50, 50 à 100, 100 à 200 et > à 200 colonies.

Les bacilles de la tuberculose (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*) sont des pathogènes spécifiques et l'isolement de leurs colonies, même en nombre limité, signe habituellement la maladie tuberculeuse. Il ne faut toutefois pas oublier que les risques de contamination de laboratoire existent. Il est donc nécessaire de toujours s'assurer de la cohérence des résultats de la culture avec les données cliniques et radiologiques concernant le malade [16].

La connaissance de ces données est essentielle pour déterminer s'il s'agit d'une contamination du prélèvement ou d'isolats témoins d'une infection [56].

La culture est habituellement déclarée négative si après 42 jours d'incubation il n'y a pas eu de développement de colonies. On signale que ce résultat peut être remis en question si une pousse se manifestait avant la fin de la période d'incubation : on fait identification

1.9.5. Identification des mycobactéries

L'identification des mycobactéries à partir d'une culture positive s'effectue en plusieurs étapes : vérification de l'appartenance au genre *Mycobacterium*, identification des mycobactéries du groupe tuberculeux, identification des mycobactéries non tuberculeuses dites atypiques et différenciation des espèces. Depuis une dizaine d'années la culture en milieu liquide et l'utilisation en routine des techniques de biologie moléculaire ont modifié les schémas classiques d'identification. Dans un premier temps seront exposées les modalités pratiques d'identification réalisées à partir des souches isolées sur milieu solide (Löwenstein Jensen) ou milieux liquides positifs telles qu'elles sont appliquées dans les laboratoires de diagnostic. Elles permettent dans la majorité des cas d'aboutir à une conclusion. Dans la seconde partie seront exposées des techniques plus complexes réservées davantage aux laboratoires spécialisés.

A –Etapes préliminaires

I - vérifier l'Acido-Alcoolo-Résistance par la coloration de Ziehl

C'est une vérification essentielle et incontournable. La coloration de Ziehl doit être effectuée sur toute culture positive, elle permet la mise en évidence de l'acido-alcoolo-résistance caractéristique du genre *Mycobacterium*.

- De la morphologie des bacilles, on peut tirer un certain nombre de conclusions : les bacilles tuberculeux sont des bacilles fins de 5 à 7 μ de long. En culture ils se présentent sous forme d'agrégats et peuvent prendre un aspect en corde caractéristique ; les mycobactéries non tuberculeuses au contraire se répartissent habituellement de manière plus homogène, on pourra noter l'aspect caractéristique de certaines espèces ; *M. avium* - intracellulaire est évoqué en présence de coccobacilles ; *M. xenopi* se présente sous forme de bacilles longs et fins souvent associés en paquets ; *M. kansasii* a un aspect de gros bacilles granuleux. Cet aspect morphologique des bacilles est contingent, il est

susceptible de varier avec les conditions de culture. Il ne peut donc être considéré que comme un élément d'orientation.

- L'examen du frottis permet aussi de détecter la présence d'éventuels contaminants. La présence de formes bactériennes colorées en bleu après coloration de Ziehl indique la contamination probable de la culture et implique l'ensemencement d'une gélose au sang. Si la contamination est confirmée, une décontamination de la culture et sa purification sont nécessaires avant de poursuivre l'analyse.

II - Observation des cultures positives

1° Sur milieu solide

L'aspect des cultures permet d'orienter l'identification vers une mycobactérie du complexe tuberculosis ou vers une mycobactérie non tuberculeuse.

Sur milieu solide (Löwenstein Jensen), on notera le délai d'apparition des colonies, leur nombre, leur aspect rugueux ou lisse, la présence ou non d'une pigmentation. Les colonies de *M. tuberculosis*, comme celles du B.C.G., sont non pigmentées, elles sont rugueuses et apparaissent entre 2 à 6 semaines. Les colonies de *M. bovis* et *M. africanum* sont non pigmentées, petites, fines, et d'apparition tardive : 6 à 10 semaines, elles sont d'aspect lisse pour *M. bovis* et mat pour *M. africanum*. Dans le cas des mycobactéries atypiques l'aspect et la vitesse d'apparition des colonies varient en fonction des espèces [48].

Si plusieurs types de colonies (BAAR) sont observés, repiquer en séparation chaque type de colonie et faire l'identification sur chacune des subcultures.

2° Sur milieux liquides

On note le délai d'apparition de la positivité. L'observation des milieux solides ensemencés peut donner des indications : présence ou absence de colonies. Cette seconde éventualité est la plus fréquente car la pousse des mycobactéries sur milieu solide est souvent plus lente qu'en milieu liquide.

III - A l'issue de cette première phase, on dispose des éléments suivants. Il s'agit en effet de bacilles acido-alcool-résistants présentant des groupements torsadés évoquant des cordes. Il n'est pas observé de contaminants ni sur la lame ni dans le tube. La culture en milieu solide permet d'observer des colonies d'aspect rugueux, en chou fleur, de couleur ivoire, apparues en 20 jours environ sur milieux à l'œuf. Ces constatations corrélées à la présence de BAAR sur les frottis examinés et à l'existence de signes cliniques évocateurs constituent un faisceau d'arguments qui vont dans le sens du diagnostic de tuberculose. Dans plus de 90 % des cas, *M. tuberculosis* est en cause. La souche va être identifiée de façon précise.

Aspect de quelques cultures

- a – Colonies non pigmentées rugueuses photocromogène (BCG).
- b - Mélange mycobactérien. Colonies lisses pigmentées scotochromogènes (*M. gordonae*).
- c - Colonies lisses de *M. avium*.
- d - *M. fortuitum* : certaines souches, en vieillissant, ont tendance à concentrer la verte de malachite.

B - Identification d'une mycobactérie tuberculeuse

La distinction entre les mycobactéries du complexe *tuberculosis* et les mycobactéries atypiques est essentielle. Autrefois, elle était basée sur les caractères phénotypiques décrits dans le tableau(III)

Actuellement, les techniques de biologie moléculaire plus rapides sont effectuées en priorité.

I – Identification du complexe tuberculosis

1° Hybridation moléculaire

Les tests d'identification par hybridation avec les sondes moléculaires sont basés sur la capacité que possèdent des brins complémentaires d'acides nucléiques de

s'apparier de manière spécifique pour former des complexes bi caténaire stables. Actuellement, trois types de sondes sont disponibles Accuprobe, Innolipa Mycobacteria, génotype *Mycobacterium* MTBC. Pour des raisons pratiques et économiques, l'utilisation de la sonde Accuprobe est recommandée. Il s'agit d'une sonde d'ADN conjuguée à un marqueur chimioluminescent, complémentaire de l'ARN ribosomal (ARNr). La sonde d'ADN marquée forme avec l'ARN ribosomal libéré un hybride ARN/ADN stable. Le réactif de sélection est une enzyme nucléosique capable d'hydrolyser les monobrinns d'ADN non hybridés, il ne laissera subsister que l'hybride bi caténaire. Le signal lumineux émis par les hybrides est mesuré par un luminomètre. Un résultat est positif lorsque la valeur obtenue est supérieure ou égale à une valeur seuil. Une valeur inférieure fait considérer le test comme négatif. Ce test ne différencie pas les espèces du complexe tuberculosis entre elles. L'utilisation des sondes a amené un progrès considérable dans les possibilités d'identification des mycobactéries. Cette méthode allie une très bonne sensibilité à une très bonne spécificité. Elle s'effectue en deux heures et permet de poser précocement le diagnostic. Sa réalisation est facile, son coût tout à fait acceptable. Les sondes permettent d'identifier les mycobactéries qui ont poussé sur milieu solide 7H10 ou Löwenstein Jensen ou autre, ou qui ont poussé en milieu liquide à la condition que la croissance ait atteint un niveau suffisant.

Actuellement, l'utilisation des sondes permet d'établir rapidement, presque de façon contemporaine à l'observation d'une culture positive, que la souche isolée appartient au complexe tuberculosis, donc qu'elle possède un potentiel pathogène très probable. La réponse peut être rapidement rendue et le traitement mis en œuvre.

2° Utilisation de la PCR

Bien que ce ne soit pas son indication, on peut rapporter une mycobactérie au complexe tuberculosis sur la base d'une PCR positive pour IS 6110.

II - Individualisation des espèces au sein du complexe tuberculosis

Pour des raisons épidémiologiques et de bonne utilisation des antibiotiques, la distinction des différentes espèces du complexe tuberculosis est nécessaire.

1-Méthode phénotypique

L'individualisation des espèces du complexe tuberculeux (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *BCG*), peut s'effectuer par les techniques traditionnelles. Seront pris en compte : des caractères cultureux, délai d'apparition des colonies, aspect Rough ou Smooth, des caractères biochimiques : niacine test, réduction des nitrates, de la sensibilité à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique 2 mg/L (T.C.H.), à la cyclosérine 30 mg/L ou au Pyrazinamide 200 mg/L (P.Z.A.). La réalisation de ces tests nécessite des cultures riches et ne pourra donc être effectuée qu'après plusieurs jours voire plusieurs semaines. Ces tests doivent être contrôlés par des témoins positifs et négatifs réalisés avec des souches de référence. L'interprétation se fera selon les résultats figurant sur le tableau III.

Tableau III : Caractères permettant de différencier les espèces du complexe tuberculosis.

Espèces	Aspect des colonies	Croissance favorisée / pyruvate	TCH 2mg/l	Catalase à 22°C	Catalase à 68°C	Nitrate réductase	Niacine test
tuberculosis	Eugoniques rugueuses	-	R	+	-	+	+
africanum	Disgonique rugueuse	+	V	+	-	V	V
bovis	Disgonique lisse	+	S	+	-	-	-
bovis var BCG	Eugoniques rugueuses	-	S	+	-	-	-

R : résistant / S : sensible. /V : variable

Niacine test. Test de Konno

Réaction de Virtanen : Réduction du nitrate en nitrite. La positivité se manifeste par l'apparition d'une coloration rouge lie de vin.

2- Méthode génotypique

Les méthodes phénotypiques permettent de différencier les espèces mais elles sont lentes et un certain nombre de variant échappent à la classification car ils ne présentent pas tous les caractères de l'espèce type. C'est ainsi que les variant asiatiques de *M. tuberculosis* sont sensibles au TCH que les deux

variantes géographiques de *M. africanum* possèdent ou non une nitrate réductase (variant I Afrique de l'Ouest : Nitrate-, variant II Afrique de l'Est : Nitrate+) que 5 % des souches de *M. bovis* sont sensibles au Pyrazinamide et jusqu'à présent les tests génotypiques ne permettaient pas la différenciation des espèces car les séquences étudiées (gène ARN 16 S, du spacer 16S 23S rDNA ou du gène hsp65) présentent une complète similitude et ne peuvent être distinguées.

Récemment, les progrès de la biologie moléculaire et l'accumulation des connaissances concernant le génome de *M. tuberculosis* ont permis la mise au point de méthodes qui permettent le démantèlement du complexe tuberculosis en ses différentes espèces. L'utilisation du spoligotypage, la mise en évidence de la séquence mtp 40 chez *M. tuberculosis* et *M. africanum*, l'existence de mutations ponctuelles dans les gènes oxy R et pnc A spécifique de *M. bovis* ont permis de réaliser une première grille d'identification [32]. Découlant directement du séquençage du génome de *M. tuberculosis* H37RV et de la comparaison des génomes des différentes espèces du complexe, 16 régions de différence (RD) délétées variablement pour les différentes espèces ont été identifiées [8] [37].

Parmi ces régions, six sont intéressantes après amplification.

Leur présence ou leur absence corrélées à l'étude de la sensibilité ou de la résistance à la pyrazinamide permet d'identifier les espèces.

En 2002, la firme Biocentric a mis au point un kit Genotype *Mycobacterium* /MTBC qui permet de démanteler le complexe tuberculosis en ses différentes espèces [47].

Une PCR multiplex permet d'amplifier plusieurs fragments du gène gyr B. Un des fragments de 215 pb sert de contrôle du *Mycobacterium*, deux autres fragments de 152 pb et de 203 pb permettent de différencier les espèces du

complexe *tuberculosis*. Les amplicons sont marqués à la biotine et sont mis en contact de sondes spécifiques complémentaires fixées sur une bandelette. L'hybridation est révélée par le complexe streptavidine phosphatase alcaline. Cette méthode en fonction de l'emplacement des bandes, permet d'identifier les espèces du complexe *tuberculosis* à l'exception de *M. africanum* type II qui ne peut être différencié de *M. tuberculosis*.

1.9.6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Histoire : En 1944, Waksman découvre la streptomycine et montre qu'elle agit sur le bacille tuberculeux. Moins de 10 mois après, Youmans rapporte les premières observations de malades traités par la streptomycine dont les bacilles initialement sensibles ont acquis, après quelques mois de traitement, la possibilité de cultiver sur des milieux contenant 10.000 fois la concentration qui au début empêchait leur multiplication [58]. Quelques temps après Pyle constate l'existence de rares bacilles résistants présents dans l'expectoration de malades non encore traités par la streptomycine, Youmans montre que ces mutants ont été sélectionnés par l'antibiotique et qu'après quelques semaines de traitement la population bacillaire du malade est exclusivement représentée par ces germes de résistance souvent élevée[18][59]. Ce même phénomène n'est pas l'apanage de la streptomycine, on le retrouvera par la suite avec tous les antibiotiques qui seront successivement découverts. Donc au sein de toute souche sauvage (souche qui n'a jamais été en contact avec les antibiotiques) dès que la population bacillaire devient suffisamment importante (une caverne contient de l'ordre de 10⁹ bacilles), on retrouve des mutants résistants aux antibiotiques. Leur fréquence varie avec la nature de l'antibiotique considéré 1 sur 10⁶ pour l'isoniazide (INH), 1 sur 10⁷ à 10⁸ pour la rifampicine, 1 sur 10⁶ pour la streptomycine. L'association de plusieurs médicaments dans le traitement de la tuberculose réduit considérablement le risque de sélectionner une bactérie porteuse simultanément de plusieurs mutations. En effet, la loi de

l'indépendance de mutations fait que la probabilité de trouver une mycobactérie sauvage porteuse simultanément de deux ou plusieurs mutations est égale au produit des probabilités simples. Ainsi, avec les chiffres cités plus haut, la probabilité de trouver dans une souche sauvage un bacille résistant à la fois à la rifampicine (10^{-7}) et à l'isoniazide (10^{-6}) sera $10^{-7} \times 10^{-6} = 10^{-13}$, soit 1 bactérie au sein d'une population de 10^{13} bacilles.

Cette règle est valable pour les souches qui n'ont jamais été en contact avec les antibiotiques.

Sensibilité des souches de bacilles de la tuberculose aux antituberculeux [9]

A l'état sauvage, *Mycobacterium tuberculosis* est sensible aux antituberculeux. Dans une telle population, il existe cependant, en petit nombre, des mutants résistants aux antituberculeux.

La mesure de la sensibilité des souches de *M. tuberculosis* aux antituberculeux est généralement faite par la méthode des proportions.

Le bactériologiste utilise des milieux de culture soit :

- ✓ Pour isoler les bactéries du milieu qui les contient
- ✓ Pour les identifier
- ✓ Pour étudier leurs propriétés
- ✓ Éventuellement pour les conserver

Les milieux de culture utilisés peuvent être des milieux prêts à l'emploi ou fabrications maison.

1.9.6.1. Méthodes phénotypiques

La méthode des proportions, décrite, est la méthode de référence laquelle peut être réalisée en milieu solide et en milieu liquide [5].

La méthode en milieu solide utilise, soit des milieux à l'œuf dans lesquels les antibiotiques sont ajoutés avant coagulation, soit des milieux gélosés (7H10 et

7H11) dans lesquels les antibiotiques ont été inclus dans la masse avant solidification de l'agar.

Ce qui va différencier une souche résistante à un antibiotique d'une souche sensible c'est que la première contient un pourcentage de mutants résistants beaucoup plus important que celui contenu dans la seconde. La méthode des proportions évalue, au sein de la souche à étudier, la proportion de mutants résistants qu'elle contient. Dans un second temps, on compare la proportion obtenue à la proportion critique définie par les auteurs de la méthode. Si la souche testée contient un pourcentage de mutants résistants inférieur à la proportion critique (1%), on déduit que la souche est sensible, à l'inverse on la dira résistante. Cette technique peut être réalisée à partir des cultures ou directement à partir des prélèvements à condition que ces derniers suffisamment riches en bacilles. Les délais de lecture sont de 4 à 6 semaines (voir tableau II). La sensibilité peut être déterminée par la CMI et par la technique de l'E-TEST :

a) Détermination de la proportion des bactéries résistantes

Pour déterminer le nombre des bacilles résistants contenus dans la population bactérienne étudiée, on ensemence sur des milieux sans antibiotiques (témoin) et sur des milieux avec antibiotiques (test) des dilutions de la souche microbienne telles, qu'après la poussée, on obtient avec l'une ou l'autre de ces dilutions des colonies en nombre comptable. En général, on l'obtient avec les dilutions 10^{-3} et/ou 10^{-5} d'une suspension mère de la souche à étudier étalonnée par opacimétrie à 1 mg/ml. Les concentrations d'antibiotiques qui sont dans les milieux tests ne sont pas établies au hasard, elles sont corrélées au CMI et aux concentrations que l'on obtient chez un sujet normal après administration de la posologie standard. On les appelle concentrations critiques.

Pour déterminer la proportion de bactéries résistantes présentes dans la population, il faut connaître le nombre total de bactéries viables dénombrées sur

le milieu témoin sans antibiotique et le nombre de bactéries résistantes dénombrées sur les milieux contenant les concentrations critiques d'antibiotiques. Le rapport des secondes aux premières permet de déterminer la proportion des bactéries résistantes : Souche multi résistante.

Lors de l'étude de la sensibilité, on observe une poussée identique à celle du témoin 100 % en présence d'INH et de rifampicine

b) Comparaison de la proportion obtenue à la proportion critique

La proportion critique a été définie une fois pour toutes par les auteurs de la méthode qui l'ont obtenue après étude du comportement d'un grand nombre de souches sauvages vis à vis de la concentration critique des différents antibiotiques que l'on peut étudier. Ils ont défini qu'en général, avec les antibiotiques de première intention, les proportions critiques se situaient à 1 %. Ce qui revient à dire que toute souche dont la proportion de mutants résistants à l'antibiotique est inférieure à 1 % sera sensible et qu'à l'inverse toute souche dont le nombre de mutants sera égal ou dépassera la proportion critique sera résistante. Pour certains antibiotiques de deuxième intention, cette proportion est de 10 %.

c)Interprétation

S'il est facile de définir la CMI comme étant la plus faible concentration qui inhibe la poussée de la souche à étudier, il est parfois plus difficile de définir si la souche est sensible ou résistante.

Tableau II Antibiotiques actifs sur *M. tuberculosis*.

Antibiotiques testés en première intention	en	Antibiotiques testés en seconde intention
Isoniazide INH		Acide para-amino salicylique PAS
Rifampicine RMP		Capréomycine CAP
Ethambutol EMB		Cyclosérine D-CS
Streptomycine SM		Kanamycine KM
Pyrazinamide PZA		Amikacine AN
		Ethionamide ETH
		Ofloxacine OFX
		Moxifloxacine MOX
		Levofloxacine LVX

1.9.6.2 Méthodes génotypiques

On connaît bien maintenant les bases génétiques de la résistance, non seulement pour ce qui concerne la rifampicine mais aussi pour les autres antibiotiques de première ligne.

Les mutations ponctuelles responsables de la résistance sont localisées sur une région limitée du gène qui code pour la cible protéique de l'antibiotique. Ainsi, pour la rifampicine, 95 % des souches résistantes le sont du fait d'une mutation survenant sur une portion de 81 paires de bases du gène *rpoB* de l'ARN polymérase ADN dépendante. Plus de 35 mutations ont été décrites dans cette région mais deux mutations His 526 → Tyr et Ser 531 → Leu rendent compte de plus des deux tiers des mutations.

Le problème de la résistance à l'isoniazide est plus complexe, plusieurs gènes peuvent être impliqués. Bien que l'on dispose de moyens techniques pour mettre en évidence ces différentes mutations, ceux-ci sont assez complexes à mettre en œuvre et sont peu utilisés, ce qui n'a qu'une importance relative. En effet, on sait que près de 90 % des souches qui sont résistantes à la rifampicine le sont aussi à l'INH. On recherchera la mutation à la rifampicine et si elle existe, on suspectera d'emblée une souche multi résistante, le traitement en tiendra compte, l'antibiogramme conventionnel viendra ensuite le confirmer ou l'infirmier.

L'essai génotypique comporte trois principales étapes,

- i) extraction d'ADN de la souche à étudier,
- ii) amplification de la partie spécifique du gène par PCR,
- iii) détection de la mutation par comparaison avec la même séquence de la souche sauvage de référence. Pour réaliser cette dernière étape, plusieurs méthodes sont disponibles.

-Le séquençage des acides nucléiques de l'amplicon réalisé et la comparaison de la séquence obtenue à celle de la souche sauvage.

-La dénaturation du produit de PCR et migration du produit dénaturé en gel de polyacrylamide.

S'il y a modification de la structure primaire, il y a modification de sa mobilité. La position des bandes est déterminée par rapport à celle d'une souche sensible de référence.

La méthode dite PCR Single Strand Conformation Polymorphism (PCRSSCP) est une méthode efficace mais qui est coûteuse et d'exécution difficile [13].

Elle est très peu utilisée.

-L'hybridation avec une sonde immobilisée sur un support solide permet de détecter avantageusement les mutations responsables de la résistance à la rifampicine. La méthode Line Probe Assay (LIPA) a consisté à fixer sur un

support en cellulose une série de sondes complémentaires de la région de 81 paires de bases du gène *rpoB* qui se chevauchent les unes sur les autres. Cinq sondes hybrident, avec les séquences de la souche sauvage, les quatre autres avec les principales mutations. Les amplicons sont marqués et la fixation est révélée par une réaction enzymatique colorée. Cette méthode commercialisée par Murex Innogenetic est appelée InnoLipa Rif TB® [74]. Les résultats obtenus sont intéressants, la méthode est simple et rapide. Elle (OADC) peut s'appliquer directement sur le crachat si celui-ci est très riche en bacilles.

1.9.6.3 D'autres méthodes peuvent être utilisées

La méthode de diffusion en milieu solide est utilisable pour les souches à croissance rapide.

Le milieu utilisé est, soit du milieu de Middelbrook 7H10 supplémenté avec le mélange ou le milieu de Mueller Hinton supplémenté avec le mélange OADC et 5 % de sang défibriné.

On inocule la surface du milieu avec une suspension bactérienne Mac Farland 1 (1 mg/ml) diluée à 10^{-3} et on dépose comme pour un antibiogramme banal les disques ou les bandelettes E test imprégnées des antibiotiques à étudier. Les boîtes de Petri sont incubées en atmosphère humide à température de 30 ou de 37 ° C et examinées régulièrement. Les résultats ne peuvent être correctement interprétés que si la lecture peut se faire dans les trois jours.

Les méthodes qui utilisent les milieux solides 7H10 ou milieux à l'œuf nécessitent d'incorporer les dilutions des antibiotiques avant solidification du milieu. En fonction de la nature du milieu de culture utilisé, les concentrations d'antibiotiques varient.

Interprétation

S'il est facile de définir la CMI comme étant la plus faible concentration qui inhibe la poussée de la souche à étudier, il est parfois plus difficile de définir si la souche est sensible ou résistante.

1.10. Traitement :

1.10.1. But :

Guérir le malade de sa tuberculose ;

Eviter le décès entraîné par la tuberculose évolutive ou ses complications ;

Prévenir les rechutes de la tuberculose ;

Eviter le développement de la pharmaco- résistance ;

Diminuer la transmission de la maladie à d'autres personnes donc sa dissémination [28] [68].

1.10.2. Moyens médicamenteux :

Le traitement de la tuberculose repose sur la polychimiothérapie. Le traitement des cas de tuberculose à frottis positifs comprend deux phases.

Une phase initiale de traitement ou phase intensive qui comporte quatre médicaments à savoir l'Ethambutol (E), la rifampicine (R), l'isoniazide (H) et le pyrazinamide (Z). Parfois on ajoute la streptomycine (S) aux quatre molécules ci-dessus lors de la phase initiale. Cette phase a l'avantage d'être très efficace pour éliminer les bacilles et réduire la résistance aux antituberculeux [69].

Elle dure deux ou trois mois.

La phase de continuation est nécessaire à la guérison définitive du patient. Elle permet d'éviter la rechute de la tuberculose à l'arrêt du traitement. Elle ne nécessite pas autant de médicaments, mais sa durée doit être suffisamment longue pour être efficace (RH) voire quatre mois [28].

1.10.3. Catégorisation des malades et régime thérapeutique:[29]

Tableau IV : Catégorisation des malades et régime thérapeutique:

Catégorie	Définition	Régime de traitement
Catégorie I	Nouveau cas de Tuberculose Pulmonaire à Microscopie positive (TPM+)	2mois ERHZ et 4mois de RH OU 2mois ERHZ et 6mois de EH
Catégorie II	Retraitement de TPM+ Echec rechute reprise du traitement après abandon.	2mois SERHZ + 1mois ERHZ+ 5mois RH OU 2mois d'ERHZ et 4mois d'ERH.
Catégorie III	Nouveau cas de Tuberculose Pulmonaire à Microscopie négative Tuberculose extra pulmonaire	2mois de RHZ + 4 mois RH 2mois RHZ + 6 mois EH.
Catégorie IV	Echec après retraitement	Antibiotique de seconde ligne

Légende :

SERHZ : Association de Streptomycine, Ethambutol, Rifampicine, Isoniazide et de Pyrazinamide.

ERHZ: Association d'Ethambutol, Rifampicine, Isoniazide et de Pyrazinamide.

RH : Association de Rifampicine et Isoniazide.

ERH : Association d'Ethambutol, Rifampicine et Isoniazide.

RHZ : Association de Rifampicine, Isoniazide et Pyrazinamide.

1.10.4. Résultats du traitement :

A l'arrêt du traitement dans un Centre de Dépistage et Traitement CDT, le malade sera classé dans une des catégories suivantes : [15] [23]

Guéri : patient qui a deux frottis négatifs successifs et dont le dernier est réalisé à la fin du traitement.

Traitement terminé : patient ayant suivi jusqu'au bout son traitement, mais qui n'a pas bénéficié d'une Bacilloscopie à la fin de son traitement.

Echec : patient en traitement dont les frottis sont positifs à cinq mois, ou plus tard au cours du traitement.

Décès : patient décédé pendant le déroulement de la chimiothérapie.

Perdu de vue : patient n'ayant pas pris ses médicaments pendant deux mois consécutifs.

Transféré : patient enregistré dans un CDT et qui est adressé à un autre CDT pour y poursuivre son traitement.

2. GENERALITES sur l'infection au VIH / Sida

2.1. Historique sur la problématique du SIDA

Le VIH est étroitement lié aux virus entraînant des maladies semblables au SIDA chez les primates, le virus d'immunodéficience simien (SIV). Il existe plusieurs théories sur l'origine du Sida, mais il est communément admis que le VIH₁ est une mutation du SIV. La transmission chez l'homme a été rendue possible par une mutation du virus. Des études scientifiques ont suggéré que le virus serait apparu initialement en Afrique de l'Ouest mais il est possible qu'il y ait eu plusieurs sources initiales distinctes [74] [23].

1959 : Le premier échantillon recensé du virus VIH fut recueilli à Léopoldville actuel Kinshasa dans la République Démocratique du Congo.

1981 : Premiers cas de VIH chez les homosexuels

1982 : Première définition du Sida acceptée : Syndrome de l'Immuno Déficience Acquise.

1983 : L'équipe de Jean Claude Hermann de l'Institut Pasteur, sous la direction de Luc Montagnier découvre et isole l'agent pathogène du Sida.

1985 : Barin et ses collaborateurs découvrent et isolent le VIH2.

1987 : Commercialisation de l'AZT et seringues en vente libre dans les pharmacies de France.

1989 : Participation des malades à la 5^{ème} conférence internationale sur le Sida à Montréal.

1990 : Premiers essais thérapeutiques des DDI en France.

1991 : Propagation de l'épidémie constatée à la 7^{ème} conférence internationale sur le Sida.

1994 : Attribution officielle de l'identification du virus à l'Institut Pasteur.

1995 : Introduction de la bithérapie ARV et de la mesure de la Charge Virale.

1996 : Option de la trithérapie.

1999 : Mise au point des antagonistes des récepteurs CD4 lymphocytaires à l'instar du Pentafuside T20.

Dès le début du XXI siècle, le Sida se transforme en pandémie. Dans la majorité des pays, elle ne montre pas de signes de régression.

2.2. Définition de l'infection au VIH

C'est une infection virale transmissible, causée par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) qui infecte les lymphocytes TCD4 entraînant leur destruction [81].

Ces derniers sont en effet des cellules coordinatrices de la réponse immunitaire. Par ailleurs, les cellules infectées exposent à leur surface membranaire des protéines virales qui sont reconnues par des cellules immunitaires saines. Il s'en suit un processus de « baiser de la mort » (kiss of death) par lequel la cellule saine est détruite par activation de la voie de l'apoptose. Les agents pathogènes

à l'origine du sida et la forme clinique que prennent ceux ci dépendent du stade de l'infection et de l'importance du déficit immunitaire qui lui est associé.

L'infection au VIH évolue en trois étapes :

La phase de primo infection ;

La phase asymptomatique ;

La phase de la maladie : Sida.

Les virus de l'immunodéficience humaine appartiennent à la famille des rétrovirus.

Ses rétrovirus possèdent en effet un ARN (Acide Ribo Nucléique) de haut poids moléculaire transcrit en ADN (Acide Désoxyribo Nucléique) grâce à une enzyme contenue dans le virion et caractéristique de cette famille : la transcriptase inverse (ou RT, du terme Anglo saxon Reverse Transcriptase [11].

2.3. Mode de contamination :

Depuis le début de la pandémie, trois modes de transmission ont été observés :
[74] [70]

La transmission par voie sexuelle ;

La transmission par voie sanguine ;

La transmission mère – enfant.

L'allaitement présente de nos jours, un risque supplémentaire de contamination du bébé.

2.4. Diagnostic

2.4.1 Diagnostic indirect :

Le diagnostic de l'infection à VIH fait appel à la détection dans le sang des patients des anticorps dirigés contre le VIH. Plusieurs méthodes sont utilisées : test Immuno chromatographiques, ELISA et le western blot,

2.4.2 Diagnostic direct :

Il se fait par diverses méthodes parmi lesquelles nous pouvons retenir : la détection de l'Agp24, la mesure de l'ARN viral plasmatique et l'isolement du VIH en culture cellulaires.

3. CO-INFECTION VIH/TB :

3.1-Notion de la pathogenèse sur l'infection VIH/TB :

La tuberculose est reconnue comme une complication fréquente de l'infection par le VIH. L'altération des défenses de l'hôte par le VIH contribuent à une augmentation de la gravité de cette tuberculose. [45].

Les lymphocytes T jouent un rôle important dans l'immunité à médiation cellulaire. Ces cellules portent sur leur surface des antigènes CD4+ (lymphocytes CD4+). Le VIH reconnaît les Antigènes CD4+, avec pour résultat la destruction d'un grand nombre d'entre eux (diminution progressive du nombre des lymphocytes CD4+, et le fonctionnement défectueux des survivants. [46].

D'autre part le VIH altère divers mécanismes cellulaires importants dans les limitations de la croissance mycobactérienne.

L'infection directe des cellules exprimant l'épérote CD4 entraîne des défauts de la fonction des lymphocytes T, ce qui a pour conséquence de limiter sévèrement la production des cytokines activant les macrophages qui sont capable d'induire un état d'anti-mycobactérie dans les cellules de la lignée monocyttaire. [34].

D'autre part les macrophages sont eux-mêmes sensibles à l'infection par le VIH et deviennent déficients dans diverses fonctions de défense de l'hôte. La lymphopénie T4 et les macrophages infectés par le VIH sont tous deux présents dans le tractus respiratoire des individus infectés par le VIH, ce contexte est vraisemblablement à la base de susceptibilité par le VIH [49][52].

Chez une personne VIH positif, dont la fonction immunologique à médiation cellulaire est altérée, l'infection tuberculeuse se développe progressivement. L'immunodéficience provoquée par le VIH accentue le risque de tuberculose par deux mécanismes possibles :

-Soit en augmentant la susceptibilité à de nouvelles infections, ce qui permet à l'infection de progresser rapidement jusqu'à devenir maladie clinique.

-Soit en permettant à une infection tuberculeuse latente préexistante de progresser vers une maladie apparente sur le plan clinique. [15].

Les deux mécanismes surviennent en Afrique où le taux d'exposition est élevé, le risque d'évolution vers la maladie tuberculeuse est six fois plus élevé chez les VIH positifs que chez les VIH négatifs [30] [27].

Dans le cas de la réactivation tuberculeuse, l'atteinte du système immunitaire est importante pour passer d'un risque inférieur à 1% à un risque de 50%. [53]

3.2. Interaction entre le VIH et la tuberculose

3.2.1 Infection par le VIH et risque de la tuberculose :

Le VIH accroît la sensibilité d'un sujet à l'infection par *M. tuberculosis*. Chez une personne déjà infectée par *M. tuberculosis*, le VIH est un facteur puissant d'évolution de l'infection vers la maladie TB. [53].

Pour un individu contaminé par *M. tuberculosis*, le risque de développer la TB au cours de sa vie en fonction de son statut par rapport au VIH se résume comme suit :

Tableau IV : RISQUE DE DEVELOPPER LA TB PAR RAPPORT AU VIH

Statut par rapport au VIH	Risque de développer la TB au cours de la vie (%)
Négatif	5 – 10
Positif	50

Ainsi le VIH est le facteur le plus puissant d'augmentation du risque de la tuberculose que l'on connaisse. [57]

Place de la tuberculose dans l'évolution de l'infection au VIH :

Diverses maladies opportunistes, dont la tuberculose, surviennent à différents stades de l'infection au VIH. Le nombre moyen de lymphocytes CD4+ étant de 300/ mm³ chez les tuberculeux séropositifs, la tuberculose se déclare généralement après la survenue de plusieurs autres maladies [50].

Une étude réalisée en Haïti indique par exemple que 64% des tuberculeux séropositifs avaient une infection à VIH symptomatique avant que la tuberculose ne soit diagnostiquée. [42].

Etant donné que les séropositifs développent la tuberculose quand ils sont déjà sévèrement immunodéprimés, leur vulnérabilité à toute une série de maladies entraînent un taux élevé de mortalité à la fin du traitement antituberculeux, généralement proche de 20% chez les nouveaux cas à frottis positif et pouvant atteindre 50% chez les nouveaux cas à frottis négatif .Or, le nombre de maladies et des causes de décès chez les tuberculeux séropositifs peuvent, en théorie, être traités ou évités [31].

3.3. Impact du VIH sur la lutte contre la TB :

Les principes de la lutte contre la tuberculose restent identiques, même en présence de nombreux sujets VIH/TB. Les services de santé ont néanmoins des

difficultés à faire face à l'augmentation et à l'importance du nombre des tuberculeux dans les populations où la VIH/TB est courante.

Les conséquences sont les suivantes :

- ◆ Diagnostic en excès des TB pulmonaires à frottis négatif
- ◆ Défaut de diagnostic des TB pulmonaires à frottis positif
- ◆ Surveillance inadaptée de la chimiothérapie antituberculeuse
- ◆ Faible taux de guérison
- ◆ Taux élevés de mortalité durant le traitement
- ◆ Taux d'abandon élevés à cause des effets secondaires des médicaments
- ◆ Taux élevés de rechutes de la TB
- ◆ Augmentation de l'apparition des cas à bacilles résistants aux médicaments. [27].

3.4 Diagnostic

Le diagnostic de tuberculose chez un sujet VIH positif n'est souvent que de présomption.

Le diagnostic microbiologique repose sur la présence de BARR à l'examen direct avec concordance clinique et/ou efficacité thérapeutique. La multiplication des sites bacillaires impose la recherche de BARR dans une grande variété de prélèvements : crachats, tubages gastriques, liquides de ponction, biopsie d'un ganglion périphérique.

L'isolement de BARR en culture sur milieu de Löwenstein-Jensen (la culture peut prendre 3 à 6 semaines pour devenir positive) dans un liquide biologique (expectoration, urine, liquide de ponction), dans une biopsie, dans des hémocultures permet le diagnostic en différenciant *Mycobacterium tuberculosis* et mycobactéries atypiques. L'efficacité d'un traitement

antituberculeux d'épreuve en l'absence de diagnostic microbiologique doit faire porter le diagnostic de tuberculose évolutive.

En pratique, le diagnostic de tuberculose pulmonaire est rendu difficile par la fréquence des formes à bacilloscopie négative chez les VIH positifs. [62]

3.5 Prise en charge de la co-infection VIH/TB

Malade co-infecté qui ne suit pas un traitement ARV

Traiter immédiatement la Tuberculose

Donner du Cotrimoxazole

Faire la numération des CD4

CD4<200/mm³:débuter les ARV entre 2 semaines et 2mois après le début du traitement antituberculeux

200<CD4<350: débiter les ARV à la fin du 2ème mois ou si possible à la fin du traitement antituberculeux

CD4>350/mm³: différer la mise sous ARV et attendre la fin du traitement anti tuberculeux [67]

Malade sous ARV dépisté tuberculeux

S'assurer de l'observance et de la tolérance

Mettre sous traitement antituberculeux

En substituant l'Inhibiteur de Protéase ou la Nifédipine par l'Efavirenz si nécessaire.

Ou instituer un traitement fait de 3INRT.

Hospitaliser quelques jours pour surveillance [4].

METHODOLOGIE

METHODOLOGIE

1. Cadre de l'étude :

Notre étude a été réalisée à l'INRSP de Bamako au laboratoire national de référence de la tuberculose. Les échantillons ont été collectés dans les centres de santé de référence du District de Bamako.

2. Période d'étude :

Cette étude s'est déroulée sur une année, du 1^{er} Mai 2009 au 30 avril 2010

3. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude transversale de type descriptive.

4. Population d'étude:

Etaient concernés par cette étude les personnes vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine, suspectés de tuberculose.

a) Critère d'inclusion : Etait inclus tout patient dépisté VIH positif suivi par un CSRef âgé de 15 ans au moins et ayant une toux ou une maladie respiratoire pendant la période d'étude.

b) Critère de non inclusion : N'étaient pas concernées, les personnes séropositives de moins de 15 ans, et n'ayant pas de toux, ou de maladie respiratoire.

5. Echantionnage :

Cette étude s'est appuyée sur les prélèvements de crachat recueillis dans les six (6) centres de santé de référence du District de Bamako (CS Réf). Toutes les PV/VIH remplissant les critères d'inclusion ont été considérées. Des fiches d'enquêtes élaborées à cet effet nous ont permis la collecte des informations.

Sur 150 échantillons prévus nous avons trouvé 101 échantillons.

5.1 Collecte des données

5.1.1 Technique de collecte

Afin d'acheminer les crachats des CSRef, nous avons utilisé une approche pouvant préserver l'intégrité biologique des mycobactéries et prévenir d'éventuelles contaminations. Les crachats ont été recueillis par les techniciens des laboratoires des différentes structures.

Une fiche de demande de crachats modèle PNLT (Programme National de Lutte contre la Tuberculose) et un questionnaire ont été utilisés pour chaque PV/VIH (voir annexe N° 2)

5.1.2 Déroulement de la collecte :

Des expectorations fraîches ont été recueillies (5 à 10 ml). Une expectoration au 1^{er} contact avec le laboratoire et une autre le lendemain au réveil à jeun après brossage des dents ont été recueillies. Le crachat est collecté dans le CSRef puis acheminé au LNR (Laboratoire National de Référence) pour la mise en culture. L'émission des bacilles étant discontinue, on a prélevé des crachats deux(2) jours de suite pour le même malade. Chaque prélèvement a fait l'objet d'un examen.

Nous avons utilisé des récipients stériles, à l'usage unique. Tous les prélèvements ont été conservés au froid à +4⁰C jusqu'au transfert au laboratoire de culture.

5.1.3 Outils de collecte :

Une fiche de demande de crachat modèle PNLT et un questionnaire ont été utilisés pour chaque PV/VIH.

6. Techniques de laboratoire :

6.1 Microscopie : la recherche de BAAR après coloration par la technique de Ziehl Neelsen, lecture en immersion et quantification des BAAR ont été faites selon l'échelle UICTMR/OMS [55]

9. Contraintes, considération éthique et difficultés :

Malgré certaines insuffisances telles que les difficultés d'acheminer les échantillons au LNR la très faible participation de certains centres de santé et une contamination de milieux et rupture de milieu avec antibiotique pendant une courte durée ; l'objectif a été atteint.

A cela s'ajoutent les difficultés de transport des échantillons et la qualité des expectorations.

Raison du non utilisation de tester le pyrazinamide : rupture d'antibiotique à cause de l'absence d'acide pour préparer le milieu.

10. Définition opérationnelle des cas :

Co-infection VIH/TB : Toute personne âgé de 15 ans ou plus vivant avec le VIH se présentant dans une CSRef du district de Bamako avec des symptômes de suspicion de tuberculose comme :

- une toux persistante pendant 2 et 3 semaines ou plus
- une hémoptysie, une dyspnée, des douleurs thoraciques, une anorexie, un amaigrissement, une asthénie, une hypersudation et parfois une hyperthermie.

Resistance aux antibiotiques : c'est l'inactivité d'une molécule antibactérienne sur une souche donnée. C'est-à-dire une molécule qui n'aura pas d'effet aux doses thérapeutiques sur une souche.

Sensibilité aux antibiotiques : est l'action inhibitrice d'une molécule antibactérienne sur une souche. Elle est évaluée en mycobactériologie par la proportion critique de mutants résistants à l'antibiogramme qui doit être inférieur à 1%.

Antibiogramme : est une technique d'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques ; il permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro.

Identification des Mycobactéries: détermination des caractères biochimique ou génétique en vu de classer une espèce de mycobactéries.

Antituberculeux : Médicaments utilisés dans le traitement de la tuberculose.

11. Considérations éthiques :

Le protocole de l'enquête a été vu par le comité d'éthique institutionnel de l'INRSP.

Avant de procéder au prélèvement, un formulaire de consentement est lu devant chaque PV/VIH pour obtenir son adhésion.

Tous les patients concernés ont donné leurs accords signes de participation à l'étude. Ils ont bénéficié gratuitement:

- De l'analyse bactériologique : microscopie et culture du prélèvement de crachats
- Du traitement basé sur la TB constitué des antituberculeux et des traitements prophylactique ont été fait par le CS Réf. et le DOTS.

Aussi chaque patient a été conseillé pour le dépistage de la TB

12. CHRONOGRAMME DES ACTIVITES :

Période Activités	mars 09	avril 09	Mai et Juille t 2009	Aout 2009	Septemb re 2009	Octobre 2009	Novem bre 2009	Décem bre 2009	Janvie r 2010	Février 2010	Mars 2010	Avril Mai 1
<i>Elaboratio n du protocole</i>	X											
<i>Validation du ptocole et présentati on au comité d'éthiquee</i>		X										
Formation	X	X										
Enquête collecte de données			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Traitement et analyse de données												X
Rédaction thèse					X	X	X					X
Correction	Juill et et aout 10											

RESULTS

RESULTATS

Du 2Mai 2009 au 30Avril 2010, nous avons inclus au total 101 patients à VIH positif repartie comme suite : 27 Hommes et 74 Femmes ; 11 patients avaient la tuberculose après la microscopie et 35 patients avaient la tuberculose après la culture.

Les résultats suivants ont été obtenus après collecte des échantillons et utilisation de la fiche d'enquête.

1) Caractéristiques sociodémographiques :

L'enquête a porté sur 101 patients à VIH positif suivis dans les CSRef de Bamako et ayant symptôme d'atteinte respiratoire.

Les principales variables socio démographiques ont été résumés comme suit :

a) Répartition selon les sexes :

Le sexe féminin constitue plus des 2/3 de nos malades soit 73,27% contre 26,73%.

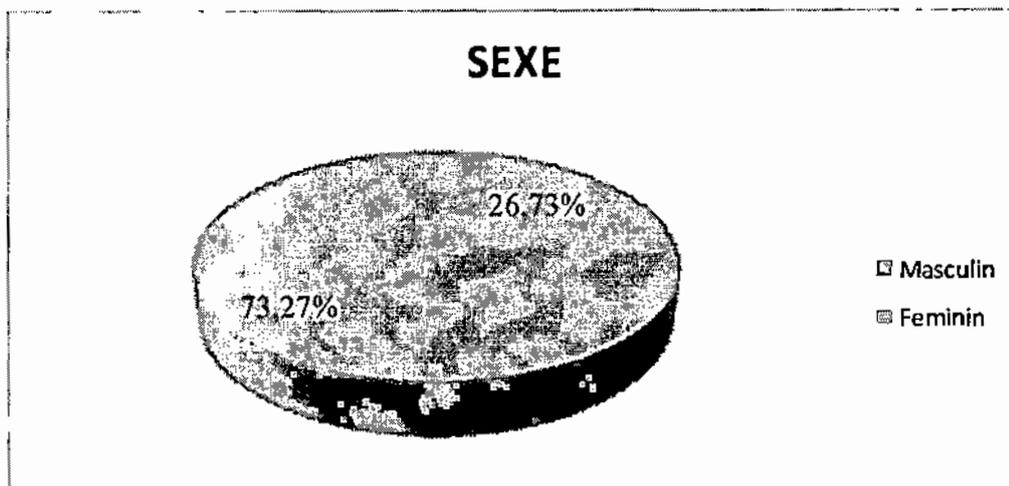


Figure 1 : Répartition selon le sexe

b) Répartition selon le statut matrimonial des malades :

Les mariés ont été les plus nombreux dans notre étude avec 85,15% contre 14,85% pour les célibataires.

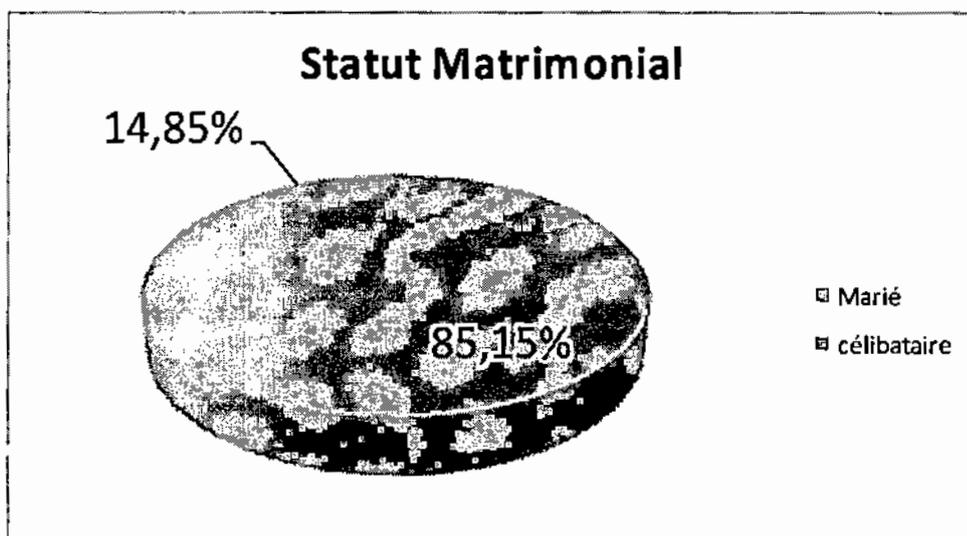


Figure 2 : Répartition selon le statut matrimonial

Tableau I: Répartition selon l'âge des malades

Age	Sexe		TOTAL	fréquence
	Masculin	Féminin		
15-24	3	5	8	7,93%
25-34	7	31	38	37,62%
35-44	7	25	32	31,68%
45-54	7	11	18	17,82%
+55	3	2	5	4,95%
TOTAL	27	74	101	100%

La tranche d'âge e 25-34ans était le plus représentée avec 37,62% des patients, elle était suivie par celle de 35-44ans 31,68%.

Tableau II: Répartition selon la profession

Profession	Effectif	Fréquence
Commerçant	18	18%
Ménagère	53	52%
Coiffeur	4	4%
Etudiant	4	4%
Manœuvre	7	7%
Autres	15	15%
Total	101	100%

Plus de la moitié de notre échantillon était composée des ménagères, soit 52% suivies des commerçants 18%

Tableau III : Répartition selon les ethnies

Ethnies			Total	Pourcentage
	Masculin	Féminin		
Bambara	10	28	38	37,62%
Peul	5	8	13	12,87%
Senoufo+Minianka+	0	9	9	8,91%
Bobo				
Sarakolé	3	12	15	14,85%
Sonrhäi	2	3	5	4,95%
Malinké	3	8	11	10,90%
Dogon	2	2	4	3,96%
Autres	2	4	6	5,94%
Total	27	74	101	100%

Ce sont les Bambaras qui constituaient 37,62% de notre échantillon suivi des Sarakolés, 14,85% et des peulh 12,87%.

Tableau IV : Répartition des patients selon leur provenance.

Provenance	Hommes	Femmes	Total	Pourcentage
Commune I	25	62	87	86,14%
Commune II	1	0	1	0,99%
Commune III	0	2	2	1,98%
Commune IV	1	7	8	7,92%
Commune V	1	1	2	1,98%
Commune VI	0	1	1	0,99%
Total	28	73	101	100%

La quasi-totalité de nos patients soit 86,14% provenait de la commune I suivi de la commune IV avec 7,92%.

2) Prévalence de la tuberculose chez les patients à VIH positifs :

Sur un total de 101 patients à VIH positif nous avons trouvé chez 11 patients des BK à la microscopie soit un taux de 10,89% ; tandis que chez 35 patients on a trouvé le BK après culture de leur échantillon soit un taux de 34,65%.

La prévalence de la TB s'élève à 34,65% des échantillons étudiés.

3) Identification des souches de Mycobactéries isolées :

Sur un total de 26 souches nous avons fait l'identification sur 17souches.

Tableaux VII : Répartition d'antibiogrammes en fonction du statut MDR ou multi résistance (n=14).

Antibiotiques	Sensible	Résistant	Pourcentage
Poly résistants			
HE	13	1	7,69%
HS	12	2	16,66%
RE	14	0	0%
SE	13	1	7,69%
Poly résistants			
HES	13	1	7,69%
RES	14	0	0%
Produit MDR			
HR	14	0	0%
HRE	14	0	0%
HRES	14	0	0%
HRS	14	0	0%

La résistance après l'antibiogramme a donné les résultats suivants :
sur deux produits non MDR nous avons trouvé : 16,66% pour HS et 7,69% pour HE et SE ;sur trois produits non MDR nous avons trouvé : 7,69% pour HES et pas de résistance pour RES ;sur produit MDR nous n'avons pas trouvé de multi résistante.

Un patient MDR : c'est un patient dont ces BK sont résistantes aux deux produits majeurs suivants H, R.

4) Evaluation de la prise en charge des patients à VIH positif.

a-Traitement Antituberculeux :

Aucun patient de notre population étude n'avait reçu un traitement (antituberculeux) avant notre étude.

b-Traitement Antiviral :

Tableaux VIII : Répartition des patients en fonction de la prise des Antirétroviraux(A.R.V).

ARV	Effectif	Pourcentage
OUI	82	81 ,19%
NON	19	18 ,81%
Total	101	100%

81 ,19% de nos patients étaient sous traitement ARV

Tableaux IX : Répartition des patients en fonction de la prise des Antirétroviraux(A.R.V) et les résultats de la culture.

ARV	CULTURE			Total
	Positif	Négatif	contaminé	
Oui	26	48	8	82 81,19%
Non	9	9	1	19
Total	35	57	9	101

. Parmi les 82 patients qui étaient sous ARV, 26 patients ont été trouvés positifs à la culture (BK+) par contre 9 patients positifs (BK+) pour ceux qui n'étaient pas sous ARV.

Traitement prophylactiques des patients à VIH positif :

Tableau X : Répartition des patients en fonction de leur traitement prophylactique

Traitement	Effectifs	Fréquence
Antibiotique		
Cotrimoxazole	78	77,22%
Autres	23	22,78%
Total	101	100%

77,22% des patients ont reçu un traitement prophylactique à base de Cotrimoxazole contre 22,78% autres Antibiotiques.

Tableau XI : répartition des patients selon leur devenir

Devenir du patient co-infecté	Statut VIH			Total
	VIH1	VIH2	VIH1+VIH2	
Vivant	27	2	0	29
Décédé	5	1	0	6
Total	32	3	0	35

La plus part de nos patients décédés étaient de type VIH₁ :5 patients.

5) Résultats Analytiques :

Tableau XII : Répartition des patients co-infectés selon l'âge (n=35)

Age	Effectifs	Fréquence
15-24	6	17,14%
25-34	12	34,28%
35-44	10	28,57%
45-54	6	17,14%
+55	1	2,9%
Total	35	100%

La tranche d'âge 25-34 ans est la plus représentée avec 34,28% suivie de celle 35-44ans avec 28,57%.

Tableau XIII : Répartition des patients co-infectés selon le sexe

Sexe	Effectifs	Fréquence
Masculin	13	37,14%
Féminin	22	62,86%
Total	35	100%

Le sexe féminin prédomine avec 62,86% contre 37,14% pour le sexe masculin.

Tableau XIV: Répartition des patients co-infectés selon le statut matrimonial

Statut	Effectifs	Pourcentage
Mariés	25	71,43%
Célibataires	10	28,57%
Total	35	100%

71,43% de nos patients co-infecté ont été trouvées mariés et 28,57% célibataires.

Tableau XV: Répartition des patients co-infectés selon leur provenance

Provenance	Effectifs	Fréquences
CSRefs		
Commune I	30	85,71%
Commune II	0	0%
Commune III	1	2,86%
Commune IV	2	5,71%
Commune V	1	2,86%
Commune VI	1	2,86%
Total	35	100%

La fréquence a été 85,71% pour la commune I, 5,71% pour la commune IV et enfin 2,86% pour la commune III, V, VI.

Tableau XVI : Répartition des patients co-infectés selon le traitement prophylactique

Traitement	Effectifs	Pourcentage
Antibiotique		
Cotrimoxazole	24	68,57%
Autres Antibiotiques	4	11,43%
Aucun	7	20,00%
Total	35	100%

68,57% des patients co-infectés prenaient du Cotrimoxazole comme traitement prophylactique.

Tableau XVII : Répartition des patients co-infectés selon la positivité de la culture et de la microscopie en fonction du type VIH

Résultat de positivité	Statut VIH			Total
	VIH1	VIH2	VIH1+VIH2	
Culture	32	3	0	35
Microscopie	10	1	0	11

32 patients à VIH₁ positif ont eu une culture à BK positif contre 3 patients à BK positif pour le VIH₂.

Tableau XVIII: Répartition des patients co-infecté en fonction de l'aspect des crachats.

ASPECT	Culture			
	Positif	Fréquence	Contaminée	Fréquence
Salivaire	22	62,87%	6	66,67%
Purulent	13	37,13%	3	33,33%
Hemoptoïque	0	0%	0	0%
Total	35	100%	9	100%

Les prélèvements salivaires ont été les plus fréquents avec 62,87% des crachats alors que les crachats purulents ont constitué 33,33% des échantillons purulents.

**COMMENTAIRES ET
DISCUSSION**

COMMENTAIRES ET DISCUSSION :

Nous avons mené du 2 Mai 2009 au 30 avril 2010, une étude prospective transversale sur l'ensemble des patients séropositifs ayant une toux et ou des problèmes respiratoires et pris en charge au niveau des six centres de santé de référence du District de Bamako.

Cette étude a porté sur 101 patients dont 35 ont été déclarés atteints de tuberculose ; soit un taux 34,65% de positivité (co-infecté).

Nous avons trouvé dans notre étude une prévalence de la co-infection de 34,65%.

Ce taux est supérieur à celui observées par DIALLO H.A en 2005 au Mali qui avait trouvé 22,69% [18]. De même Traoré M avait trouvé 23,8% de co-infecté [77] ensemble de son enquête. Nos résultats sont également supérieurs à ceux rapportés par le PNLT en 2006 au Mali qui étaient de 16,2% [11]. Mais nos résultats sont très proches des 35% rapporté par l'OMS 2007[46].

Cette prévalence peut être due à une amélioration du suivi des PV/VIH ainsi qu'à la systématique de moyens de diagnostic de la tuberculose chez les PV/VIH.

1) Caractère socio-démographiques :

1.1Sexe :

Les deux sexes sont touchés avec une prédominance féminine, 74 patients de sexe féminin contre 27 de sexe masculin soit un ratio de 2,74 en faveur du sexe féminin.

Nos résultats sont différents de celui trouvé par : DIALLO H.A qui rapporte un sexe ratio de 1,8 en faveur des hommes chez les patients tuberculeux en 2005[18]. En 2006 le PNLT qui a rapporté 1,86 en faveur des hommes [51]. Et Traore M qui rapporte un sexe ratio de 1,07 en faveur des hommes [77].

Nos résultats sont assez proches mais de sexe contraire de DEMBELE J.P au Mali en 2005 qui rapporte un ratio variant entre 1,99 et 2,28 en faveur du sexe masculin [17].

Ainsi dans la co-infection VIH/TB nous avons trouvé un ratio 1,69 en faveur du sexe féminin.

Nos résultats sont un peu proches de celui de KAMISSOKO.A en 2004 au Mali qui rapportait un ratio de 1,08 en faveur des femmes [29].

Nos résultats sont très proches de celui du PNL T en 2006 qui rapportait un ratio de 1,6 en faveur des femmes [51].

Ce taux élevé de la co-infection chez les femmes peut s'expliquer par le fait que la prévalence du VIH est plus élevée chez les femmes au Mali soit 1,5% contre 1% chez les hommes [EDSIV] en 2006 [52].

1.2 Tranche d'âge :

Dans notre population d'étude les tranches d'âge de 25-34 ans et 35-44 ans ont représenté respectivement 37,62% et 31,68% des PV/VIH.

Ces deux tranches d'âge ont donné un total de 69,3%.

Dans la co-infection VIH/TB on a retrouvé pour les mêmes tranches d'âge 34,28% et 28,57% et qui donne un total de 62,75%.

Ceci pourrait s'expliquer par : le recrutement des centres qui reçoivent des adultes en majorité, des difficultés diagnostiques de la tuberculose chez l'enfant, et par le fait que cette tranche d'âge représente la couche de la population active et productive, mais aussi sujets de migration.

Nos résultats sont un peu supérieurs à celui du PNL T qui a aussi rapporté 55% de cas de tuberculose dans ces mêmes tranches d'âge en 2006 au Mali [37].

DANYOGO.S en 2005 au Mali avait trouvé une prédominance dans les mêmes tranches avec 56,8% [14].

Dans la co-infection VIH/TB nous avons trouvé pour les tranches d'âge 45-54 ans et plus 55ans 17,14% et 2,9% avec 20,04% de ces deux tranches d'âge.

Nos résultats sont inférieurs à celui du PNLT en 2006 au Mali qui rapporte 47% dans la tranche d'âge de 45-59 ans [11].

Dans la première tranche d'âge 15-24 ans nous avons eu 17,14%.

Ce résultat est strictement inférieur de celui de KAMISSOKO.A [40] en 2004 au Mali avec 56% des co-infectés dans la tranche d'âge de 15-30 ans.

1.3 Statut matrimonial :

Les mariés ont été majoritaires dans notre étude quelque soit le statut sérologique au VIH avec cependant 85,15% contre 14,85% pour les célibataires.

Dans la co-infection nous avons trouvé respectivement 71,43% et 28,57%.

Nos résultats sont différents de celui de DIALLO H.A en 2005 au Mali qui rapporte 44,9% marié chez les mariés co-infectés [18]. De celui du PNLT en 2006 qui rapportait 21,4% chez les mariés [56]

Nos résultats sont un peu supérieurs de celui Traoré M qui rapporte 62% [77].

Cependant nous ne pouvons pas expliquer ces écarts.

1.4 Profession :

Les ménagères, les manœuvres et les commerçants ont représenté respectivement 26,42%, 42,87% et 22,22% des patients tuberculeux et séropositifs au VIH.

Nos résultats se rapprochent de ceux du PNLT en 2006 qui avait rapporté une prévalence en faveur des ménagères, les ouvriers et les commerçants respectivement de 30,5 ; 13,8 et 22,2% [56]. Ces résultats sont un peu différents de ceux trouvés par Traoré M chez les ménagères, les manœuvres, et les commerçants avec respectivement 35,3% 14,7% et 13,2% [77].

1.5 Selon les ethnies :

La répartition des patients selon l'ethnie : les bambaras, les peuls et les Sarakolés représentent respectivement 37%, 13%, 15%.

Cela peut s'expliquer que les bambaras sont plus nombreux à Bamako.

Les peuls et les Sarakolés sont des ethnies qui migrent.

1.6 Provenance des malades:

La quasi-totalité de nos malades soit 86% provenait de la commune I.

Ceci s'explique par non seulement la proximité de ce centre par rapport au LNR, une population supérieure par rapport aux autres CSRef ; mais aussi par la volonté du responsable du CSRef à faire le screening chez ses patients.

Nous avons trouvé respectivement pour les autres CSRef : 7,92% pour de la commune IV et V ; 1,98% pour de la commune III ; et pour de la commune II.

2) Evaluation de la prise en charge des patients à VIH positif

2.1 Traitement Antituberculeux :

Aucun de ces 35 patients co-infectés n'avait pas reçu un traitement Antituberculeux avant notre étude.

2.2 Traitement Antiviral : ARV

Nous avons trouvé que 82 patients étaient sous ARV plus de la moitié

On peut dire que le traitement ARV avait une influence sur l'infection de la tuberculose.

Parmi les 19 patients qui ne suivaient pas des traitements ARV, 9 patients ont été dépistés tuberculeux.

Parmi 6 patients décédés 3 patients n'avaient pas commencé leur traitement AVR.

Ceci a déjà été dit par l'OMS comme quoi la thérapie antirétrovirale permet de réduire l'incidence de la tuberculose de plus de 80% [46].

2.3 Traitement prophylactique:

Antibiotiques: Cotrimoxazole

Parmi nos patients 77,22% avaient reçu des traitements à base de Cotrimoxazole.

Nous avons constaté que la quasi-totalité de nos patients étaient sous traitement de Cotrimoxazole, dont l'OMS recommande comme traitement prophylactique des PV /VIH.

2.4 Devenir des patients:

Sur l'ensemble des patients VIH1 infecté par le BK, 5patients sont décédés contre 1 patient pour le VIH2

Cela pourrait s'expliquer par la faible prévalence du VIH 2 au Mali (13 cas en 2006) et dans le monde [45]

3. Identification des souches :

On a trouvé 82,35% de complexes tuberculosis et 17,65% de Mycobactéries atypique

4. Résistance aux antituberculeuses :

Parmi les 14 échantillons, on a trouvé 7,69% de souches résistantes à la Rifampicine, 16,66% à l'Isoniazide et l'Ethambutol et 27,27% à la Streptomycine. La résistance est observée chez un seul produit et deux produits non MDR ; pas MDR.

5. Résultats Analytiques : les co-infectés

5.1 Age :

La tranche d'âge 25-34ans est la plus co-infectée avec un taux 34,28% de notre population d'étude.

Notre résultat est assez proche de celui Traoré M qui en 2008 a eu 35,3% [77].

Nos résultats sont nettement supérieurs à celui de S. GUEDENON Carine – Inès qui rapporte 14,7% [66].

5.2 Sexe :

Le sexe féminin prédomine avec 62,86% des co-infectés.

Notre résultat est supérieur à celui de Traoré M qui en 2008 a eu 57,4% [77].

5.3 Provenance :

La fréquence a été 85,71% pour la commune I, 5,71% pour la commune IV et enfin 2,86% pour la commune III, V, VI.

Le taux élevé de la commune I peut dus soit à un nombre important des patients VIH positif qui sont recrutés par le CSRef de la commune I et à la distance commune I au LNR.

5.4 Traitement prophylactique :

68,57% des patients co-infectés étaient sous traitement à base de Cotrimoxazole et suivis des patients qui ne suivaient aucun traitement 20,00%.

Nos résultats sont supérieurs de ceux de l’OMS qui en 2007 rapportait un peu plus de 50% des patients qui ont reçu des traitements prophylactique à base de Cotrimoxazole [46].

5.4 Type de VIH :

Le VIH1 a été le plus fréquemment trouvé chez nos patients co-infectés soit 91,43% et 8,57% pour le VIH2.

Cela pourrait s’expliquer par la faible prévalence du VIH 2 au Mali (13 cas en 2006) et dans le monde [45]. Par contre Traore M dans son étude n’a pas de cas de VIH2 [77].

5.5 Aspect des échantillons :

Malgré l’aspect salivaire des échantillons 63,37% ; on a trouvé un taux de positivité 34,38%.

CONCLUSION

L'étude sur la co-infection VIH/TB réalisée à l'IRNSP de Bamako est une étude prospective transversale s'étendant sur une période de 12 mois. Elle a concerné les patients VIH-sida ayant une toux supérieure à 15 jours ou des problèmes respiratoires associés ou non à la prise en charge ARV.

Notre objectif était d'étudier la Co-infection VIH/TB/Sida chez les personnes vivant avec le sida dans les six centres de santé de référence de Bamako du 2 Mai 2009 au 30 Avril 2010 à l'Institut National de Recherche en Santé Publique. Nous avons noté une fréquence globale de la co-infection VIH/TB de 34,65% et une variabilité de la prévalence de la tuberculose chez les personnes vivant avec le VIH/ Sida dans les CSRef.

On a trouvé le BK chez la plupart de nos malades à sérologie de type 1 positif.

La tranche d'âge 25-34 ans a été la plus touchée (37,62%) avec une prédominance féminine de 57,40%. La plupart de nos patients co-infectés étaient des ménagères soit 52 %, et plus de la moitié de nos patients étaient des mariés.

Le traitement des ces patients était assuré par la stratégie DOST (traitement de courte durée sous observance directe) des centres de santé de référence.

On a eu un taux de décès de 5,94%. Sur les six cas de décès quatre (4) étaient tuberculeux (co-infectés) contre un (1) négatif et une culture (1) souillée.

La tuberculose a été fréquemment associée chez les patients VIH1.

Le diagnostic systématique du BK et la culture ont été fait chez tous les PV/VIH qui étaient inclus dans nos étude.

A la lumière des résultats enregistrés et des constats faits au cours de l'étude, nos recommandations sont les suivantes :

**CONCLUSION ET
RECOMMANDATIONS**

RECOMMANDATIONS

1-Aux autorités politico administratives et sanitaires :

- * Renforcer les programmes nationaux de lutte contre la tuberculose et le VIH/SIDA.
- * Renforcer la collaboration entre le programme de prise en charge de la tuberculose et du VIH/SIDA.
- * Multiplier les campagnes d'informations dans les médias sur le dépistage de la tuberculose et du VIH
- * Promouvoir le développement multisectoriel en général par l'alphabétisation, la lutte contre la pauvreté et l'éducation sexuelle.
- * Rendre disponible de façon régulière et ininterrompue le diagnostic par la culture chez les PV/ HIV au LNR.
- * Renforcer les compétences pour le diagnostic par la culture chez les PV/ VIH en particulier.
- * Amélioration de la qualité des soins et contribution à la confirmation du diagnostic chez les PV-VIH suspects de TB pulmonaire à frottis négatif.
- * Répartition des patients suspects de TB des autres patients en vue éviter d'autres contaminations.

2-Aux prestataires de services :

- * Faire une formation continue et permanente du diagnostic microscopique et par la culture chez les PV/VIH.
- * Faire le diagnostic de la tuberculose systématiquement chez les PV/VIH qui ont une toux de plus de 15jours et/ou des problèmes respiratoire.

- * Faire des communications pour le changement de comportement à l'endroit des populations.

3-Au PNLT :

- * Organiser un système de collecte et de transport des crachats des CSRef vers le laboratoire National de référence.
- * Suivre régulièrement les activités de co-infection VIH/TB.
- * Assurer un suivi régulier des échantillons mis en culture
- * **Eviter la rupture des médicaments antituberculeux et les conditions de conservation de ces médicaments qui peuvent source de MDR**

4-Aux patients :

De se patienter pour la durée de la culture (42jours incubation au mois) pour minimiser les conséquences de la co-infection VIH/TB

5-A la population :

Soutenir moralement, socialement et économiquement les patients co-infectés.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

[1]ANAGONOU S, GNINAFON M et BIGOT A.

Association tuberculose et VIH au Bénin. Cotonou: PNLS 2004.

Thèse Med, Cotonou, 2005.

[2]AUDRY P.

La tuberculose à l'heure du SIDA : Actualité 2004.

[http:// médecine tropicale. Free. FR/cours/ tuberculose et SIDA. Htm.](http://médecine.tropicale.free.fr/cours/tuberculose%20et%20SIDA.htm)

Consulté le 26/11/09 à 10h 30mn

[3]BERCION R et KUAMBAN C.

Résistance initiale aux antituberculeux à Yaoundé.

Cameroun, 1995; 114p

[4]BERG G. The prognosis of open pulmonary *tuberculosis*. A clinical statistical analysis. 1^{ère} Edition. Sweden, Hakan 1999; 6.

[5]BOUVENOT G, DE VULDER B, GUILLEVIN L, QUENEAU P et SCHAEFFER A.

Abrégé de pathologie médicale : Pneumologie, Néphrologie, Cancérologie, Nutrition. Paris : Masson, 1994 ; 506p.

[6]BRETON G. et coll.

Tuberculose et VIH à Bangui (République Centrafricaine) : forte prévalence et difficulté en charge.

Med Trop. 2002; 62: 623.

[7]24. Canetti, G., N. Rist, and J. Grosset. 1963. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues Antibacillaires par la méthode des proportions. Méthodologie critères de résistance. Résultats. Interprétation.

Rev. Tuberc. Pneumol. 27:217-272.

[8]CHRETIEN J.

Abrégé de pneumologie. Paris : Masson, 1983 ; 465p.

[9] **C. LOPES, H. ALVES, E. RABAD, J. OLIVEIRA, V. POMBO, J.G. SARAIVADA CUNHA, R. CORTE-REAL et A. MELI-O-SILVESTRE :**

Infection à VIH et tuberculose, propos de 32 cas

[10] **Cole, S. T., R. Brosch, J. Parkhill, T. Garnier, C. Churcher, D. Harris, S. V. Gordon, K. Eiglmeier, S. Gas, C. E. Barry, 3rd, F. Tekaiia, K. Badcock, D. Basham, D. Brown, T. Chillingworth, R. Connor, R. Davies, K. Devlin, T. Feltwell, S. Gentles, N. Hamlin, S. Holroyd, T. Hornsby, K. Jagels, B. G. Barrell, and et al.** 1998. Deciphering the biology of *MYCOBACTERIUM tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* - **393**:537-544.

[11] **Cours de Mycobactériologie Médicale et de Formation à la Technique bactériologie.**

Tests de sensibilité aux antituberculeux et dosages sériques de l'INH et la Rifampicine. Alger 4 – 24 avril 2004

[12] **CROFTON J, HORNE N et MILLER F.**

Tuberculose clinique. 2^{ème} édition. Paris : UICTMR 1999 ; 249p.

[13] **Crofton J., Horn N., Miller F.**

Tuberculose Clinique 2^{ème} Edition Londres, Mc Millan Press Limited, 1999TALC/ UICTR1999, 56 -63

[14] **DANYOGO S.**

Evaluation de la mise en œuvre du traitement antituberculeux en commune V du district de Bamako en 2004-2005.

Thèse de médecine, Bamako 2006

[15] **De Beenhouwer, H., Z. Lhiang, G. Jannes, W. Mijs, L. Machtelinckx, R. Rossau, H. Traore, and F. Portaels.** 1995. Rapid detection of rifampicin resistance in sputum and biopsy specimens from tuberculosis patients by PCR and line probe assay. *Tuber. Lung. Dis.* **76**:425-430.

[16] **Degommier, J.** 1957. Nouvelle technique de coloration des bacilles tuberculeux pour la recherche en Fluorescence. Ann. Inst. Pasteur. 692-694.

[17] - **DEMBELE J P.**

Aspect épidémiologique de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive au Mali pendant la décennie 1995-2004

Th-Med-Bamako, 2005-59p; 198

[18] **Diallo H.A.**

Influence du VIH/SIDA sur l'épidémiologie de la tuberculose maladie dans les six communes de Bamako.

Thèse de médecine, Bamako, Mali 2005.

[19] **Fadila Boulahbal, Tazir Mohamed, Djamel Yala Leila Slim, Moulay Driss El Messaoudi** bactériologie de la tuberculose Juillet 2005 Emphis P1-36)

[20]-**Flaskerud Jacquelyn Haak, Ungvarski Petr J.**

HIV/SIDA : Le guide de l'équipe soignante Ed Bayard , 1994 :86-96.

[21] **Gascoyne-Binzi D.M., Barlow R. E. L., Frothingham R., Robinson G.,**

Collyns T.A., Gelletlie R. and Hawkey P.M. 2001. Rapid identification of laboratory contamination with *Mycobacterium tuberculosis* using variable number tandem repeat analysis. J. Clin. Microb. **39**:69-74.

[22] **GOITA Y.**

Toxicité biologique du traitement simultané de la tuberculose et du VIH SIDA au CHU du Point G.

Thèse Pharm., Bamako, 2007.

[23] **Grosset, J., H. Boisvert, and C. Truffot-Pernot.** 1990. In bactériologie médicale L. Leminor, M. Veron. Ed. Flammarion Paris: 965-1017.

[24] **GNINAFON M et ANAGONOU YS.**

Rapport annuel PLNT 2005. Cotonou, 2006.

[25] **GROSSET J.**

Quoi de neuf sur la tuberculose en 1998. Rev Med Int. 1998; **19**: 613-6.

[26]HUCHON G.

Collection pour le praticien pneumologie.

Paris: Masson, 2001; 382p.

[27]Huet, M., N. Rist, G. Boube, and D. Potier. 1971.

Bacteriological study of tuberculosis in Cameroon. Rev.

Tuberc; Pneumol. **35**:413-26.

[28]KAMDEM FD.

Les cytopénies chez les sujets infectés par le VIH SIDA au CHU du point G.

Thèse Pharm., Bamako, 2007.

[29]KAMISSOKO A.

La co infection par le VIH et le Bacille tuberculeux en commune IV de Bamako.

Thèse Med, Bamako, 2006.

[30]KANGALE TWB.

La fréquence de la tuberculose pulmonaire en milieu carcéral de Bamako.

Thèse Pharm., Bamako, 2005.

[31]KINDE- GAZARD DA et GNINAFON M.

Guide du programme national contre la tuberculose.

3^{ème} édition. Cotonou, PNLT 2006 ; 50p.

[32] KORA BATA P, AKPAMOLI A, HOUNDEKON R, ZOUNGAN C, DJODJO KOUTON C, ZOUNTCHEME S et al .

Annuaire des statistiques sanitaire au Bénin Année 2006 ; Novembre 2007 ; 202p.

[33]KOUGUE E.

Résultats du traitement de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive chez les malades VIH positifs et VIH négatifs.

Thèse Med, Bamako, 2006, **66** : 88p.

[34] KOTIN JY.

Contribution à l'étude de la tuberculose : Aspect épidémiologique, diagnostique, thérapeutique, évolution à court terme et statut VIH (à propos de 332 cas de tuberculose colligés dans le service de Médecine interne du CNHU de Cotonou, 1986 à 1995).

Thèse Med Cotonou, 1996 ; n°660.

[35]LEBEAU B.

Pneumologie. Paris : Ellipses, 1994 ; 256p.

[36]MARSAC J et CHABOT J.

Exercices pratiques à la pneumologie. Paris : Ellipses, 1986 ; 352p.

[37]-Marry J.F.

Tuberculose et infection dans les années 1990 Bayard Edition, 1990 ; 57 :210-220.

[38]- MAY T., BEVILACQUA S.

Tuberculose pulmonaire: Aspects cliniques actuels de la tuberculose

Document électronique

<http://France.elsevier.com/direct/EMCRAD/EMC-Radiologie2>.

Consulté le 27-05-09

[39]MBADUET Y.

Evaluation de la notification et de la prise en charge des cas de tuberculose à frottis positif en retraitement au CNHP-P de Cotonou, 1999 n° 844: 86p.

[40] Meyer (L) HUGO (D).

Mycobactériologie en santé publique centre national de référence pour la tuberculose et mycobactéries. Institut Pasteur; Paris. 1980.

[41]-Milka Cabanne N, Larouzé B.

La tuberculose à l'heure du SIDA Rev.Epidem. et Santépubl.1993 ;41 :433-435.

[42]-Niel TC.Callahan JD.Watts MD.

Dépistage HIV & Control de qualité

Guide du personnel de laboratoire AIDSTECH , 1991.

[43]Niemann, S., E. Richter, and S. Rusch-Gerdes. 2000. Differentiation among members of the *Mycobacterim tuberculosis* complex by molecular and biochemical features: evidence for two pyrazinamide-susceptible subtypes of *Mycobacterim bovis*. J. Clin. Microbiol. **38**:152-157.

[44]Nolte, F. S., and B. Metchock. 1995. *Mycobacterim*. In manual of clinical microbiology 6th ed. American society for microbiology Washington DC **34**:400-437.

[45]-OMS.

Le virus de l'immunodéficience humaine et son diagnostic.

Manuel de référence. 2004 ;36 :87-120.

[46] OMS.2007

Une stratégie de lutte contre la double épidémie dans la région Africaine

[47] OMS.

VIH et tuberculose, dossier d'évaluation.

Document électronique

http://www.who.int/health-services-delivery/hiv_aids/French/FactSheet_FR_13.htm,

Consulté le 26/11/09 à 11 h10mn

[48]Parrot, R., Grosset J., Augier J., Meyer L. 1976. Le rôle et la place des informations bactériologiques dans l'identification des sources de contagion. Rev Fr Mal Respir **4**:289-304.

[49] Parsons, L. M., R. Brosch, S. T. Cole, A. Somoskovi, A. Loder, G. Bretzel, D. Van Soolingen, Y. M. Hale and M. Salfinger. 2002. Rapid and simple approach for identification of *Mycobacterim tuberculosis* complex isolates by PCR-based genomic deletion analysis. J. Clin. Microbiol. **40**:2339-45.

[50]Petroff, S. A. 1915. Some cultural studies on the tubercle bacillus. Bull. Johns Hopkins Hosp.:276-279.

[51] PNLT.

Rapport d'activités 2006, DNS, Bamako, Mali.

[52] Preliminary Report 2006.

Enquête Démographique et de Santé Mali 2006. EDSM IV 2006

[53]PRIGNOT J.

Maladies de l'appareil respiratoire.

Louvain : Sintal ; 1993 ; 456p.

[54]- POUABE T. R.

Résultats comparés de la radiographie thoracique et de la bacilloscopie dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire.

Thèse Med, Bamako, 2000, 40 : 73p.

[55]RAYMOND D, RALAINORO D, BOSTY J, RAKOTOMANGA JDM et RABESON DR.

Lutte antituberculeuse et aspects épidémiologiques de la tuberculose : province de Toliara 1995. Arch Inst Pasteur Madagascar 1998 ; 64 : 37-40.

[56] RAPPORT D'ACTIVITES.

Prévalence de l'infection a VIH chez les malades atteints de tuberculose pulmonaire DNS Mali, PNLT, Bamako, 2006.

[57]-Raviglione M.C, Snider D., Kochi A.

Morbidity and Mortality of a worldwide epidemie.

JAMA, 1996; 273 : 220-226.

[58]-Raviglione MC Harries AD, Msiska R, Wilkinson D, Nunn MC, P.

Tuberculosis and HIV : current status in Africa.AIDS 1997 ; 11 :79-98.

[59]Richter, E., M. Weizenegger, S. Rusch-erdes, S. Nieman. 2002.

Differentiation within the *Mycobacterim tuberculosis* complex by molecular

techniques. 23ème Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology Dubrovnick Croatia June: 23-26.

[60] ROKIA Togola.

Co-infection Tuberculose/ SIDA au service du CHU Hôpital Gabriel Toure à propos de 6 cas.

Thèse, Médecine, Bamako, 2007

[61]-Rose R.M

Base physiopathologique du développement de la tuberculose dans le cadre du SIDA. Bull. UICTRM, 1991; 66 :127-135.

[62] Runyon, E. H. 1959. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. Med. Clin. N. Amer. **43**:273-290.

[63]SALIOU M.

Suivi clinique et biologique des patients sous antirétroviral à l'hôpital du Point G. Thèse Med, Bamako, 2005

[64] SANAGO (N'F):

Etude de la résistance aux antituberculeux des souches de bacilles hébergées par les malades tuberculeux dans le district de Bamako ; thèse pharm. Bamako 1996.N°21.

[65] S. GUEDENON Carine – Inès :

Evaluation de l'efficacité du traitement de la Tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positif chez les patients co-infectés par le VIH au CNHPP de Cotonou (BENIN) à propos de 923CAS.

Thèse méd. Bamako 2008.

[66]Sissoko F :

LA Problématique de la mise en œuvre de la culture des BK dans le laboratoire Nationale de référence du MALI (LNR) Thèse Pharmacie Bamako 2010.

[67]. Skinnick, T. M., and R. C. Good. 1995. Diagnostic mycobacteriology laboratory practices. Clin. Inf. Dis. **21**:291-299.

[68]SOUMANA HA.

La tuberculose chez les hémodialysés chroniques au CHU du Point G : à propos de 10 observations.

Thèse Med, Bamako, 2006.

[69]Starke, J. R., and L. Heifets. 1997. Navigating through laboratory reports: expectorations, dreams and realities. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine.* **18**:509-522.

[70] STEPHENS MG.

Follow up of 1,041 tuberculosis patients.

Am Rev Tuberc Lung Dis 2003; **7**: 855-9.

[71]-STYBLOK.

Surveillance of Tuberculosis *International journal of Epidemiology*, Oxford, 1976,.

[72]-Sudre P., Dam G.Ten, Kochi A.

La tuberculose aujourd'hui dans le monde *Bull.Organisation Mondiale de la santé*, 1992 ; **70** :297-308

[73] TANGARA (D).

État de sensibilité aux antibiotiques antituberculeux des souches de bacilles hébergées par les malades tuberculeux en traitement à Bamako 1990. 124 p. N°29 A 15.

[74]TOGOLA M.

Étude de la tuberculose extra-pulmonaire et disséminée chez les patients infectés ou non par le VIH /SIDA : à propos de 225 cas collectés dans le service de pneumo-phtisiologie du HPG.

Thèse Med, Bamako, 1999.

[75] TOKO T. Lynda,

Echec du traitement antituberculeux au Mali de 2000 à 2003. Thèse méd.
Bamako, 2005-64P. 48.

[76]TOURE NO.

Contribution à l'étude des facteurs de risque de survenue d'une tuberculose.
Thèse Med, Dakar, 2000.

[77] TRAORE M.

Evaluer la séroprévalence de l'infection à VIH chez les malades dans les
districts sanitaires de Mopti, de Ségou et du District de Bamako.

[78]UNDERNER M et MEURICE JC.

Tuberculose pulmonaire et primo- infection tuberculeuse.
Rev Prat 1999; 49; 867-76.

[79]UITMR :

Priorité pour les services de bactériologie de la TB dans les pays à faible revenus
2ème Edition 2007 page 18-32.

[80]Wallace, R. J., O'Brien R., Glasnoth J. and al. 1997. American thoracic
society: diagnostic and treatment.

[81]-WHO

Global Tuberculosis Control. Report 2007,

[82] Youmans, G. P., and A. G. Karlson. 1947. Streptomycin sensitivity of
tubercle bacilli. Studies of recently isolated tubercle bacilli and development of
resistance to streptomycin *in vivo*. Ann. Rev. Tuberc.55:529-536.

[83]Youmans, G. P., E. H. Williston, W. H. Feldman, and H. C. Henschaw.
1946. Increase in resistance of tubercle bacilli to Streptomycin. Preliminary
report. Proc. Staff. Meet. Maya. Clin. 21:126-127.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE I

Décontamination par la méthode à la soude à 4 %

1) Solution décontaminante

Hydroxyde de potassium	4 g
Hydroxyde de sodium	80 g
Eau distillée q.s.p	2000 ml

2) Solution neutralisante

Solution mère de tournesol.....	9 ml
Acide chlorhydrique	180 ml
Eau distillée q.s.p	1000 ml

^v Solution mère de tournesol (Subra)

Tournesol	2 g
Eau distillée	100 ml

Faire dissoudre sur l'agitateur magnétique.

Mettre la solution mère de tournesol dans un ballon de 2 litres. Ajouter l'eau distillée, puis l'acide chlorhydrique, compléter avec l'eau q.s.p. 1 litre. Bien mélanger.

II) METHODE DE L'ANTIBIOGRAMME

Méthodologie

La méthode des proportions décrite par Canetti, Rist et Grosset en 1963 pour *Mycobacterim tuberculosis* et les autres mycobactéries du complexe tuberculosis.

Le matériel nécessaire est :

- Tubes d'eau distillée stérile
- Pipettes graduées
- Anse de platine
- Erlenmeyer avec billes de verre de 6 mm de diamètre
- Vortex
- Témoin opacimétrique : suspension BCG à 1mg/ml (Sanofi Diagnostics Pasteur code 53211)
- Antibiotiques préparés maison
- **La méthode indirecte:**
 - Prélever avec une anse de platine environ 5 mg de colonies de BK (anse de platine pleine).

- Mettre ces bactéries dans un Erlenmeyer de 100 ml en verre stérile contenant des billes de verre de 6 mm de diamètre.
- Agiter l'Erlenmeyer à sec pendant 10 minutes.
- Ajouter 0,1 ml d'eau distillée stérile et agiter 10 à 15 secondes.
- Ajouter ensuite 5 ml d'eau distillée stérile et agiter 10 à 15 secondes.
- Ajuster l'opacité de la suspension par rapport à l'opacité d'une suspension bacillaire de BCG à 1 mg/ml par ajout d'eau distillée
- Préparer à partir de cette suspension, 3 dilutions 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} qui seront réparties à raison de 0,2 ml par tube de milieu.
- Incuber à 37°C les tubes ouverts en position horizontale.
- Fermer les tubes une fois que le liquide est évaporé, environ après 3 à 4 jours d'incubation.

Remarques :

- . En cas de tubes bouchés au coton, flamber le coton avant de l'introduire dans le tube.
- . Changer de pipette à chaque dilution.

e - Lecture et interprétation

La lecture peut se faire à partir du 21ème jour.

- Compter le nombre de colonies apparues sur les tubes témoins et sur les tubes contenant les antibiotiques. En déduire la proportion obtenue.

(La lecture doit se faire avec la dilution pour laquelle il est possible de compter les colonies sur le tube témoin environ 100 colonies).

- Comparer cette proportion avec les proportions critiques adoptées.

La proportion critique est de 1 % pour l'INH, la RMP, l'EMB, la SM.

Une souche est résistante si la proportion obtenue est supérieure à 1 %.

Une souche est sensible si la proportion obtenue est inférieure à 1 %.

Dosage :

Streptomycine : S _____ **4µg/ml**

Isoniazide : H ou INH _____ o, **2µg/ml**

Ethambutol : EMB ou E _____ **2µg/ml**

Rifampicine: R ouRMP _____ **40µg/ml**

TCH: _____ **2µg/ml**

III) METHODE D'IDENTIFICATION

Méthodologie

- Vérifier la pureté de la souche
- Rechercher s'il existe plusieurs types de colonies
- Noter les caractéristiques de la culture

A partir des colonies qui se sont développées sur milieux solides ou à partir d'une culture en milieu liquide :

1 - Vérifier la pureté de la souche

Effectuer une coloration de Ziehl-Neelsen (MO-MYC-004). S'il s'agit bien de bacilles acido-alcool-résistants, noter la morphologie des bacilles (longueur, épaisseur, coloration homogène ou non, aspects, caractéristiques).

En cas de suspicion de contamination, effectuer une coloration de Gram et ensemercer une gélose au sang. Si des bactéries non acido-alcool-résistantes sont présentes, refaire une décontamination (MO-MYC-002).

2 - Rechercher s'il existe plusieurs types de colonies

Dans le cas de culture en milieu solide, si l'examen de la culture permet d'évoquer l'existence de plusieurs types de colonies (l'observation des colonies est facilitée par l'utilisation d'une loupe), repiquer chacune des colonies observées pour disposer de subcultures pures à partir desquelles l'identification sera effectuée.

NB : Les souches de *Mycobacterium avium* (bacilles acido-alcool-résistants cocco-bacillaires) donnent souvent deux types de colonies qui, au premier abord, peuvent faire penser à deux espèces différentes.

3 - Noter les caractéristiques de la culture

- Le délai d'apparition des colonies ou le délai de détection si la culture est effectuée en milieu liquide.
- L'aspect des colonies (taille, caractère rugueux ou lisse, pigment avant et après exposition à la lumière).
- Leur nombre sur les différents milieux ensemencés, et aux différentes températures d'incubation (MO-MYC-003).

La pigmentation des souches, l'aspect des colonies en culture, l'aspect des bacilles après coloration de Ziehl Neelsen, sont des éléments d'orientation importants.

Organigramme d'identification des souches de mycobactéries

Suspicion d'une mycobactérie du complexe tuberculosis

Sur les cultures en milieu solide

Sur les cultures en milieu liquide

Suspicion d'une mycobactérie non tuberculeuse

Les colonies sont évocatrices de M. avium-intracellulare, de M. kansasii ou de M. gordonae

Les colonies ne sont évocatrices ni de M. avium-intracellulare, ni de M. kansasii, ni de M. gordonae ou l'hybridation avec les sondes spécifiques de ces bacilles a été négative

Organigramme d'identification des souches de mycobactéries

Suspicion d'une mycobactérie du complexe *tuberculosis*

Sur les cultures sont faites en milieu solide :

Les colonies du complexe *tuberculosis* ne sont pas pigmentées même après exposition à la lumière.

Si la primo-culture est trop peu abondante, procéder à une sub-culture sur laquelle on fera les tests d'identification.

. Ou on fait une galerie d'identification biochimique des mycobactéries. (cf. annexes du document).

- Niacin-test : test de Konno.

- Nitrate réductase selon la méthode de Virtanen.
- Activité catalasique à 22°C, après chauffage à 68°C pendant 15 mn.
- Epreuves de sensibilité aux antibiotiques (Pyrazinamide à 200 mg/l, Cyclosérine à 30 mg/l et TCH à 2 mg/l).

Interprétation des résultats

Utiliser le tableau n°1 pour identifier la culture.

Suspicion d'une mycobactérie non tuberculeuse : Les colonies sont évocatrices de *M. avium-intracellulare*, de *M. kansasii* ou de *M. gordonae*

- Les colonies ne sont pas pigmentées

M. avium : colonies souvent de deux types : lisses, transparentes et opaques à tendance plutôt rugueuse, constituées de coccobacilles acido alcoolo résistants.

- Les colonies sont photochromogènes

M. kansasii : grosses colonies, eugoniques, rugueuses formées de gros bacilles à coloration en échelle.

- Les colonies sont pigmentées à l'obscurité

M. gordonae : grosses colonies lisses constituées de bacilles acido alcoolo résistants, de taille moyenne. S'il s'agit de colonies de petite taille à croissance lente, favorisées par le pyruvate et constituées de bacilles longs et chevelus, pensé à *M. xenopi*.

Faire Identification par galerie biochimique à partir d'une culture en milieu solide, réaliser une suspension en eau distillée et l'ajuster par opacimétrie à 1 mg /ml. Effectuer les dilutions de 10 en 10 jusqu'à 10⁻³ mg /ml.

A partir de la suspension à 10^{-3} mg/ml

Rechercher la présence d'un pigment.

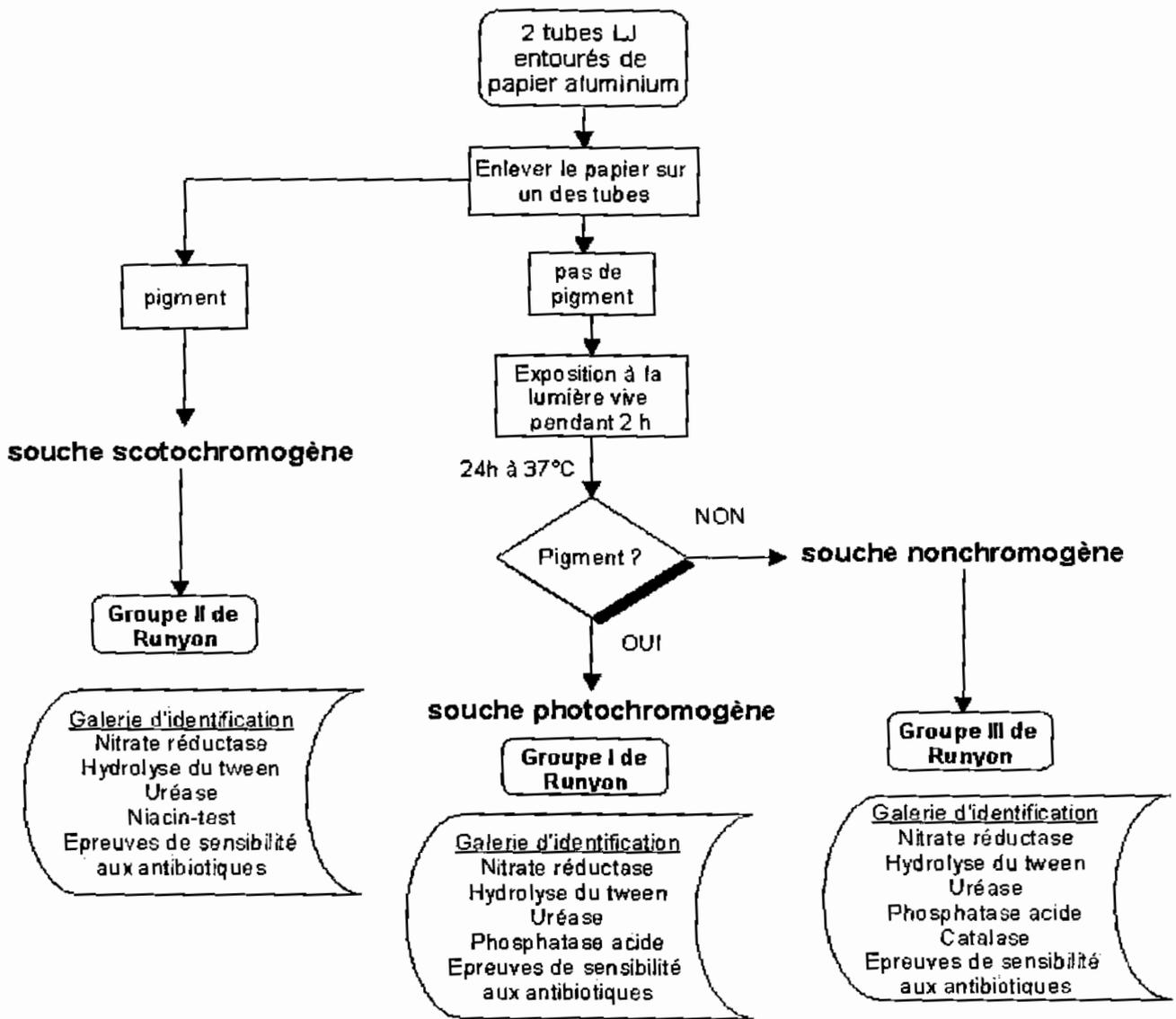
- Inoculer 0,05 ml sur la tranche de 2 tubes de milieu de Löwenstein-Jensen (LJ), les entourer d'un papier aluminium.
- Placer à l'étuve à 37°C.
- Interpréter selon l'organigramme d'identification ci-dessous.
- Observer la croissance sur les différents tubes aux 3^e, 7^e, 14^e, 21^e, 28^e et 42^e jours de culture (voire 56^e jour).
- Noter le délai d'apparition des colonies.

Interprétation globale des résultats

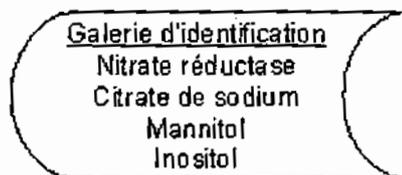
Identifier les espèces de mycobactéries au sein des groupes de Runyon selon les tableaux 2, 3, 4, et 5.

Remarque Générale

Les tests biochimiques sont des tests de réalisation et d'interprétation délicates, qui nécessitent d'être contrôlés par des témoins, ce qui oblige à entretenir des souches de référence. Compte tenu du poids de la démarche, ces épreuves ne devraient être réalisées que par quelques laboratoires très spécialisés ou par le Laboratoire National de Référence des mycobactéries qui regroupant un nombre suffisant de souches peuvent dans des délais raisonnables réaliser des séries.



Le Groupe IV de Runyon correspond aux mycobactéries à croissance rapide (colonies qui poussent en moins de 7 jours).



Organigramme d'identification

Tableau 1 : Caractères d'identification des bacilles du complexe *tuberculosis*

Espèces de	Aspect	Croissance	TCH	PZA	CS	Nitrate *	Niacin
Mycobactéries	des colonies	favorisée / pyruvate	2mg/l	200mg/l	30 mg/l		Test
<i>Tuberculosis</i>	eugonique rugueux	-	R	S	S	+	+
<i>Africanum</i>	dysgonique rugueux	+	S(v)	S	S	-(v)	(v)
<i>Bovis</i>	dysgonique lisse	+	S	R	S	-	-
<i>bovis var</i> <i>BCG</i>	eugonique rugueux	-	S	R	R	-	-

*Méthode de Virtanen

TCH : Hydrazide de l'acide Thiophène 2 Carboxylique.

PZA : Pyrazinamide

CS : Cyclosérine

v : variable

R : Résistant ; S : Sensible.

Tableau 2 : Identification des principales espèces de mycobactéries appartenant au Groupe I de Runyon (pigment photochromogène)

Espèces

	Morphologie	Vitesse /Lj	Aspect /Lj	LJ 30°C	LJ 37°C	LJ 42°C	LJ Tb1 10mg/l	Nitrate réd.	Hyd tween (10 j)	Uréase	Niacin test
<i>Kansasii</i>	bacilles trapus en échelle	14 j	E,R ou S	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>Marinum</i>	bacilles trapus	3 à 5 j	E, S	++	-	-	+	-	+	+	-
<i>asiaticum</i> <i>m</i> *	Courts	21 j	d, S	+	+	-		-	+	-	-
<i>simiae</i> *	Courts	21 j	d, S	+	+		+	-	-	+	+a

a : > 50 % mais < 80 % souches

+ : 85 % des souches

- : <15 % des souches

R : Rugueux

S : lisse

d : dysgonique

E : Eugonique

LJ : Löwenstein-Jensen

* faiblement photochromogène

Tableau 3 : Identification des principales espèces de mycobactéries appartenant au Groupe II de Runyon (pigment scotochromogène)

Espèce	morphologie	vitesse /LJ	aspect /LJ	GO	LJ 42°C	LJ 30°C	LJ Tb1	LJ CS	Nitrate réduct.	Pase acide	Hyd tween (10 j)	Uréase
<i>Gordonae</i>	id.BK	14 j	E, S	-	-	+	+	-	-	V	+	V
<i>szulgai</i>	id. BK	14 j	E, S	-	-	+	+	+	+	+	V	+
<i>Flavescens</i>	courts	7 j	E, R	±	±	+	+	-	+	-	+	+
<i>scrofulaceum</i>	courts	³ 28 j	S	-	-	+	-	-	-	-	-	V

+ : 85 % des souches

d : dysgonique

E : Eugonique

- : < 15 % des souches

LJ : Löwenstein-Jensen

R : Rugueux

V : Variable

* : photochromogène à 22°C

Tableau 4 : Identification des principales espèces de mycobactéries appartenant au Groupe III de Runyon

Espèces de mycobactérie	Complexes	<i>gastri</i>	<i>xenopi</i>	<i>malmoënsis</i>	<i>himoïdei</i>	<i>avium</i>	<i>haemophilum</i>	<i>ulcerans</i>
Morphologie	id. BK	gros bacilles zébrés	longs et fins	courts	courts	courts	courts	id. BK ("glob dans lésions)
Spectre /LJ	E, R ou S	E, R ou S	d, S	d, S	d, R	d, S dissociation ±	d, S ou R	d, R
Pigment	-	-	+ (scoto.)	-	-	-(±)	-	-
Vitesse de croissance	14 j	14 j	³ 28 j (37°C)	³ 21 j	³ 21 j	³ 21 j	³ 21 j	³ 42 j
À 30°C	+	+		+	+	+	+(CFA 15mg/l)	+
À 37°C	+	+	±	+	+	+		-
À 42°C	V	-	+	-	+	V	-	-
À J+EMB (2mg/l)	-	-	+	-	-	+	-	
À JTb1(10mg/l)	V	S	V	R	R	V		

espèces de Comp

mycobactérie

gastri *xenopi* *malmoënsis* *himoïdei* *avium* *haemophilum* *ulcerans*

terrae

nitrate	V	-	-	-	-	-	-	-
réductase								
atalase à 2°C	+++	+	±	+		+	-	-
atalase à 8°C	+	-	±	-		V	-	-
uréase	-	V	-	V	-	-	-	-
hydrolyse du tween 80	+(1-3 j)	+(1-3 j)	-	+(10 j)	+(10 j)	-	-	-
phosphatase acide	+		-	-		-	-	-

+ : 85 % des souches

- : < 15 % des souches

R : rugueux S : lisse

d : dysgonique E : eugonique

LJ : Löwenstein-Jensen

V : variable

Tableau 5 : Identification des différentes espèces appartenant au Groupe IV de Runyon (croissance rapide 3 à 7 j sur gélose ordinaire)

Espèces de mycobactérie	Pigment	Nitrate réductase	42°C	Citrate Na	Mannitol	Inositol
<i>Fortuitum</i>	0	+	+	-	-	-
<i>ortuitum biovar 3</i>	0	+	+	-	+	+
<i>Peregrinum</i>	0	+	+	-	+	-
<i>Chelonae</i>	0	-		+	-	-
<i>Abscessus</i>	0	-		-	-	-
MCLO	0	-		+	+	-
<i>Smegmatis</i>	0*	+	V	V	+	+
Complexe <i>vaccae</i> **	+	V				
	(jaune)					

*pigmentation tardive

***M. aurum*, *M. neoaurum*, *M. parafortuitum*, ainsi que *M. thermoresistible* et *M. phlei* qui se développent à 52°C, le premier est β -galactosidase +, le second est β -galactosidase –

ANNEXE2

FICHE D'ENQUETE

N°Fiche-----

Prénom

DATE

Nom

Sexe

F

M

Age -----

Profession :

Statut matrimonial

Marié(e)

Célibataire

Adresse -----

Rurale

Urbain

Ethnie

Provenance du malade

HIV1

HIV2

Est-il sous traitement infection opportuniste ?

Oui

Non

Quelles sont les molécules ?

Antibiotiques

Non antibiotique

Est-il sous ARV ?

Oui Non

Les molécules :

Est-il sous antituberculeux ?

Oui Non

Combien de mois de traitement ?

Aspects des crachats

Purulent : P

Salives : S

Sang : H

Résultats de la Bacilloscopie

Résultats de la Culture

Nombre de semaine	Sem I	Sem II	Sem III	Sem IV	Sem V	Sem VI	Sem VII
RESULTAT P. S.R							

S : souillée

P : poussée

R : ni poussée ni souillée

Type de germe identifié

Sensibilité aux antituberculeux

RESUME :

Introduction :

La tuberculose est une maladie contagieuse et secondaire à la multiplication des bactéries appartenant à la famille des mycobactéries. Avec la découverte du VIH, il a été constaté une augmentation de cas de tuberculose.

En 1997, les patients présentant une co-infection vivaient dans 70% des cas en Afrique subsaharienne ; 20% en Asies ; 8% en Amérique et au Caraïbe.

Au Mali la fréquence de la tuberculose a subi une légère augmentation ces dernières années ; elle est passée de 15,04% en 2002 à 16,2% en 2006 [72]

But de l'étude : Etudier la co-infection VIH/TB dans les centres de santé de référence de Bamako.

Méthodologie : l'étude a été réalisée à l'INRSP au LNR de Bamako du 2 Mai 2009 au 30 Avril 2010 ; 101 patients, VIH positif suspect de TB ont été inclus. Le diagnostic de la TB a été fait par la culture sur milieux de Löwenstein Jensen (LJ), après décontamination par la méthode de Petroff modifié. L'identification a été faite par la technique biochimique et l'Antibiogramme par la technique des proportions.

Résultats : pendant une période d'une année, 101 patients infectés par le VIH recenser au niveau des CSRef ont constitués notre échantillon d'étude. Parmi ces patients 35 étaient positifs à la culture soit 34,65% et 11 patients avaient des BAAR à la microscopie. La culture a permis d'obtenir parmi les négatifs à la bacilloscopie 27% positifs. Parmi ces 101 patients la majorité provenait de la commune I soit 86,14%. Le sexe féminin représentait 73,27% ; avec un âge moyen de 34,50 ans ; la plupart était marié soit 85,15% et en majorité ménagères soit 52%.

Le BK était présent chez 35 patients, 32 étaient porteurs de VIH₁ et 3 porteurs de VIH₂. Parmi nos patients co-infectés, 68,57% étaient sous Cotrimoxazole.

Les souches isolées : 82,35% BK 17,66% autres

Le profil de résistance : sur 14 souches ; nous avons trouvé 7,69% de souches résistantes à la Rifampicine, 16,66% à l'Isoniazide et l'Ethambutol et 27,27% à la Streptomycine. Nous avons observé des cas de multi résistance, mais pas de cas de MDR.

Commentaires et discussions : Cette étude a permis la détection de 34,65% de cas de tuberculose chez les 101 patients VIH.

Ce taux est supérieur à celui observées par DIALLO H.A en 2005 au Mali qui était de 22,69% [18]. De même Traoré M 23,8% [77]. Nos résultats sont également supérieurs à ceux du PNLT en 2006 au Mali 16,2% [11]. Mais nos résultats sont très proches des 35% rapporté par l'OMS 2007[46].

Notre taux élevé peut s'expliquer par le gain apporté par la culture. Car les différentes études étaient sur les résultats de la bacilloscopie.

Les deux sexes sont touchés, ainsi dans la co-infection VIH/TB nous avons trouvé un ratio 1,69 en faveur du sexe féminin. Nos résultats sont très proches de celui que PNLT rapportait en 2006 qui était de 1,60 en faveur des femmes [51]. Ce taux élevé de la co-infection chez les femmes peut s'expliquer par le fait que la prévalence du VIH est plus élevée chez les femmes au Mali soit 1,5% contre 1% chez les hommes [EDSIV] en 2006 [52].

Dans notre population d'étude les tranches d'âge de 25-44 ans ont représenté 69,30 % des PV/VIH. Notre résultat est un peu supérieur à celui du PNLT 55% de cas de tuberculose dans cette tranches d'âge en 2006 au Mali [37] et à celui de DANYOGO.S en 2005 au Mali avait trouvé 56,8% [14].

Ce taux élevé peut être du soit à la structure de prise en charge pour adulte, de la difficulté de diagnostic de la tuberculose chez l'enfant. Cette tranche d'âge représente la couche de la population active et productive, mais aussi sujette de migration.

Les mariés ont été majoritaires dans notre étude avec 71,43%. Nos résultats sont supérieurs à celui de DIALLO H.A en 2005 au Mali qui rapporte 44,9%

chez les mariés co-infectés [18] ; le PNLT en 2006 qui rapportait 21,4% [56] et de Traoré M qui rapportait 62% en 2008 [77].

Aucun des 35 patients co-infectés n'avait reçu un traitement Antituberculeux avant notre étude.

Nous avons trouvé que 82 patients étaient sous ARV, plus de la moitié. Parmi les 19 patients qui ne suivaient pas des traitements ARV, 9 patients ont été dépistés tuberculeux. Parmi 6 patients décédés 3 patients n'avaient pas commencé leur traitement AVR. On peut dire que le traitement ARV avait une influence sur l'infection de la tuberculose. Ceci a déjà été dit par l'OMS comme quoi la thérapie antirétrovirale permet de réduire l'incidence de la tuberculose de plus de 80% [46].

Parmi nos patients 77,22% avaient reçu des traitements à base de Cotrimoxazole. Ce qui confirme l'application des recommandations de l'OMS pour l'utilisation du Cotrimoxazole en prophylaxie chez les PV /VIH.

Nous avons trouvé 82,35% de complexes tuberculosis et 17,65% de mycobactéries atypiques

L'antibiogramme a été réalisé sur 17 souches. Nous avons trouvé 7,69% de souches résistantes à la Rifampicine, 16,66% à l'Isoniazide et l'Ethambutol et 27,27% à la Streptomycine. Nous avons observé des cas de multi résistance, mais pas de cas de MDR.

CONCLUSION : L'étude sur la co-infection VIH/TB réalisée à l'IRNSP de Bamako est une étude prospective transversale réalisée sur une période de 12 mois. Elle a concerné les patients VIH+ suspect de TB. Nous avons noté une fréquence globale de la co-infection VIH/TB de 34,65% dans les CSRef. On a trouvé le BK chez la plupart de nos malades à VIH1+. La tranche d'âge 25-44 ans a été la plus touchée (69,3%) avec une prédominance féminine de 57,40%. La plupart de nos patients co-infectés étaient des ménagères soit 52 %, et plus de la moitié de nos patients étaient des mariés. Le traitement des ces patients était

assuré par la stratégie DOTS (traitement de courte durée sous observance directe). On a eu un taux de décès de 5,94%. Sur les six cas de décès quatre (4) étaient tuberculeux (co-infectés) contre un (1) négatif et une culture (1) souillée. La tuberculose a été fréquemment associée chez les patients VIH1. Le diagnostic systématique du BK et la culture ont été fait chez tous les PV/VIH qui étaient inclus dans nos étude. Il est souhaitable d'étendre l'étude à une taille d'échantillon plus élevée.

Mots clés : Co-infection ; VIH/TB ; BAMAKO ; MALI

Summary:

Introduction:

Tuberculosis is a contagious and secondary disease to the multiplication of bacteria belonging to the microbacteries family.

With the discovery of HIV; an increasing of tuberculosis case has been noticed. In 1997; patients showing a co infected lived in 70% Cases in sub-Saharan Africa; 20% In Asia; 8% in America and the Caribbean.

In Mali the frequency of tuberculosis knew a slight increasing during these last years. It went from 15.04% in 2002 to 16.2% in 2006

Goal of study

To study the co infection HIV TB in the hospitals of Bamako,

Methodology: The study has been achieved at I.N.R.S.P at L.N.R of Bamako from May 2th 2009 to April 2010; 101 patients; positive suspect HIV of TB were included,

The diagnosis of TB has been made by the culture of places of LOWENSTEIN JENSEN (LJ); after decontamination by PETROF's modified method,

The identification was done by the biochemistry technic and the antibiogramme by the technic of proportions,

Results: During a year period; 101 infected patients by the HIV enrolled at the level of CSRef constituted our study sample, Among these patients 35 were

positive to the culture; either 34.65% and 11 patients had BAAR microscopy, The culture permitted to get among these negative to bacilloscopie 27% positive, Among these 101 patients; the majority came from commune I; either 86.14%. The female sex represented 73.27% with an average age of 34.50 years; most of them were married, either 85.15%; or housewives were the majority; either 52%. BK was present at 35 patients, 32 were HIV1 bearer victim and 3 bearers of HIV2. Among our co-infected patients; 68.57% were under Cotrimoxazole. The isolated stocks: 82.35% BK; 17% of others.

The profile of resistance: out of 14 stocks; we found 7,69% of strong stocks to Rifampicine; 16.66% to Isoniazide and Ethambutol; and 27,27% to Streptomycin. We observed the cases of multi resistance; but no case of MDR.

COMMENTS AND DISCUSSIONS: This Study permitted the detection of 34.65% of tuberculosis case at 101 HIV patients.

This rate is higher to the one observed by Diallo H.A in 2005 in Mali that was 22.69 % [18]. The same Traoré M 23.8 % [77]. Our results are equally higher to those of PNLT in 2006 in Mali 16.2 % [11]. But our results are nearer to 35% reported by WHO 2007[46].

Our high rate can be explained by the brought gain by culture; because the different studies were on bacilloscopie results.

Two sexes are touched; so in the co infection HIV TB; we found a ratio of 1.69% in favor to female sex. Our results are nearer to the one that PNLT reported in 2006 which was 1.60% in favor to women [51]

This high rate of co infection to women can be explained by the fact that the prevalence of HIV is higher to women in Mali; either 1.5% cons 1% to men (EDSIV) in 2006[52].

In our population study the ages bracket from 25 to 44 years represented 69.30% of PV HIV.

Our result is a little bit higher to the one of PNLT 55% of tuberculosis case in this bracket age in 2006 in Mali [37] and to that of DANYOGO S in 2005 in Mali had found 56.8% [14]

This high rate may be either due to the structure of taking in charge for adult; difficulty of tuberculosis diagnosis to child. This bracket represents the layer of productive and active population; but also subjects of migration.

The married were the majority in our study with 71.43%. Our results are higher to the one of DIALLO H.A in 2005 in Mali that reports 44.9% to co infected married [18], PNLT in 2006 reported 62% in 2008 [76] none of the 35 co infected patients had received an anti tuberculosis treatment before our study.

We found that 82 patients were under ARV; more than the half. Among the 19 patients that did not follow the ARV treatment; 9 patients were detected tuberculoses. Among six dead; three patients had not started their ARV treatment. We can say that the ARV treatment had an influence on tuberculosis infection. That has already been said by WHOM that the antiretroviral treatment allows to reduce tuberculosis incidence more than 80%. [46].

Among our patients; 77.22% had received the treatment at the basis of Cotrimoxazole; which confirms the application of WHO recommendation for the use of Cotrimoxazole in prophylaxis at PVHIV.

We found 82.35% of complex tuberculosis and 17.65% of atypical microbactery. The anti biogramme was achieved on 14 stocks. We found 7, 69% of strong stocks to Rifampicine; 16.66% to Isoniazide and Ethambutol and 27.27% to Streptomycin. We observed the cases of multi-resistance, but not the MRD case.

Conclusion: The study about co-infection HIV/TB achieved at INRSP of Bamako is prospective transverse study achieved in the period of 12 months. It concerned HIV + patients suspect of TB. We wrote a global frequency of HIVTB co-infection of 34.65% in CSRefs. We found BK at most of our patients

of HIV1+. The bracket age from 25 to 44 years has been the most touched (69.3%) with a female predominance of 57.40%?

Most of our co-infected patients were housewives either 52% and more than the half of our patients were married. The treatment of these patients was assured by DOTS strategy (short duration treatment under direct watching).

We got a death rate of 5.94%. Among the six death cases, 4 were tuberculosis 6 co-infected cons one (1) negative and 1 tarnished culture.

Tuberculosis has frequently been associated to HIV1 patients. The systematic diagnosis BK and culture have been done at all the HIVPV which were included in our studies. It is washable to spread the study at a higher size sample.

FICHE SIGNALÉTIQUE:

Nom : DAO

Prénom : SALIFOU

Numero de telephone: 66.66.93.95

EMAIL : dao.salifou@Yahoo.fr

Titre de la thèse : Etude de la co-infection VIH/TB dans les CSRefs de Bamako

Année : 2009-2010

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS

Secteur d'intérêt : Bactériologie : Recherche de Mycobactérie par culture sur milieux Löwenstein Jensen ; Identification Antibiogramme

RESUME : Il s'agit d'une étude transversale de type descriptive étalée sur une période allant du 2 Mai 2009 au 30 avril 2010.

. L'étude a été réalisée à l'INRSP de Bamako au laboratoire national de référence de la tuberculose. Les échantillons ont été collectés dans les centres de santé de référence du District de Bamako. Le but de ce travail était d'étudier la Co-infection VIH/TB par la culture sur milieu solide chez les patients à VIH positif dans les centres de santé de référence de BAMAKO.

Au terme de notre étude, les patients qui ont fait l'analyse de la TB; nous ont permis d'avoir les résultats suivants:

La prévalence de la TB s'élève à 34,65% des échantillons étudiés

- La tranche d'âge e 25-34ans était le plus représentée avec 37,62% des patients, elle était suivie par celle de 35-44ans 31,68%. Et c'est celle tranche d'âge 25-34 ans est la plus représentée avec 34,28% suivie de celle 35-44ans avec 28,57% chez les patients co-infectés. Les mariés ont été les plus nombreux dans notre étude avec 85,15% contre 14,85% pour les célibataires. 71,43% de nos patients co-infecté ont été trouvées mariés et 28,57% célibataires, le sexe féminin prédomine avec 62,86% contre 37,14% pour le sexe masculin. Parmi les 17souches 82,35% étaient dus à un Mycobactérie du Complexe tuberculosis. 17,64%des souches de M tuberculosis isolées dans notre étude étaient résistantes à la streptomycine et 11,72% étaient également résistantes à l'isoniazide et Ethambutol.

Mots clés : Co-infection ; VIH/TB ; BAMAKO/MALI

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.

Je le jure