

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1992-1993

LISTE DES PROFESSEURS

Professeur ISSA TRAORE	Doyen
Professeur BOUBACAR S.CISSE	Premier Assesseur
Professeur Amadou DOLO	Deuxième Assesseur
Docteur Bernard CHANFREAU	Conseiller technique
Professeur Bakary M.CISSE	Secrétaire Général

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS AGRGES

Pr Abdel Karim KOUMARE	Chef D E R de Chirurgie
Pr Mamadou Lamine TRAORE	Chirurgie Générale
Pr Aloiu BA	Ophtalmologie
Pr Bocar SALL	Ortho.Traumat.Sécourisme
Pr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Pr Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumato
Pr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Pr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Dr Madame SY Aida SOW	Gynéco-Obstétrique
Dr Kalilou OUATTARA	Urologie
Dr Mamadou L. DIOMBANA	Odonto-Stomatologie
Dr Salif Diakitè	Gynéco-Obstétrique
Dr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Dr Alhousséini Ag MOHAMED	O.R.L.
Dr Mme DIANE F.S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Dr Abdoulaye DIALLO	Anesth.-Réanimation
Dr Sidi Yaya TOURE	Anesth.-Réanimation
Dr Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale
Dr Sékou SIDIBE	Ortho.Traumatologie
Dr A.K.TRAORE DIT DIOP	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Pr Bréhima KOUMARE	Microbiologie
Pr Siné BAYO	Anatomie-Path.
Pr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Pr Yaya FOFANA	Hématologie
Pr Ogobara DOUMBO	Parasitologie

2. DOCTEURS D'ETAT

Pr Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Pr Amadou DIALLO	Biologie Chef D E R Sc.Fond.
Pr Yénimégué A.DEMBELE	Chimie Organique

3. DOCTEURS 3^o CYCLE

Pr Moussa HARAMA	Chimie organique
Pr Massa SANOGO	Chimie analytique
Pr Bakary M. CISSE	Biochimie
Pr Mahamadou CISSE	Biologie
Pr Sekou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Pr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Pr N'yenigue S. KOITA	Chimie organique

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Dr Abderhamane S. MAIGA	Parasitologie
Dr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Dr Amadou TOURE	Histo-Embryologie

5. MAITRES ASSISTANTS

Dr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Dr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Pr Abdoulaye Ag RHALY	Med.Int. Chef D E R MEDECINE
Pr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Pr Aly GUINDO	Gastro-Enterologie
Pr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Pr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Pr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Pr Baba KOUMARE	Psychiatrie
Pr Moussa TRAORE	Neurologie
Pr Issa TRAORE	Radiologie
Pr Mamamdou M. KEITA	Pédiatrie
Pr Eric PICHARD	Médecine Interne
Pr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Dr Abdel Kader TRAORE	Med. Interne
Dr Moussa Y. MAIGA	Gastroenterologie
Dr Balla COULIBAMY	Pédiatrie
Dr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Dr Dapa Ali DIALLO	Hémato-Médec. Interne
Dr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Dr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Dr Hamar A. TRAORE	Medecine Interne

D E R de SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS AGREGES

Pr Boubacar CISSE	Toxicologie
Pr Arouna KEITA	Matière Médicale

2. MAITRES ASSISTANTS

Dr Boulkassoum HAIDARA	Législ. Gest. Pharm.
------------------------	----------------------

Dr Etienne MARIKO
Dr Ousmane DOUMBEA
Dr Diassa DIALLO

Pharmacodynamie
Pharm Chim Chef D E R SCES PHARM.
Matières Médicales

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEURS AGREGES

Pr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique (chef D.E.R.)
Pr Moussa A. MAIGA Santé Publique
Dr Hubert BALIQUE Maître de conf. Santé Pub.

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Dr Bernard CHANFREAU Santé Publique
Dr Jean Michel Santé Publique
Dr Bocar G. TOURE Santé Publique
Dr Sory I. KABA Santé Publique
Dr Sanoussi KONATE Santé Publique

CHARGES DE COURS

Dr Mme Cisse A. GAKOU Galénique
Pr N'Golo DIARRA Botanique
Pr Bouba DIARRA Bactériologie
Pr Salikou SANOGO Physique
Pr Daouda DIALLO Chimie Générale et Min.
Pr Bakary I. SACKO Biochimie
Pr Yoro DIAKITE Maths
Pr Sidiki DIABATE Bibliographie
Dr Aliou KEITA Galénique
Dr Boubacar KANTE Galénique
Dr Souleymane GUINDO Gestion
Dr Mrs Sira DEMBELE Maths
Mr Modibo DIARRA Nutrition
Mrs MAIGA Ftoumata SOKONA Hygiène du Milieu

ASSISTANTS

Dr Nouhoum ONGOIBA Chirurgie
Dr Saharé FONGORO Néphrologie
Dr Bakoroba COULIBALY Psychiatrie
Dr Benoît KOUMARE Chimie Analytique
Dr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Dr Mamadou DEMBELE Médecine Interne
Dr Sadio YENA Chirurgie Générale
Dr Ibrahim ALWATA Ortho-traumatologie
Dr Adama D. KEITA Radiologie
Dr Tatiana KEITA Pédiatrie
Dr Massambou SACKO Santé Publique

C E S

Dr Georges YAYA (RCA) Ophtalmologie
Dr Abdou ISSA (NIGER) Ophtalmologie
Dr Amadou DIALLO (Sénégal) Ophtalmologie
Dr Askia Mohamed (NIGER) Ophtalmologie
Dr Oumar BORE Ophtalmologie
Dr N'DJIKAM Jonas (CAMEROUN) Ophtalmologie

Dr DEZOUNBE Djoro (TCHAD)	Ophtalmologie
Dr Aboubacrine A.MAIGA	Santé publique
Dr Dababou SIMPARA	Chirurgie Générale
Dr Mahamane TRAORE	Chirurgie Générale
Dr Mohamed Ag BENDECH	Santé Publique
Dr Mamadou MAIGA	Dermatologie
Dr Tongo DOUMBIA	Chirurgie Gle
Dr Salimata KONATE	Ophtalmologie
Dr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Dr Ousmane C.FAYE	Dermatologie
Dr Mme N'DIAYE Hawa THIAM	Dermatologie
Dr Idrissa A.CISSE	Dermatologie
Dr Akory Ag IKNANE	Santé Publique
Dr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Dr Mahamadou MAIGA	Santé Publique
Dr Adama DIAWARA	Santé Publique
Dr Mahamadou THERA	Santé Publique

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Pr P.HAVLCK	Biophysique
Pr F.ROUX	Biophysique
Pr G.FARNARIER	Physiologie
Pr G.GRAS	Hydrologie
Pr E.A.YAPO	Biochimie
Pr Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr Mamadou BADIANE	Pharmacie Chimique
Pr Issa LO	Législation

PERSONNELS RESSOURCES

Docteur Madani TOURE	H.G.T.
Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Badi KEITA	H.G.T.
Docteur Antoine NIANAO	H.G.T.
Docteur Kassim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I.MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompere KONE	I.N.R.S.P.
Docteur BA Marie P.DIALLO	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy DICKO	P.M.I.SOGONINKO
Docteur Mohamed TRAORE	KATI
Docteur Arkia DIALLO	P.M.I.CENTRALE
Docteur Reznikoff	IOTA
Docteur TRAORE J.THOMAS	IOTA
Docteur P.BOBIN	I.MARCHOUX
Docteur A.DELAYE	H.P.G.
Docteur N'DIAYE F. N'DIAYE	IOTA
Docteur Hamidou B.SACKO	HGT

JE DEDIE CE TRAVAIL

. A la mémoire de mon père : Feu Yaya GUINDO, tu fus cruellement arraché à notre amour au moment où nous avons le plus besoin de toi. Que ton âme repose en paix !

. A la mémoire de ma mère : Aïssata TIMBELY, toujours soucieuse de notre bien être et de notre réussite. Je n'oublierai jamais les sacrifices que vous avez consentis pour moi.

. A la mémoire de mon Oncle : Ibrahim TIMBELY, tu fus pour moi un père, ton amour, ton dévouement, ta disponibilité ont suscité mon admiration et ont certainement inspiré le choix de ce métier. Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude.

. A ma Grande-mère : Amaga DJIGUIBA, vos conseils resteront des règles d'or dans ma mémoire. Cette belle éducation que j'ai reçue : le savoir vivre en masse; le comportement envers le prochain, la franchise, ... sont des exemples parmi tant d'autres de votre dévouement pour ma cause.

. A mes tantes Soma TIMBELY, Mme Timbely née Adama DICKO, Mme Timbely née Kadiatou TOURE. C'est l'occasion pour moi de vous remercier du soutien moral et matériel que vous m'avez toujours apporté. Trouvez ici l'expression de ma reconnaissance.

. A mes frères et soeurs : notamment à Mahamadoun GUINDO, Issa GUINDO, Feu Malado GUINDO....
Pour votre contribution constante, votre soutien morale et matériel, et votre estime pour moi.

. A mes oncles paternels et maternels

. A mes cousins et cousines : Avec mes sentiments les plus affectueux.

. A mes beau-frères et belle-soeurs.

. A mes amis (es) : Mamadou Traoré. Djoudo Tapo - Dramane Maïga Amadou Diawara, Mamadou Touré, Nianan Tangara, Ousmane Traoré Sidi Dicko, Koumba Tamboura, Adedja Maïga, Seydou Sidibé, Chaka Doumbia, Mamadou Ouattara dit Dembélé.... et à travers vous vos familles, qu'ils trouvent ici l'expression sincère de mon amitié et de ma profonde gratitude.

. A tous mes camarades de promotion et plus particulièrement à Boureïma Koriba, Loseni Bengaly, Sadian Kouma, Bakoroba Goundourou, Mama Konate, Abdou Diallo, Mme Diop Alimatou Diallo, Moussa Coulibaly, Mounouri Baby, Moriba Sidibé, Fatoumata Maïga....

MES REMERCIEMENTS VONT :

Au corps Professoral de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali, pour la qualité des cours disposés.

A tout le personnel de Dispensaire Antituberculeux de Bamako, notamment à Mr Seydou Coulibaly ; Dr Diallo ; Dr Diallo Alimata Naco, Mr Mama SANOGO ; Mr Abdramane Dolo... pour leur chaleur humaine. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

A tout le personnel de l'INRSP, notamment au personnel du Service de bactériologie et plus précisément à Mr Mamadou DIAKITE, Mr Tiewary DOUMBIA, Mme Wadia KARAMBE, Mme COULIBALY Albertine, Mr Tidiane TRAORE, Mr Amadou YOSSSI. Qu'il trouve ici l'expression sincères d'un homme qui restera toujours reconnaissant.

A tout le personnel du service de Pneumo-physiologie de l'hôpital du Point "G" et plus particulièrement à Mr KOUYATE Major, au Dr Bah KEITA, pour l'aide constante et appréciable à la réalisation de ce travail.

Au Dr Daye TALL, Gérant de l'officine du Boulevard et Beau-frère jamais je n'oublierai les sacrifices que tu as consentis pour moi ; ton aide matériel et morale, n'ont jamais cessé de me parvenir. A travers vous l'apprentissage de mon futur métier m'a été facilité. Recevez donc de ce peu d'un homme qui vous restera toujours disponible en guise d'expression de mes sincères remerciements.

A tout le personnel de la pharmacie du "Boulevard", notamment à Mr Modibo BAH, Mr Tidiane TALL, et Mme GUINDO Fatoumata TALL. Pour leur aimabilité, leur franche collaboration et leur amour pour le prochain : compter sur moi. C'est le lieu de vous remercier.

A tout mes camarades d'enfance, et camarades de classes du primaire au secondaire, pour preuve de mon amour.

A tous mes parents, Amis(es) et alliés(es), qu'ils trouvent ici l'expression profonde de ma gratitude.

A notre président de thèse

Monsieur le Professeur Souleymane SANGARE Consultant de la tuberculose à l'O.M.S au Mali.

Professeur à l'E.N.M.P.

Professeur agrégé en Pneumo-phtisiologie

Vous nous faites un grand honneur et un grand plaisir en acceptant de présider cette thèse.

Nous avons eu l'occasion d'apprécier vos hautes qualités humaines et professionnelles à travers nos confrères médecins.

Veillez trouver ici, l'expression de notre sincère admiration et de notre profond respect.

A notre Maître et juge

Monsieur le Professeur Arouna KEITA

Professeur de pharmacognosie à l'E.N.M.P.

Professeur agrégé en Matière médicale

Chef de service de la Division Médecine Traditionnelle (DMT)

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

Nous nous réjouissons de compter parmi les bénéficiaires de vos cours de Matière médicale que vous avez toujours dispensé avec amour, abnégation et efficacité.

Nous vous prions d'accepter l'expression de nos plus vifs remerciements et notre attachement respectueux.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Docteur Bah KEITA

Spécialiste en Pneumo-phtisiologie à l'Hôpital du Point "G"

Chef de service de Pneumo-phtisiologie à l'Hôpital Nationale du Point Point "G"

Assistants chefs de clinique à l'E.N.M.P

Nous avons été très honorée de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté d'être parmi nos juges.

Nous avons pu apprécier à maintes occasion vos hautes qualités humaines et professionnelles. Nous vous remercions pour l'aide précieuse que vous nous avez accordée au cours de nos travaux.

Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A mon Directeur de thèse

Monsieur le Professeur Bréhima KOUMARE
chef de service de Bactériologie à l'Institut National de Recherche en Santé
Publique (INRSP).

Professeur agrégé en Microbiologie

Professeur de Bactériologie à l'E.N.M.P

Nous sommes très honorée que vous avez bien voulu accepter la direction de ce
travail et nous faire bénéficier de votre très grande compétence en matière de
tuberculose.

Votre rigueur dans la recherche scientifique, votre dévouement dans le travail,
vos qualités de formateur, d'organisateur et l'étendue de votre savoir ont forcé
notre admiration pour vous.

Vos multiples qualités humaines laisseront en nous un souvenir indélébile.

Permettez-nous de vous adresser l'expression de notre vive reconnaissance et de
notre profond respect.

ABREVIATIONS

A.F.S : Autres formations Sanitaires
A.D.N : Acide desoxyribo-nucléique
A.R.N : Acide ribonucléique
B.A.A.R : Bacille Acido-Alcool-Résistant
B.C.G : Bacille de Calmette et Guérin
C.D.M : Coefficient de dépassement moyen
C.M.I : Concentration Minimale Inhibitrice
CS : Cycloserine
DAT : Dispensaire Antituberculeux
EMB = E : Ethambutol
HPG : Hôpital du Point G
H = INH : Isoniazide
LCR : Liquide céphalo-rachidien
PAS : Acide para-amino-salicylique
R = RIF : Rifampicine
T = TB1 : Thioacétazone
TCH : Hydrazide de l'acide tiophène-2-carboxylique
I₃ : Indice d'inactivation
INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
t°: Température

SOMMAIRE

1	GENERALITES	1
2	I. INTRODUCTION	2
5	II HISTORIQUE	5
7	III. RAPPEL SUR LES BACILLES TUBERCULEUX	7
7	1. Définition	7
7	2. Mode de transmission	7
7	3. Transport et conservation des produits :	7
8	4. Nomenclature et classification	8
9	5. Caractères différentiels des mycobactéries	12
14	IV LES DIFFERENTS MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX	14
14	1. Bases bactériologiques des traitements de la tuberculose	14
14	2. Conduite du traitement antibiotique	16
16	3. La résistance du bacille tuberculeux et ses conséquences	18
18	4. Les différentes drogues antituberculeuses	19
19	5. Les Schemas thérapeutiques au Mali (Régime de traitement)	30
35	PARTIE PRATIQUE	35
36	V. SUJETS ETUDIÉS, MATÉRIELS ET MÉTHODES	36
36	1. Sujets Etudiés :	36
36	2. Matériels :	36
38	3. Méthodes	38
38	3.1 Prélèvement des produits pathologiques	38
38	3.2. Examen microscopique :	41
41	3.3. Culture	46
46	3.4. Identification des mycobactéries	51
51	3.5. Tests de sensibilité aux antibiotiques	55
61	RESULTS-DISCUSSION-CONCLUSION	61
62	VI RESULTS	62
62	1. Culture	62
62	2. Identification	63
63	3. Test de sensibilité aux antibiotiques	65
65	antituberculeux	65
65	3.1 Résistance primaire	65
67	3.2 Résistance chez les malades en traitement	67

80	BIBLIOGRAPHIE
79	VIII. CONCLUSION.
74	antituberculeux
73	3. Tests de sensibilité aux antibiotiques
73	2. Identification
73	1. Culture
73	VII DISCUSSION

GENERALITES

I. Introduction

La définition la plus classique de la tuberculose, donnée par le dictionnaire Larousse est la suivante : la tuberculose est une maladie infectieuse due à différentes espèces du genre Mycobacterium, caractérisée par la formation de tubercules dans les organes variés (poumons, vertèbres, reins, peau, meninges, intestin...). La tuberculose pulmonaire, provoquée principalement par Mycobacterium tuberculosis, est la plus fréquente (67).

L'infection tuberculeuse constitue encore un problème majeur de santé publique au Mali.

En effet une enquête effectuée de 1968 à 1975 montre que 50% des jeunes de 20 ans ont une réaction tuberculique positive et estime à 11 000 cas l'incidence annuelle de morbidité (54).

Malheureusement tous ces cas ne sont pas dépistés et mis en traitement, car selon les rapports d'activités de la section de la tuberculose et des immunisations on note que :

. En 1988, sur un total de 6034 malades pris en charge (malades dépistés, malades en traitement au 31-12-1987 et anciens malades rechutés dans l'année) dont 2578 (42,72%) dépistés par la bacilloscopie, on a enregistré 1582 (25,72%) guérisons et 286 (4,74%) décès.

. En 1989, sur un total de 5632 malades pris en charge dont 2870 (50,95%) dépistés, on a noté 1429 (25,37%) guérisons et 291 (5,16%) décès.

. En 1990, sur un total de 5964 malades pris en charge, dont 2933 (49,17%) dépistés, on a enregistré 1184 (19,85%) guérisons et 278 (4,66%) décès.

Notons que chaque année, aux nouveaux tuberculeux, s'ajouteront les malades non dépistés, les malades non guéris pour résistance aux antituberculeux, les malades irréguliers au traitement et les malades perdus de vue de l'année précédente; d'où une augmentation du nombre de patients d'année en année. Ce problème global ira en s'amplifiant avec la survenue de la pandémie de SIDA.

Selon les statistiques de 1989 (24) de la division de l'épidémiologie du Ministère de Santé Publique, de la Solidarité et des Personnes âgées, la tuberculose pulmonaire a été classée en cinquième position parmi les grandes endémies après le paludisme, la rougeole, la bilharziose, et l'hépatite virale comme cause de morbidité.

La gravité du problème a justifié la mise sur pied au Mali depuis 1985 d'un programme national de lutte contre la tuberculose basée sur :

- **La prophylaxie** : qui consiste à vacciner dès la naissance les enfants par le B.C.G. (Bacille de Calmette et Guérin). En 1986 la vaccination par le B.C.G a été intégrée au programme élargi de vaccination (P.E.V), ayant pour population cible les enfants de 0 à 6 ans.
- **Le dépistage** : par la mise en évidence du bacille tuberculeux dans les produits pathologiques (crachats habituellement).
- **Le traitement** : par l'utilisation d'un des schémas thérapeutiques établis au niveau national; il s'agit :
 - * du régime court de traitement de huit mois : utilisant pendant les deux premiers mois quotidiennement quatre médicaments qui sont : l'Isoniazide (INH ou H), la Rifampicine (R), la Streptomycine (S) et le Pyrazinamide (Z) et les six derniers mois la Thioacétazone (T) et l'INH; ces deux médicaments sont administrés de façon quotidienne; ce schéma est ainsi résumé : 2HRSZ/6TH
 - * du régime de retraitement de six mois : utilisant pendant les trois premiers mois cinq médicaments : l'INH, la Rifampicine, l'Ethambutol (E), le Pyrazinamide et la Streptomycine; et les trois derniers mois l'isoniazide, la Rifampicine et l'Ethambutol administrés de façon intermittente trois fois par semaine. Ce régime se résume de la façon suivante : 3 HREZS₃/3H₃R₃E₃
 - * du régime standard de douze mois, employant 3 antibiotiques dont l'INH la Streptomycine et la Thioacétazone quotidiennement pendant deux mois et la Thioacétazone et l'Isoniazide quotidiennement pendant 10 mois; résumé de la façon suivante : 2HTS/10TH.

Pour que ce traitement soit efficace il faut que :

. Les souches responsables soient sensibles aux différents antituberculeux utilisés à l'échelle nationale.

. Les antibiotiques antituberculeux soient utilisés à doses efficaces.

. Et enfin que les malades soient réguliers pendant toute la durée du traitement.

Pour cela il est nécessaire que le clinicien travaille en étroite collaboration avec les bactériologistes pour une surveillance régulière de la nature des espèces responsables et de leur sensibilité aux antituberculeux.

C'est dans ce cadre que se situe notre travail, dont les objectifs sont :

- Identifier la nature des espèces en cause.
- Evaluer la nature et le niveau de la résistance simple et de la polyrésistance des souches isolées chez les malades.
- Faire une proposition d'amélioration du schéma thérapeutique existant si nécessaire.

Les travaux ont été effectués au laboratoire de référence de la tuberculose de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) à partir d'expectorations des malades contenant des bacilles acido-alcoolo-résistants visibles à l'examen microscopique après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen.

Ces expectorations provenaient de malades suivis au Dispensaire Antituberculeux de Bamako (DAT) et dans le service de pneumo-phtisiologie de l'Hôpital National du Point G, sur une période de douze mois : Octobre 1990 à Octobre 1991.

Au total 404 prélèvements ont été examinés. Nous avons également reçu des autres formations sanitaires de Bamako, divers produits pathologiques pour l'examen direct et / ou la culture.

Pour rédiger ce travail nous avons adopté le plan suivant :

- Historique
- Rappel sur les bacilles tuberculeux
- Les différents médicaments antituberculeux
- Sujets étudiés, matériels et méthodes.
- Résultats
- Discussions
- Conclusion

II HISTORIQUE

La tuberculose est une maladie connue depuis les temps les plus anciens; des momies égyptiennes, notamment celles de Toutakhanon seraient sans doute porteuses de séquelles de tuberculose. En général on divise cette histoire en quatre grandes étapes : (8).

1. ETAPE OBSCURE :

La tuberculose est restée très longtemps méconnue des hommes, malgré les grandes tentatives de démystification auxquelles se sont livrés les chercheurs des temps anciens. On est parvenu néanmoins à découvrir toutes les faces de cette maladie invalidante, tant sur le plan clinique, épidémiologique, physiologique, bactériologique, thérapeutique, qu'immunologique; cela a duré plusieurs décennies.

Hippocrate a fait mention d'infections broncho-pulmonaires et pleurales, parmi lesquels les phtisies occupent une place de choix. Comme Galien et plus tard Coelus Aurelius, il a décrit cette maladie en distinguant plusieurs aspects cliniques.

En Europe, à l'époque de la renaissance GIROLAMO FRACASTOR de VERONE a rénové entièrement la notion traditionnelle de phtisie en plaçant celle-ci dans le même cadre que les autres maladies infectieuses. Il est le premier à avoir incriminé les micro-organismes dans la pathogénicité et la transmission interhumaine de la maladie (11). Ces lueurs ne furent qu'éphémères et n'eurent pas de suites immédiates par manque de moyens scientifiques, pour que ces données puissent se préciser, se confirmer et s'étendre. Les chercheurs ne se découragèrent pas, alors intervint GASPARD LAURENT RAYCE qui réussit à décrire les granulations miliaires et plusieurs aspects anatomiques de la phtisie tuberculeuse au 19^e siècle. Les travaux mémorables de THEOPHILE RENEMARIE HYACINTHE LAENNEC "de l'auscultation médiate" par la mise au point patiente d'un procédé nouveau et adéquat, l'auscultation et par la confrontation méthodique des données qu'elle fournit avec les constatations macroscopiques faites au cours des autopsies, ont permis d'échafauder non seulement la phtisiologie, mais l'essentiel de la pneumologie moderne sur les bases anatomocliniques irremplaçables. Il affirme l'unicité du processus tuberculeux à travers les atteintes fortes dissemblables en apparence, ceci en absence de toute possibilité de contrôle histologique ou bactériologique qui s'est confirmée avec les travaux de LOUIS en 1825 dans les "Recherches Anatomocliniques sur les phtisies". En 1865 sur le plan expérimental VILLEMIN montre par inoculation sous-cutanée aux animaux de laboratoire, de broyats de lésions tuberculeuses que la maladie est virulente, contagieuse et liée à un germe extérieur à l'organisme.

En 1882 ROBERT KOCH franchit l'étape bactériologique avec la découverte du bacille tuberculeux ou bacille de Koch "BK".

En 1885 ROETGEN découvrit les rayons x (RX) facilitant le diagnostic de la tuberculose.

2. ETAPE BACTERIOLOGIQUE :

En 1882 ROBERT KOCH découvrit le bacille tuberculeux humain: Mycobacterium tuberculosis et réussit sa culture sur sérum de boeuf coagulé. Il mit au point la tuberculine (broyats de fragments antigeniques).

La même année, ZIEHL et NEELSEN mirent au point une méthode de coloration spécifique des mycobacteries, basée sur leur acido-alcoolo-resistance.

A partir de 1895 de nombreuses mycobacteries furent découvertes. Il s'agit de :

- Mycobacterium leprae ou bacille de Hansen : non cultivable sur milieu artificiel et responsable de la lèpre humaine.
- Mycobacterium bovis : agent de la tuberculose des bovidés, mais peut affecter l'homme dans certains cas.
- Certaines mycobactéries atypiques : qui accidentellement peuvent affecter l'homme (EUROPE, AFRIQUE, AMERIQUE).

En 1907 Von PIRQUET a décrit les réactions cutanées tuberculiques.

C'est en 1920 que LOEWENSTEIN et JENSEN mirent au point un milieu de culture synthétique, répondant parfaitement aux besoins métaboliques des mycobactéries, excepté Mycobacterium leprae.

3. ETAPE VACCINALE :

De 1908 à 1921 CALMETTE et GUERIN ont trouvé le vaccin B.C.G, marquant ainsi une étape très importante dans la prophylaxie de la maladie.

4. ETAPE THERAPEUTIQUE :

En 1944 Waksman a découvert la streptomycine : premier antibiotique antituberculeux marquant alors l'ère actuelle de la lutte antituberculeuse. Ensuite ont été découvertes les principales autres drogues : INH, RIFAMPICINE, EMB, Tb₁, PYRAZINAMIDE.

En 1982, la commission de traitement de l'Union Internationale contre la Tuberculose a défini une liste de six drogues essentielles dans la tuberculose. Il s'agit de :

- L'Isoniazide ou INH : RIMIFON*
- La Rifampicine : Rifadine*, Rimactan*
- La streptomycine
- Le Tb₁ ou thiocétazone ou thiosémicarbazone
- L'Ethambutol : Myambutol*
- Le Pyrazinamide : Piraldine*

III. RAPPEL SUR LES BACILLES TUBERCULEUX

1. Définition

Les bacilles tuberculeux sont des micro-organismes qui se présentent sous forme de bâtonnets droits ou légèrement incurvés, asporulés, sans conidies, aciliés. Excepté Mycobacterium fortuitum, qui porte souvent quelques branchements, les mycobactéries ne présentent pas de ramifications. Les bacilles tuberculeux sont immobiles, difficilement colorables par la méthode de Gram (bien qu'ils soient Gram positifs). Ils sont acido-alcoolo-résistants.

2. Mode de transmission

La tuberculose est une maladie contagieuse dont la transmission se fait essentiellement par voie respiratoire à partir de malades porteurs de lésions pulmonaires bacillifères. La transmission a généralement lieu à la suite de l'inhalation par des sujets sains de fines gouttelettes de mucus contenant des bacilles (PFLUGGE). Ces gouttelettes sont rejetées par le malade à l'occasion de toux, d'éternuements et de parole. Elles se dessèchent immédiatement. Les bacilles qui forment les noyaux de ces gouttelettes, les "droplet nuclei" de Wells, restent en suspension dans l'atmosphère et peuvent être inhalés par d'autres sujets.

La voie orale joue un rôle mineur dans la transmission et concerne surtout Mycobacterium bovis. Dans ce cas les aliments souillés principalement le lait et la viande d'animaux tuberculeux constituent la source de contamination.

Le contagé peut se faire soit à l'occasion d'un contact épisodique avec le sujet aux lésions très riches en bacilles, soit lors des contacts répétés avec un sujet moins infecté.

La contamination s'effectue soit dans le milieu familial, soit en dehors et certains groupes socio-professionnels (Personnel socio-sanitaire, étudiants en médecine ou en pharmacie, etc...) sont particulièrement exposés.

3 Transport et conservation des produits :

En général dans les pays en voie de développement, à cause du manque de personnel qualifié pour le diagnostic bactériologique de la tuberculose, les prélèvements effectués dans les centres de santé ruraux, ne peuvent être cultivés sur place et doivent être adressés dans les centres urbains dotés de laboratoires pour la culture et les tests de sensibilité des mycobactéries. Il est nécessaire de trouver un antibiotique capable d'inhiber la pullulation des germes saprophytes tout en ayant une faible action toxique sur le bacille de Koch.

Les moyens dont on dispose actuellement pour s'opposer à la pullulation des germes saprophytes donc à la diminution de la vitalité du BK sont par ordre d'intérêt décroissant :

- * La réduction maximale du temps de transport
- * L'action du froid : les produits pathologiques étant placés dans des récipients isothermes contenant la glace.
- * L'adjonction de produits chimiques : le phosphate trisodique ou le bromure de Cétyle-pyridinium; ces deux produits détruisent lentement les germes saprophytes en respectant le bacille tuberculeux. On pourra alors cultiver le crachat après centrifugation sans décontamination, ceci après plusieurs jours de contact dans les produits chimiques.

L'utilisation d'antibiotiques comme la pénicilline, ou la tetracycline n'est pas intéressante car à dose élevée, ils réduisent considérablement la vitalité du BK sans empêcher la multiplication des germes saprophytes qui sont en général résistants aux drogues utilisées. Le problème posé par le transport n'est pas encore complètement résolu. On considère le froid comme le meilleur agent de conservation.

A la température ambiante il se produit une pullulation de la flore associée, entraînant en quelques jours la liquéfaction du produit pathologique (crachat, pus etc...). La pullulation de la flore associée a une influence très défavorable sur la culture du bacille tuberculeux, entraînant des variations du pH et souvent la libération d'enzymes bactériens. A cet effet néfaste, s'ajoute celui que va exercer la décontamination puissante qu'il faudra effectuer avant la mise en culture.

Pour ces multiples raisons, tout produit qui ne peut être examiné dès émission doit être gardé au froid à +4°C, notamment dans un réfrigérateur. Cela permet une conservation relativement satisfaisante pendant plusieurs semaines.

Donc la conservation est une opération bactériologique très décisive dans le diagnostic des infections à mycobactéries.

4. Nomenclature et classification

4.1. Nomenclature : (43)

Les mycobactéries appartiennent à la famille des Mycobacteriaceae, à l'ordre des actinomycétales, et à la classe des Schizomycètes. Cette famille renferme un seul genre : le genre Mycobacterium comportant de nombreuses espèces. L'espèce type est Mycobacterium tuberculosis (LEHMAN et NEUMAN. Holotype M.tuberculosis souche H37RV déposé à L'AMERICAN type culture collection No ATCC 27294)

4.2. Classification

Les mycobactéries constituent un ensemble très complexe et varié. On peut les classer en 2 grands groupes :

4.2.1. Les Mycobactéries non cultivables sur milieux artificiels

- Mycobacterium leprae : ou bacille de Hansen, agent de la lèpre humaine.
- Mycobacterium leprae murium : ou bacille de Stefansky, responsable de la lèpre du rat.

4.2.2. Les Mycobactéries cultivables sur milieux artificiels

Ce groupe est composé de mycobactéries tuberculeuses toujours pathogènes pour l'homme et de mycobactéries atypiques ou opportunistes, occasionnellement pathogènes.

4.2.2.1. Les mycobactéries tuberculeuses

Les bacilles tuberculeux sont relativement résistants aux agressions chimiques et physiques et se différencient des autres germes par leurs exigences métaboliques. Ce sont des germes à croissance lente. Elles sont au nombre de trois.

- Mycobacterium tuberculosis : ou bacille tuberculeux humain ou bacille de Koch (BK). Souche type: H₃₇RV, ATCC27294. C'est le type classique du bacille tuberculeux découvert pour la première fois par Robert Koch en 1882. Responsable de la tuberculose pulmonaire dans 90% des cas.
- Mycobacterium bovis : ou bacille bovin, il est responsable des formes pulmonaires et extra-pulmonaires de la tuberculose chez les bovidés et surtout de la tuberculose digestive chez l'homme. Décrit par KARLSON et LESSEL en 1870.
- Mycobacterium africanum : Variété intermédiaire entre M.tuberculosis et M.bovis, décrit par SARAT en 1968 et étudié la même année par Castets et Coll (15). Elle est responsable de la tuberculose pulmonaire et extra-pulmonaire dans certaines régions d'Afrique au Sud du Sahara. Elle représentait en 1974 74% des souches de mycobactéries isolées chez l'homme à Yaoundé, 25 à 45% au Sénégal, 80% à Accra, 66% à Kigali, 82% à Butare et 33% au Mali. (30).

A ces trois espèces s'ajoute :

- Le B.C.G (Bacille de Calmette et Guérin). C'est une souche avirulente d'origine bovine (Souche atténuée de Mycobacterium bovis) entretenue d'abord à ALFORT par Vallée sur pomme de terre glycinée sans passage sur le cobaye puis confiée à Calmette et Guérin à Lille en 1901. Après 230 repiquages sur pomme de terre billée de 1908 à 1920, cette souche est devenue complètement avirulente. Cette découverte fut une étape décisive dans la prophylaxie de la tuberculose.

4.2.2.2.1. Les Mycobactéries atypiques responsables d'affections profondes et ganglionnaires :

- Mycobactéries photochromogènes : Elles ont une croissance lente à 37°C et donnent des colonies dont la pigmentation n'apparaît qu'à la lumière.
Exemple : Mycobacterium kansasii (affections pulmonaires et parfois ganglionnaires).
- Mycobactéries Scotophotochromogènes : croissance lente à 37°C, colonies pigmentées à la lumière et à l'obscurité.
Exemples :
 - Mycobacterium scrofulaceum (adenites de l'enfant).
 - Mycobacterium aquae : (contaminant de laboratoire) : pratiquement jamais pathogène, mais quelques cas d'atteintes pulmonaires ont été signalées.
- Mycobactéries non chromogènes : croissance lente à 37°C non pigmentées à la lumière et à l'obscurité.
Exemples :
 - Mycobacterium avium (tuberculose aviaire)
 - Mycobacterium batteyi ou intracellularis (affections pulmonaires ou ganglionnaires et parfois osseuses)

4.2.2.2.2. Les Mycobactéries atypiques responsables d'affections cutanées

- Mycobacterium marinum : il est photochromogène, à croissance rapide à 37°C, saprophyte des eaux, responsable dans les pays tempérés d'ulcérations cutanées superficielles contractées à la suite de baignades dans les piscines souillées.
- Mycobacterium ulcerans : Scotophotochromogènes, croissance lente à 37°C, responsable d'ulcérations cutanées profondes à tendance phagédénique dans les pays tropicaux.

TABLEAU I : CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES (12)

MYCOBACTERIES NON CULTIVABLES	MYCOBACTERIES CULTIVABLES			
- <u>Mycobacterium leprae</u>	MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES	MYCOBACTERIES ATYPIQUES OU OPPORTUNISTES		
	- <u>Mycobacterium leprae murium</u>	<u>Mycobacterium tuberculosis</u>	Pouvant être responsables d'affections viscérales ou ganglionnaires	Pouvant être responsables d'affections cutanées
<u>Mycobacterium bovis</u>		-M. Kansasii -M. scrofulaceum -M. xenopei -M. avium -M. batteyi ou intracellularis -M. fortuitum ou minetti	-M. marinum ou balnei -M. ulcerans -M. chelonai	-M. aquae -M. terrae ou radish
<u>Mycobacterium africanum</u>				
B.C.G				

5. CARACTERES DIFFERENTIELS DES MYCOBACTERIES (13)

TABLEAU II : Principaux caractères de discrimination entre les mycobactéries atypiques, les bacilles tuberculeux et le B.C.G

MYCOBACTERIES	COLONIES	CATALASE		NITRATE REDUCTASE	NIACINE	RESISTANCE		
		22°C	70°C			TCH	PAS	C S
M. atypiques		+++	+	+ +/- ou -	-	+	+	+ ou -
M. tuberculosis	eugoniques rugueuses	+	-	+	+	+	-	-
M. africanum	dysgoniques rugueuses	+	-	+/-	+/-	-	-	-
M. bovis	dysgoniques lisses	+	-	-	-	-	-	-
B.C.G	eugoniques rugueuses	+	-	-	-	-	-	+

Légende :

TCH = Hydrazide de l'acide tiophène-2-carboxylique

PAS = Acide Para-amino-salicylique

CS = Cycloserine.

Le tableau II nous montre aisément les caractères différentiels des bacilles tuberculeux.

- Mycobacterium tuberculosis : donne des colonies rugueuses sèches teinte crème-beige eugoniques sur le milieu de Löwenstein-Jensen ou sa croissance est lente. Il produit de forte quantité de niacine, a une catalase thermosensible, une nitrate réductase. Il est résistant au TCH, sensible au PAS, à la CS.

Par ailleurs, il possède une peroxydase et est sensible au Pyrazinamide.

- Mycobacterium bovis : croissance lente sur Löwenstein-Jensen, il donne des colonies lisses, blanches dysgoniques. Il est niacine (-); catalase + à 22°C; nitrate (-). Il est sensible au TCH, à la CS et au PAS.

Par ailleurs il est résistant au Pyrazinamide.

- Mycobacterium africanum : croissance très lente sur Löwenstein-Jensen mais stimulée par l'addition de pyruvate de sodium au milieu. Il donne des colonies plates dysgoniques de teinte mâte. On distingue trois types de M.africanum : type Dakar, type Yaoundé, type Rwanda avec Rwanda I et Rwanda II. Les caractères différentiels entre les 3 types de Mycobacterium africanum et Mycobacterium bovis sont resumés dans le tableau III.

TABLEAU III : Caractères différentiels entre les trois types Mycobacterium africanum et Mycobacterium bovis

Espèces	Niacine	Nitrate Virtanen	Crois- sance sur T C H	Culture sur LEBECK en Profondeur	PZA ase	Stimulat. Pyruvate	Glucosidase
M. bovis	o	o	o	+	o	+	o
M a f r i c a n u m	Type Dakar	o à +	o	+	o	+	o
	Type Yaoundé	o	o	+	o	+	o
	Rwanda I	o	o	+	o	+	o
	Rwanda II	o	+	+	+	o	o

IV LES DIFFERENTS MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX :

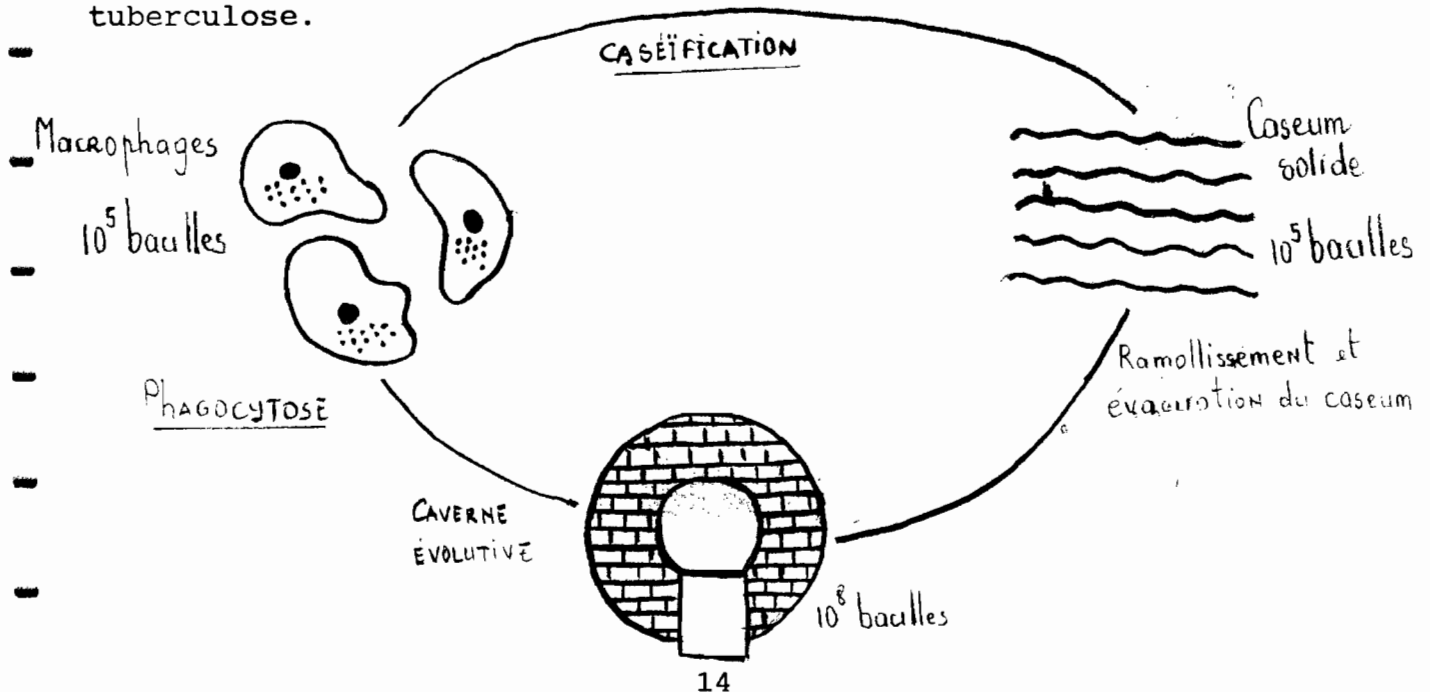
1. Bases bactériologiques des traitements de la tuberculose

1.1 Les différentes populations bacillaires des lésions tuberculeuses :

Au sein des lésions tuberculeuses, on peut individualiser trois populations bacillaires distinctes :

- La première est la population des bacilles qui se multiplient à pH neutre, dans les parois des lésions caséuses ramolies et évacuées des cavernes. Cette population atteint couramment 100 millions (10^8) de bacilles.
- La deuxième est la population des bacilles phagocytés par les macrophages. Étant dans un environnement acide et subissant l'effet de nombreuses enzymes, ces bacilles ont une multiplication ralentie. Leur nombre n'excède certainement pas $10^4 - 10^5$ bacilles.
- La troisième est constituée par des bacilles extra cellulaires présents dans les foyers caséux solides. Bien qu'à pH neutre ces bacilles ont une multiplication fortement ralentie, voire intermittente en raison notamment des mauvaises conditions d'oxygénation. Leur taux dépasse rarement 10^4 à 10^5 bacilles.

Schéma I : Populations bacillaires dans les lésions de tuberculose.



1.2 Efficacité des principaux antibiotiques antituberculeux

L'efficacité est liée à trois facteurs essentiels :

- L'intensité de l'activité antibactérienne : qui est appréciée par le coefficient de dépassement moyen (C.D.M) qui est le rapport : $C1/C2 > 1$ avec C1 : concentration serique moyenne et C2 : concentration minimale inhibitrice. Si le CDM est élevé le bacille sera soumis à un effet antibactérien puissant (bactéricide) et lorsqu'il est bas à un effet faible (bactériostase). La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la concentration minimale nécessaire pour inhiber la croissance d'une souche normale de bacille tuberculeux.
- Le facteur de pénétration de l'antibiotique jusqu'au siège des bacilles :
Il conditionne l'activité de l'antibiotique respectivement sur les bacilles extra-cellulaires (dans le caseum) et sur les bacilles intra-cellulaires (dans les macrophages).
- Les proportions de mutants résistants aux antibiotiques existants dans les souches normales de bacilles tuberculeux avant le debut du traitement. L'efficacité d'un antibiotique est inversement proportionnelle à la fréquence des mutants.

In vitro, on peut étudier le comportement des bacilles tuberculeux par rapport à des concentrations d'antibiotiques identiques à celles réalisées in vivo, permettant ainsi d'apprécier l'activité des différents antibiotiques (46).

Au cours de la tuberculose humaine, malheureusement, les bacilles ne se comportent pas tous comme dans un tube de culture.

La streptomycine, l'INH, la rifampicine sont les antibiotiques les plus efficaces sur les bacilles à multiplication active dans les parois cavitaires, dont on peut confondre le comportement in vitro et in vivo. Le pyrazinamide, l'INH et la rifampicine sont les plus efficaces sur les bacilles qui sont dans un environnement acide à l'intérieur des macrophages, tandis que seul la rifampicine est efficace sur les bacilles à multiplication ralentie au sein des foyers caséux. C'est pourquoi la rifampicine est considérée comme l'antibiotique antituberculeux le plus actif.

D'autre part l'ethambutol, le PAS (acide para-aminosalicylique) sont bactériostatiques car ont pour effet d'arreter la multiplication des bacilles.

TABLEAU IV. Activités des principaux antibiotiques antituberculeux selon l'état métabolique des bacilles (52)

Antibiotiques	Activité sur les bacilles		
	à Multiplication active	à PH acide	à PH neutre
Streptomycine (SM)	+++	o	o
Isoniazide (INH)	++	+	o
Rifampicine	++	+	o ±?
Ethambutol	±	±	o
Pyrazinamide	o	++	o

Légendes : +, ++, +++ : activité bactéricide d'intensité croissante
 ± : activité bacteriostatique
 o : activité nulle.

2. Conduite du traitement antibiotique (46) :

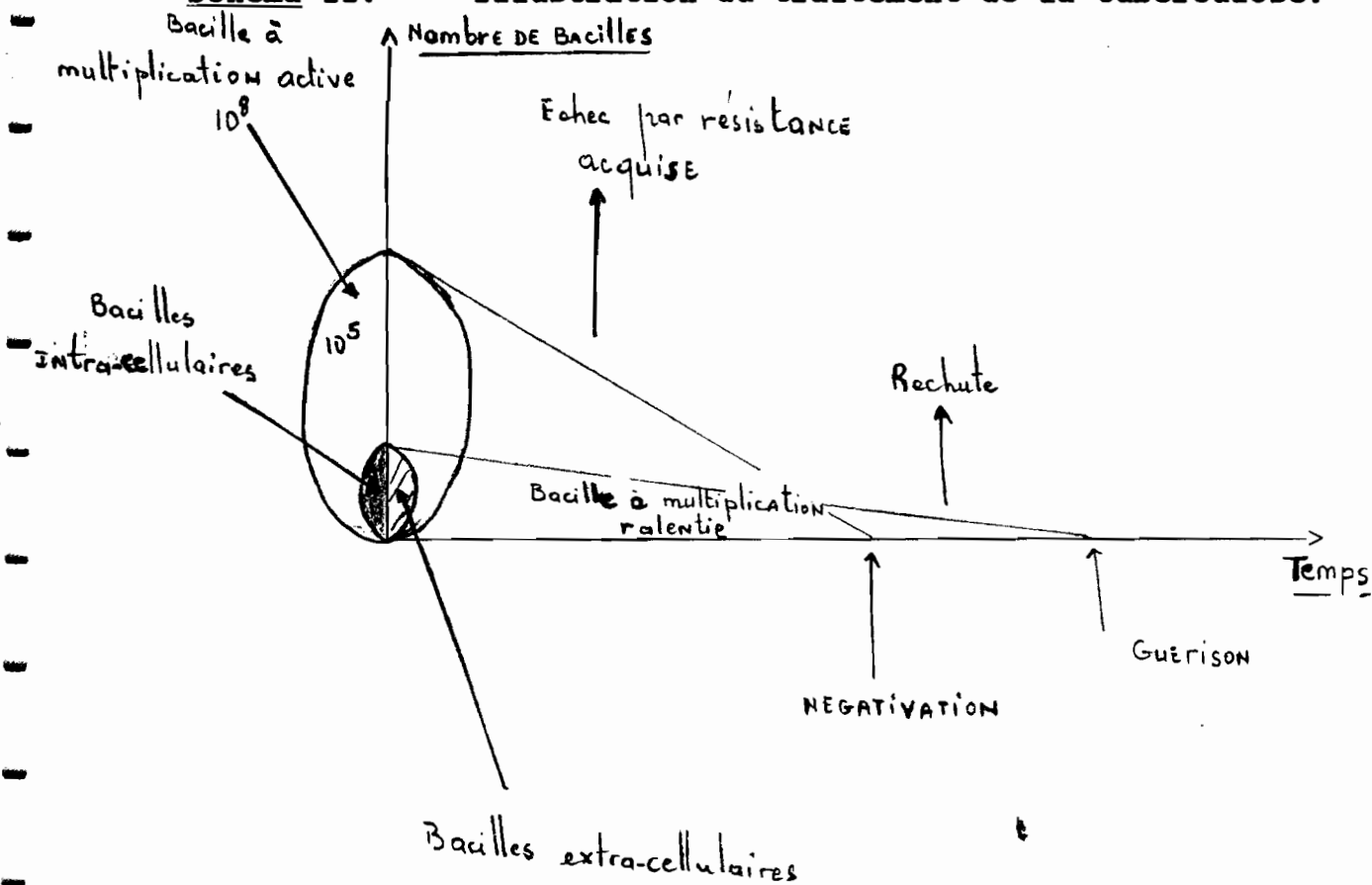
Le traitement anti-tuberculeux doit assurer la destruction la plus rapide et la plus totale possible de tous les bacilles présents dans les lésions.

Les premiers à détruire sont ceux qui se multiplient activement à pH neutre dans les parois des lésions caséuses. Cette population contient d'emblée des mutants résistants aux antibiotiques dont la sélection conduirait à l'échec thérapeutique par résistance acquise. Donc il est nécessaire d'administrer simultanément plusieurs antibiotiques (les plus bactéricides) enfin d'éviter la résistance acquise.

En raison de la richesse de la population des bacilles qui se multiplient activement, mais aussi de sa situation dans la couche caséuse superficielle de la paroi cavitaire, cette population bacillaire est responsable de la présence des bacilles dans les expectorations des malades et par conséquent de la contagiosité des tuberculeux. C'est pourquoi il est nécessaire de chercher à négativer le plutôt possible l'expectoration des malades. Pour cela l'antibiothérapie doit rester bactéricide et rigoureusement associée pendant plusieurs semaines, en pratique jusqu'à la négativation de l'expectoration.

Par contre les bacilles à multiplication ralentie ne posent pas les mêmes problèmes thérapeutiques. Etant en nombre limité, ils ne contiennent pas de mutants résistants, donc aucun risque de résistance acquise aux antibiotiques. Comme ils se multiplient au ralenti ou d'une manière intermittente, la majorité des antibiotiques ont sur eux une activité bien moins puissante que sur les bacilles à multiplication active. Ils peuvent donc persister au sein des lésions et être à l'origine des rechutes (à bacilles sensibles). Pour éviter les rechutes, il faut administrer soit un traitement particulièrement prolongé, soit un traitement particulièrement actif sur les bacilles à multiplication ralentie.

Schéma II. Illustration du traitement de la tuberculose.



3. La résistance du bacille tuberculeux et ses conséquences (52)

Le bacille tuberculeux, comme les autres bactéries, est capable d'acquérir une résistance aux différentes drogues antibacillaires. Ces phénomènes sont fondamentaux pour la conduite du traitement.

3.1 La résistance du bacille tuberculeux : Ce problème de résistance préoccupe à la fois cliniciens et bactériologistes car elle demeure une des causes majeures de l'échec du traitement antituberculeux. Cette résistance est actuellement considérée comme de nature chromosomique. Aucune résistance plasmique n'a jusqu'ici été démontrée ou suspectée. Mais cette résistance se différencie des résistances chromosomiques des autres bactéries par le taux élevé des mutants résistants présents dans les populations bacillaires normales qui, joint au grand nombre des bacilles présents dans certaines lésions, explique la fréquence d'apparition de ces résistances en cours de traitement (résistance secondaire). Ainsi la proportion des mutants résistants dans une population bacillaire normale est d'environ :

1 p 10^5 bacilles pour l'INH
1 p 10^5 bacilles pour la Streptomycine (SM)
1 p 10^6 bacilles pour l'Ethambutol
1 p 10^3 bacilles pour l'Ethionamide

mais seulement de 1 p 10^8 bacilles pour la Rifampicine

Le nombre de bacilles présents dans les lésions, donc de mutants résistants dépend du type anatomique de celles-ci :

- les cavernes évolutives sont très riches en bacilles. Une caverne de 2 mm de diamètre peut en contenir 10^7 à 10^9 .
- un foyer caséux ouvert dans les bronches, moins bien oxygéné contient environ 10^4 à 10^6 .
- les nodules et autres foyers caséux fermés sont au contraire pauvres en bacille 0 à 10^3 .

Une caverne de 2 mm de diamètre due à une souche normale peut contenir d'emblée :

10^2 à 10^4 bacilles résistants à l'INH
 10^2 à 10^4 bacilles résistants à la SM
 10^4 à 10^6 bacilles résistants à l'Ethionamide
10 à 10^3 bacilles résistants à l'EMB
0 à 10 bacilles résistants à la Rifampicine.

D'où l'explication du grand risque de sélection de mutants résistants en cas de traitement insuffisant ou mal adapté. Cette mutation - sélection est le seul mécanisme actuellement connu d'apparition de souches résistantes en clinique.

3.2. Prévention de la Résistance :

Pour éviter l'émergence des souches résistantes, certaines règles sont à respecter scrupuleusement dans la prescription des antibiotiques antituberculeux :

- éviter une monothérapie : en effet, compte tenu de ce qui précède, une monothérapie sera suivie inéluctablement de la sélection d'une souche résistante dans une lésion riche en bacilles. Par contre la prescription de 2 antibiotiques réduit considérablement cette possibilité à condition que la souche soit normale.
Exemple : la proportion de mutants résistants à l'INH et à la SM dans une souche normale est pour chaque antibiotique 10^5 . La proportion de mutants résistants à ces deux antibiotiques est donc 10^{10} , en raison de l'indépendance des mutations; dans une caverne contenant 10^7 à 10^9 bacilles, il est donc peu probable qu'il existe un mutant double. Mais ce mode de prévention n'est efficace que si la souche est normale; si au contraire elle comporte un nombre plus élevé de mutants, la prescription de deux antibiotiques peut être insuffisante, d'où la nécessité de :
- Pratiquer les tests de sensibilité in vitro et dans leur attente prescrire de préférence 3 antibiotiques.

D'où 2 règles fondamentales

- . Nécessité de l'antibiogramme
- . Nécessité de prescrire une association médicamenteuse comportant au moins 2 antibiotiques majeurs et plutôt 3 au début du traitement.

4. Les différentes drogues antituberculeuses : (42)

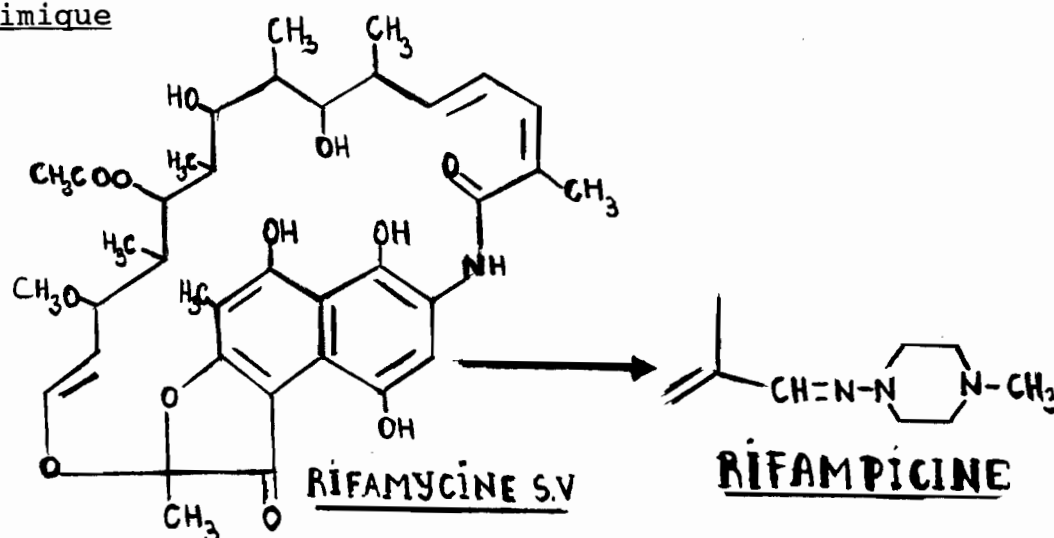
En 1975 l'union Internationale de lutte contre la tuberculose (U.I.C.T), dénombreait 12 médicaments utilisés dans le monde contre la tuberculose (17). Il s'agit de : l'EMB, l'INH, la Rifampicine, la SM, la Kanamycine, le P.A.S, la viomycine, la cycloserine, le pyrazinamide, la capréomycine, le thiosemicarbazone et l'ethionamide.

En 1982 à la conférence de Buenos Aires la commission de traitement de l'Union Internationale contre la tuberculose considerait six médicaments comme "Essentiels" dans la tuberculose: Il s'agit de : l'INH, la Rifampicine, l'Ethambutol, la Thioacétazone, la Streptomycine et le Pyrazinamide.

4 - 1 - La Rifampicine

La Rifampicine est dérivée de la rifamycine SV qui provient de la réduction de la Rifamycine S, issue de la transformation en solution aqueuse aérée de la Rifamycine B, substance produite par Streptomyces mediterranei

Structure chimique



Activité: La Rifampicine est la plus active des antituberculeux. Elle a un pouvoir bactericide sur les 3 populations bacillaires dans les lésions tuberculeuses. La proportion de mutants résistants est très faible 10^{-8} . Sa C.M.I suivant divers milieux de culture figure sur le tableau V.

Pharmacocinétique:

- diffusion tissulaire et intracellulaire bonne;
- taux sérique après 600mg per os 10 -20 mcg/ml;
- Demi-vie variant de 1h 30 à 5h.
- liaison protéique : 75 - 85%
- coefficient de dépassement moyen (CDm = 74)

$$CDm = \frac{\text{taux sérique moyen}}{C M I} \quad \text{avec CMI : Concentration Minimale Inhibitrice}$$

CMI : de l'Ordre de 0,1 mg/l

- élimination hépatique.
- traverse mal la barrière hémoméningée.

Posologie, voie d'administration, spécialités:

- Posologie: 600 mg/jour chez l'adulte et 12 à 15 mg/kg/j chez l'enfant à jeun en une prise quotidienne.
- Voie d'administration: Voie orale ou intraveineuse (en perfusion de 1h 30mn) à la dose quotidienne de 600mg chez l'adulte et 10 à 20 mg/kg chez l'enfant.
- Spécialités: Rifadine*, Rimactan*, Rifoldin*.

Toxicité

- Inhibe par compétition l'entrée dans l'hépatocyte de divers anions organiques choléphilés dont la bilirubine et surtout le bromosulfonephtaléine (BSP), d'où l'arrêt de l'antibiotique un ou deux jours avant l'épreuve.
- Ictère en association avec l'INH par induction enzymatique. En effet l'induction enzymatique entraîne une formation de métabolites instables de l'INH toxiques causes de l'ictère. D'où l'arrêt de l'INH et non la Rifampicine en cas d'ictère.
- insuffisance rénale aiguë, purpura thrombopénique, anémie hémolytique d'origine immuno-allergique.
- interaction avec les hormones.

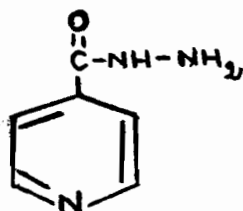
Tableau V: Concentration minimale Inhibitrice des médicaments antituberculeux selon les différents milieux

Médicaments	Concentration Minimale Inhibitrice mg/l		
	Milieu de Youmans 10 ⁻² mg		Milieu de L.Jensen 10 ⁻⁴ mg
	8 ^e jour	18 ^e jour	28 ^e jour
INH	0,04	0,075	0,05
Rifampicine	0,15	0,30	20
Streptomycine	0,5	1	2
Kanamycine	0,5	1-2	20
Ethambutol	1	2,5	2
Ethionamide	0,5	2,5	20
Cycloserine	10	15	30
Viomycine	3	10	20
Capréomycine	1	2	20
Pyrazinamide	5	10	10
P.A.S	0,1	0,5-1	0,1
Thiosemicarbazone	0,4	0,6	2

4.2 L'Isoniazide ou INH

C'est l'hydrazide de l'acide isonicotinique (INH) décrit en 1912 par Nally et Meyer. C'est une substance chimique obtenue synthétiquement, qui se présente sous forme de cristaux presque incolores et très solubles dans l'eau, ses propriétés antituberculeuses sont connues depuis 1952.

Structure :



Activité : Pouvoir bactéricide sur les bacilles tuberculeux. Il a une action spécifique : actif sur les formes à multiplication active et sur les formes intracellulaires. Mais pas d'action sur les formes cavitaires à multiplication lente. La proportion de mutants résistants est de 10^{-5} .

Les résultats des différents travaux, effectués sur l'activité de l'INH in vivo, concordent avec les résultats des travaux sur son activité in vitro. Ils prouvent en plus que son association avec la Rifampicine est plus efficace que son association avec les autres médicaments antituberculeux.

Pharmacocinétique

- . excellente diffusion tissulaire et dans les macrophages;
- . traverse les méninges.
- . Taux sérique après 200 mg per os = 1,6 $\mu\text{g/ml}$ à la 3^e heure et 0,7 à la 6^e heure;
- . CDM = 25 à 75.
- . Fixation protéique : 20 à 30 %.

L'isoniazide est métabolisé au niveau des hépatocytes qui le transforment en acetyl-isoniazide inactif mais très toxique pour le foie. Cette dégradation se fait plus ou moins rapidement chez les sujets. Ce qui retentit sur le taux sérique. On définit ainsi l'indice d'inactivation $I_3 = \frac{C_3 + 0,6}{D}$ ou $C_3 =$ concentration sérique

en INH actif exprimée en $\mu\text{g/ml}$ et mesurée 3 h précises après la prise buccale du médicament;

D = dose d'INH buccale exprimée en mg/kg.

On distingue ainsi : $I_3 < 0,40$ inactivateur rapide

$I_3 > 0,65$ inactivateur lent

$0,40 < I_3 < 0,65$: inactivateur indéterminé

L'élimination est surtout urinaire sous 3 formes : l'isoniazide libre, dérivés acétylés, et hydrazones.

Posologie voies d'administration et spécialités

L'INH (Hexoniazide*, Rimifon*, Isobenzacyl*) s'administre habituellement par voie orale à la dose quotidienne de 5 mg/kg chez l'adulte, 10 mg/kg chez l'enfant et le nourrisson.

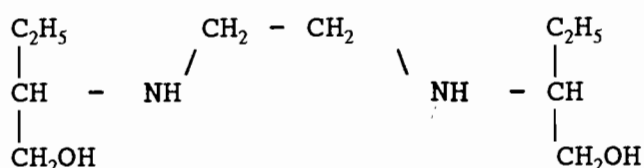
Toxicité : l'INH est le moins toxique des antituberculeux. Cependant divers types d'accidents ont été signalés :

- polynévrites par hypovitaminose B6
- algo-dystrophie des épaules
- accidents neuro-psychiques très rares
- gastrite, atteinte hépatique.

4.3. L'Ethambutol

L'ethambutol est l'isomère dextrogyre du 2,2 (éthylène diamino) di 1-butanol. Il appartient au groupe des éthylènes diamines. C'est une poudre blanche, soluble dans l'eau.

Structure



Activité : Il est bactériostatique et inhibe les bacilles tuberculeux à la concentration de 1 à 2 $\mu\text{g/ml}$. La concentration minimale inhibitrice de l'Ethambutol suivant les différents milieux de culture a été illustrée dans le tableau V (page 22). Le taux de mutation est relativement faible 10^{-6} . Actif sur les formes à multiplication active et intracellulaire.

Les résultats des travaux effectués sur l'activité in vivo de l'éthambutol concordent avec ceux des travaux in vitro.

Pharmacocinétique :

- Bonne diffusion tissulaire, le pic sérique atteint 4 à 5 $\mu\text{g/ml}$.
- $\text{CDm} = 4,7$.
- La Demi-vie est de 6 à 8 h chez le sujet normal.
- La fixation protéique est négligeable.
- Elimination totale réno-urinaire.

Posologie, voies d'administration et spécialités :

L'Ethambutol (Dexambutol, Myambutol) est habituellement utilisé par voie orale à raison de 25 mg/kg pendant les deux premiers mois de traitement, puis 15 mg/kg. On peut ainsi l'employer par voie intramusculaire ou intraveineuse à la même posologie. En cas d'insuffisance rénale majeure, on administre cette dose toutes les 48 heures.

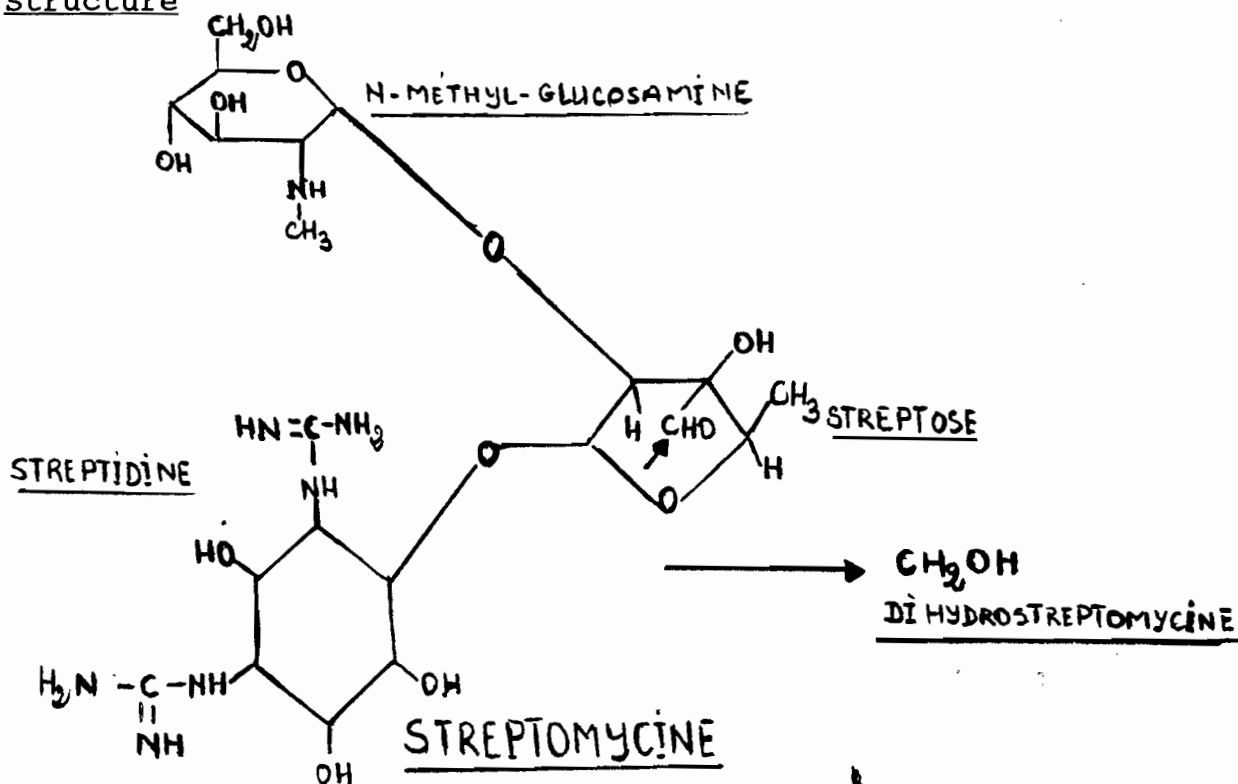
Toxicité : Atteinte du nerf optique (névrite optique rétrobulbaire) en cas de surdosage ou chez l'insuffisant rénal.

4 - 4 - La Streptomycine

C'est le premier antibiotique du groupe des oligosaccharides ou aminosides ou amino-glucosides. C'est en outre le premier des antituberculeux. Elle a été isolée en 1944 par Waksman et coll. des milieux de culture de Streptomyces griseus.

Activité: Elle a un pouvoir bactéricide sur les formes à multiplication active. Mais elle est inactive sur les formes à multiplication lente et sur les formes intracellulaires. Son activité sur le bacille tuberculeux est dix fois plus faible que celle de l'isoniazide. Son taux de mutation atteint 10^{-5}

Structure



Pharmacocinétique: La streptomycine n'est pas absorbée par voie digestive. Elle n'est donc utilisée dans le traitement de la tuberculose que sous forme injectable.

Après injection de 0,50g par voie intramusculaire, le taux sérique atteint 20µg/ml.

CD m = 38.

Le passage intrarachidien est très faible.

La liaison protéique est de 20 à 30%

L'élimination est urinaire, (filtration glomérulaire) sous forme active.

Posologie, voie d'administration, spécialités:

La posologie est de 1g/jour chez l'adulte et 25 à 50mg/kg chez l'enfant.

Toxicité

Accidents allergiques, accidents toxiques vrais (atteinte labyrinthique et auditive due à l'atteinte de la 8^e paire de nerfs crâniens, convulsions)

4 - 5. Le PYRAZINAMIDE

Utilisé sous forme de pyrazinamide pur (Piraldine*) à la dose de 2g/jour ou sous forme de N- morpholino méthyl-pyrazinamide ou morphozinamide (piazoline*) à la dose de 3g/jour. Il est toujours utilisé en association avec un antituberculeux majeur. Il est hépatotoxique et présente une interférence avec le métabolisme de l'acide urique.

4 - 6 - Les thiosemicarbazones:

Le composé le plus actif est le thioacétazone ou Tbl. Il correspond au thiosemicarbazone de l'aldéhyde para-acétyl-amino-benzoïque. Son activité sur le bacille tuberculeux est voisine de celle de l'acide para-amino-salicylique.

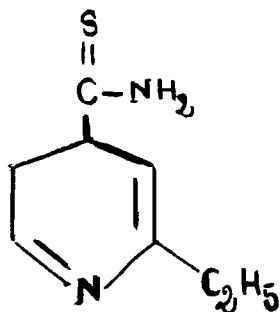
Il peut provoquer des réactions allergiques cutanées à type de rash ou plus graves (syndrome de Lyell). Des troubles digestifs ont été décrits.

La posologie est 50 mg à 150 mg par jour chez l'adulte et 5 à 15mg chez l'enfant.

La voie d'administration est la voie buccale.

4 - 7. L'éthionamide: L'éthionamide est un dérivé de l'acide isonicotinique, il s'agit de l'alpha-éthylthio-isonicotinamide.

Structure:



Activité: L'activité sur le bacille tuberculeux est supérieure à celle de la streptomycine et inférieure à celle de l'isoniazide: CMI = 1-2 μ g/ml. Cependant les souches résistantes à l'INH sont sensibles à l'éthionamide.
Le taux de mutation est 10⁻³

Pharmacocinétique: Les concentrations sanguines après absorption de 500mg atteignent 2,6 μ g/ml à la 3^e heure et 3,5 μ g/ml à la 6^e heure. L'éthionamide diffuse bien notamment dans le caseum.

Posologie, voies d'administration spécialités

L'éthionamide (Trécator*) est prescrit habituellement par voie orale à la dose quotidienne de 500 à 750mg chez l'adulte et 15 à 25mg/kg chez l'enfant.

L'utilisation est possible en perfusion intraveineuse dans du soluté bicarbonaté, la voie rectale est à éviter.

Toxicité : Troubles digestifs, rares ictères, lésions cutanées, très rares troubles dépressifs et gynécomastie.

4 - 8. Le Prothionamide

Homologue de l'Ethionamide dont l'activité antituberculeuse est similaire, il possède une résistance croisée totale avec elle. La posologie du Prothionamide (Trévintix*) est 500mg/jour chez l'adulte et 20mg/Kg chez l'enfant par voie orale.

4 - 9. L'Acide para- amino-salicylique (P.A.S)

Le P.A.S a beaucoup perdu de son importance avec la multiplication des drogues antibacillaires. Son action sur le bacille tuberculeux est minime et le produit est surtout utilisé pour retarder les résistances et s'opposer à l'acétylation hépatique de l'INH.

La posologie quotidienne est de 15g en perfusion veineuse et de 10 à 30 g per os chez l'adulte, et de 1,5 à 2g per os chez l'enfant. Il existe de nombreuses préparations qui associent INH et P.A.S (Paraniazide*, Pasiniazide*)

Le P.A.S peut provoquer des troubles digestifs et des réactions allergiques.

4 - 10 Les fluoroquinolones (les nouvelles quinolones)

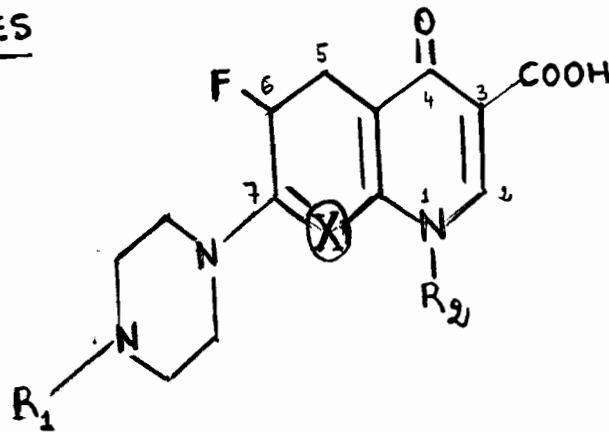
Ces quinolones de deuxième génération obtenues par addition d'un atome d'halogène, le fluor, en 6 et d'un cycle pipérazinyl en 7 sur le noyau commun d'acide quinoléine-3-carboxylique, se caractérisent par une activité antibactérienne large couvrant aussi bien les bactéries Gram+ que les bactéries Gram-.

Leur utilisation dépasse le cadre traditionnel des infections urinaires pour s'étendre aux infections vénériennes et intestinales, voire aux infections respiratoires dont la tuberculose et à la lèpre.

Comme les quinolones de première génération, les fluoroquinolones peuvent s'administrer par voie orale, ce qui est particulièrement utile lors des traitements de longue durée.

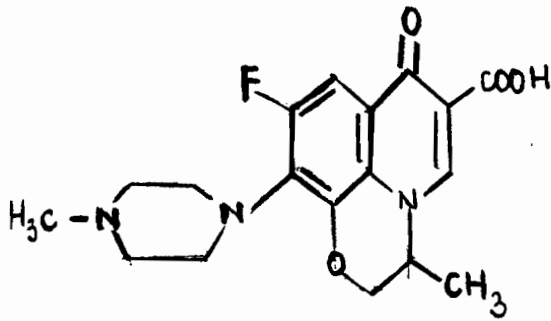
Les principales fluoroquinolones actuellement sur le marché sont : la péfloxacin, la norfloxacin, l'ofloxacin, la ciprofloxacin.

STRUCTURES

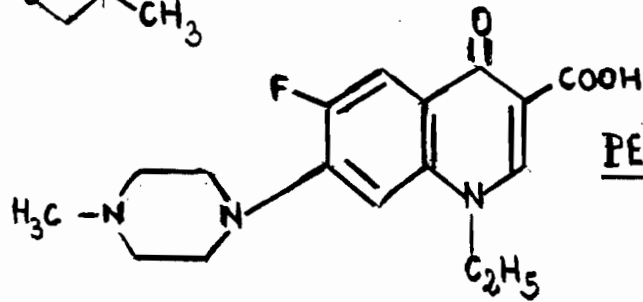


	R ₁	R ₂ = la chaîne	X
OFLOXACINE	-CH ₃	= OXAZINE	CH
PÉFLOXACINE	-CH ₃	-C ₂ H ₅ = ETHYL	CH
NORFLOXACINE	H	-C ₂ H ₅ = ETHYL	CH
CIPROFLOXACINE	H	= CYCLO	CH
AMIFLOXACINE	-CH ₃	-NHCH ₃ = Méthylamine	CH
ENOXACINE	H	-C ₂ H ₅ = ETHYL	N
FLEROXACINE	-CH ₃	-C ₂ H ₄ F = Fluoroéthyl	CH

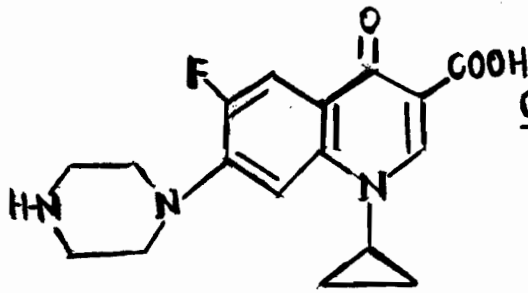
STRUCTURES :



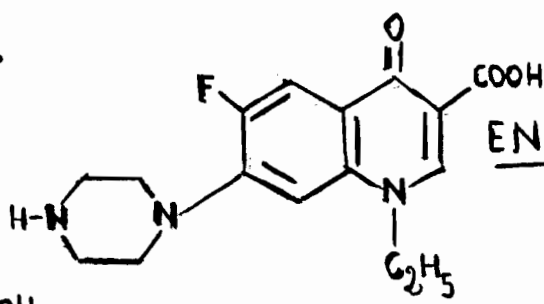
OFLOXACINE. TARIVID^{*}
OFLOCT^{*}



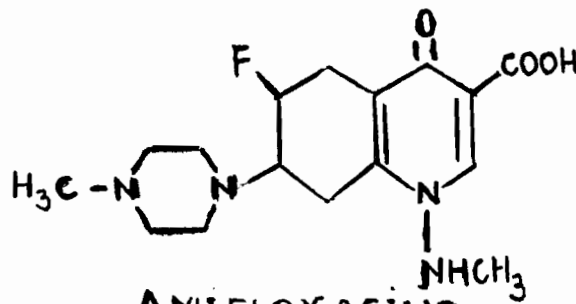
PEFLOXACINE.
PeFlacine^{*}



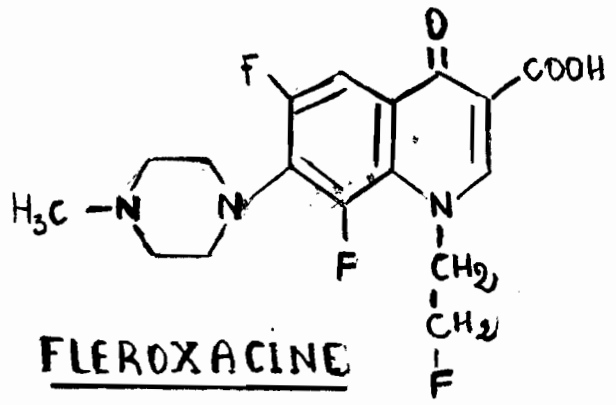
CIPROFLOXACINE. CIPROXINE^{*}
CIPROX^{*}



ENOXACINE.
Enoxacine^{*}



AMIFLOXACINE



FLEROXACINE

. Pharmacocinétique :

- . bonne diffusion tissulaire
la demi-vie dépend de la structure moléculaire et varie de 3 à 12 heures.
- . élimination essentiellement rénale.

. Activité :

L'activité antibactérienne de la péfloxacin, appréciée par la détermination des C.M.I est 10 à 20 fois supérieure à celle des quinolones de première génération.

Les études les plus récentes montrent une bonne activité in vitro sur les mycobactéries (M. tuberculosis) et (M. leprae).

Le spectre antibactérien des nouvelles quinolones, permet leur utilisation dans le traitement d'infections nosocomiales à germes multi-résistants de réanimation : staphylocoques résistants à la méthicilline, Acinetobacter et Pseudomonas aeruginosa.

. Mécanisme d'action

Les quinolones notamment les fluoroquinolones, sont rapidement bactéricides sur les souches sensibles. Elles agissent en inhibant la synthèse de l'ADN dans les cellules bactériennes, alors qu'elles sont sans effet sur l'ADN humain. Aux concentrations thérapeutiques, ni la synthèse de l'ARN, ni la synthèse des protéines ne sont touchées.

. Toxicité

Troubles digestifs mineurs : gastralgies, nausées, vomissements, rarement des diarrhées.

Allergies cutanées : prurit, rash, urticaire, voire toxidermie.

Troubles neuro-sensoriels : céphalées, troubles ophtalmologiques, hallucinations, vertiges, troubles de la vigilance.

Toxicité rénale : la ciprofloxacine peut être responsable de la cristallurie à pH alcalin.

Atteinte hématologique : neutropénie + thrombocytopénie.

5. Les Schémas thérapeutiques au Mali (Régime de traitement).

Au Mali, trois régimes sont utilisés pour le traitement de la tuberculose: (21)

- Un régime court pour le traitement des nouveaux malades à frottis positif à l'examen direct au microscope et qui dure 8 mois.
- un régime court pour le retraitement des anciens malades déjà traités pendant 12 mois (régime standard) et 8 mois (régime court) et qui restent positifs. Sa durée est de 6 mois.
- Un régime long appelé régime standard qui dure 12 mois. Il est appliqué aux nouveaux malades et est composé de médicaments à prix de revient bas, mais efficaces.

5 - 1. Le Régime court de traitement des nouveaux malades:

Ce Régime est destiné aux seuls malades tuberculeux pulmonaires nouvellement dépistés: malades positifs à l'examen direct au microscope et non encore traités. Pour ce régime sont exclus:

- Les nouveaux malades dépistés par l'examen radiologique seul, quelque soit l'aspect des lésions qu'ils présentent.
- Les cas pour lesquels subsiste un doute quant à la possibilité d'un traitement antérieur.

Ce régime utilise cinq médicaments au total

- Pendant les 2 premiers mois, 4 médicaments sont utilisés quotidiennement.
- Pendant les 6 mois suivants, deux médicaments sont administrés de façon quotidienne également.

Ce régime se résume de la façon suivante.

2 H R S Z / 6 T H

 avec:

H = Isoniazide	}	Associés en un seul comprimé sous le nom de Rifinah* ou Rimactazid* dont :
R = Rifampicine		
	}	1 comprimé contient
		150 mg de Rifampicine
		100 mg d'INH
S = Streptomycine		
Z = Pyrazinamide		
T = Thioacétazone ou Tb ₁		-qui est associé à l'isoniazide sous le nom de Diatébène* ou Thiazina* dont :
		1 comprimé contient
		300 mg d'INH
		150 mg de thioacétazone

Shémas thérapeutiques I :

Les doses usuelles varient en fonction du poids du malade.

a) Malades pesant plus de 50 kgs

Deux premiers mois tous les jours	Six mois suivants tous les jours
Rifinah : 4 comprimés Pyrazinamide : 4 comprimés : 2g Streptomycine : 1g	Diatébène : 1 comprimé

b) Malades Pesant entre 33 kgs à 50 kgs

Deux premiers mois tous les jours	Six mois suivants tous les jours
Rifinah : 3 comprimés Pyrazinamide : 3 comprimés: 1,5g Streptomycine : 1g	Diatébène : 1 comprimé

c) Malades Pesant moins de 33 kgs

Deux premiers mois tous les jours	Six mois suivants tous les jours
Rifinah : 2 comprimés Pyrazinamide : 2 comprimés : 1g Streptomycine : 1g	Diatébène : 1 comprimé

NB :

- la phase intensive de traitement avec quatre médicaments peut être prolongée si la négativation des expectorations n'est pas obtenue au bout de 2 mois sans modification de la durée de la phase d'entretien durant six mois
- les patients qui ne supporteront pas le diatébène, continueront la phase d'entretien avec le Rifinah* ou Rimactazid*.
- les patients demeurant positifs à la fin du 8e mois suivront le régime de retraitement.
- le traitement de la phase intensive de deux mois doit être entièrement supervisé .

5.2 Le régime de retraitement (six mois)

Ce régime est destiné aux seuls malades qui doivent subir un second traitement (retraitement) c'est à dire :

- les rechutes : malades guéris ayant arrêté tout traitement et qui doivent être à nouveau traités parce qu'ils sont redevenus positifs.
- les échecs du traitement standard : malades demeurant positifs après douze mois de traitement au régime standard.
- les malades demeurant positifs après un premier traitement au régime court.

Schémas thérapeutiques II

Un seul schéma thérapeutique est utilisé pour ce régime de retraitement, qui est un régime court de 6 mois.

Pendant les trois premiers mois, 4 médicaments sont administrés quotidiennement, plus la Streptomycine 3 fois par semaine.

Pendant les trois autres mois, trois médicaments sont utilisés de façon intermittente (3 fois par semaine ce régime se résume de la façon suivante :

3 H.R.E.Z.S₃/3H₃ R₃ E₃

 avec

E : Ethambutol : Myambutol*
 S : Streptomycine Z : Pyrazinamide
 H : Isoniazide ou INH R : Rifampicine

Les doses administrées varient en fonction du poids des malades :

a) Malades pesant plus de 50 kgs

3 premiers mois tous les jours	3 derniers mois 3 fois par semaine
Rifinah : 4 comprimés Pyrazinamide 2g : 4 comprimés Ethambutol 750 mg: 3 comprimés Streptomycine : 1g (3/7)	Rifinah : 4 comprimés Ethambutol : 5 comprimés = 1,25g

b) Malades pesant entre 33 kgs à 50 kgs

3 premiers mois tous les jours	3 derniers mois 3 fois par semaine
Rifinah : 3 comprimés Pyrazinamide : 3 comprimés= 1,5g Ethambutol 2 comprimés= 500mg Streptomycine : 1g (3/7)	Rifinah : 3 comprimés Ethambutol : 4 comprimés = 1g

c) Malades pesant moins de 33 kgs

3 premiers mois tous les jours	3 derniers mois 3 fois par semaine
Rifinah : 2 comprimés Pyrazinamide : 2 comprimés = 1g Ethambutol 2 comprimés = 500mg Streptomycine : 0,5g (3/7)	Rifinah : 2 comprimés Ethambutol : 3 comprimés = 750mg

NB : Sont exclus pour ce traitement :

- Les malades positifs mais n'ayant pas encore terminé les 12 mois ou les 8 mois de leur 1er traitement.
- les malades indisciplinés dans la prise de leurs médicaments ou malades chroniques. Ce traitement en aucun cas n'excédera six mois et les malades positifs à la fin du sixième mois de traitement continueront à recevoir de l'isoniazide seul à la dose de 300 mg/jour.

5.3 Le régime standard

Ce régime s'étend sur 12 mois et emploie 3 antibiotiques. Il comporte deux phases :

- * Une phase de traitement intensif utilisant 3 antibiotiques et qui dure 2 mois
- * Une phase d'entretien utilisant 2 antibiotiques et qui dure 10 mois

Schéma thérapeutique III

Phase initiale 2 mois tous les jours	Phase d'entretien 10 mois tous les jours
Diatébène : 1 comp ou INH 300mg/j Streptomycine : 1g	Diatébène : 1 comprimé

Actuellement, la tendance est de mettre tous les nouveaux dépistés sous le régime court de 8 mois.

PARTIE PRATIQUE

V. SUJETS ETUDIÉS, MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Sujets Étudiés :

Notre travail a porté sur 404 prélèvements de produits pathologiques dont 339 positifs à l'examen direct (avant et après homogénéisation) et 65 négatifs.

Parmi les 404 prélèvements tous cultivés, 282 cultures ont poussé.

Parmi les 282 malades dont la culture est positive, 132 viennent du DAT (46,81%), 121 du service de pneumo-phtisiologie de l'Hôpital National du Point G (42,90%) et 29 des autres formations sanitaires de Bamako (AFS) soit 10,29%.

TABLEAU 1 REPARTITION DES PRELEVEMENTS SELON LA PROVENANCE.

Provenance	DAT	HPG	A.F.S.	TOTAL
Nombre	132	121	29	282
Pourcentage	46,81	42,90	10,29	100

La plupart de nos malades avaient été soumis au régime de traitement court, certains au régime de retraitement pour rechute ou non négativation des expectorations après un premier traitement. Nous avons également des malades qui étaient soumis au régime standard.

2. Matériels :

Nous nous limiterons à citer le matériel et les réactifs que nous avons utilisés :

2.1 Examen direct :

- . Microscope électrique
- . Lames + porte objets
- . Anse de platine
- . Bec-bunsen avec gaz butane
- . Marqueurs, crayon-diamant, minuteur
- . Colorants de Ziehl-Neelsen à froid : Solution A et B
- . Huile de cèdre et alcool

2.2 Culture

2.2.1 Décontamination

- . Réfrigérateur
- . Hotte à pression négative : rôle de protection du manipulateur.
- . Centrifugeuse + tubes à centrifuger
- . Agitateur de khan
- . Pipettes pasteur
- . Gants et masques
- . Solution de soude à 4%, solution de H_2SO_4 à 4%
- . Solution de Bleu de bromothymol ou de bleu tournesol

2.2.2. Préparation des milieux de culture :

- . Coagulateur Gössner
- . Mixeur
- . Casseroles + baguettes en verre
- . Eprouvettes de un à deux litres
- . Tubes à essais à vis
- . Milieu de Loewenstein-Jensen base en poudre
- . Oeufs
- . Glycérine
- . Balance graduée jusqu'au dixième de mg + papier stérile
- . Coton

2.2.3. Mise en culture :

- . Etuve à 37° C + plateau Loewenstein-Jensen
- . Milieu de loewenstein-Jensen en tubes, préparé par nous même au laboratoire avec ou sans pyruvate
- . Pipettes graduées de 1 ml, 2 ml, 5ml, 10ml et 20ml stériles

2.2.4. Identification :

- Catalase

- . Bain -marie
- . Eau oxygénée à 110 volumes + eau distillée + Tween80

- Niacine

- . Solution d'aniline
- . Solution de bromure de cyanogène
- . Bandelettes réactives de niacin-test

- Nitrate réductase

- . Solution de $NaNO_3$
- . Les reactifs R_1 , R_2 , R_3 qui sont respectivement :

- R1 : Une dilution d'acide chlorhydrique dans l'eau (10 ml de HCL + 10 ml d'eau).
R2 : Une solution de sulfanilamide (0,2 mg de sulfanilamide + 100 ml d'eau distillée).
R3 : Une solution de bichlorhydrate de N- (1 naphyl éthylène diamine) dans l'eau.

2.2.5. Antibiogramme :

- . Ballons de 100, 150, 250 ml
- . Billes de verre
- . Milieux de Loewenstein-Jensen en tubes incorporés des antibiotiques suivants : INH, SM, PAS, Rifampicine, EMB, Tb₁
- . Etalon B.C.G.
- . Eau distillée stérile
- . Tubes à essais à vis stériles
- . Spatules
- . Becher contenant sable et alcool.

3. Méthodes

3.1 Prélèvement des produits pathologiques

La nature des produits pathologiques varie en fonction des organes atteints. Les résultats ne sont valables que si les prélèvements ont été correctement effectués.

3.1.1. Chez les malades pulmonaires: sujets qui crachent.

3.1.1.1. Sujets hospitalisés: le prélèvement consiste à recueillir les crachats dans un récipient stérile et plus simplement dans un crachoir en plastique que l'on détruira après usage. Il faut toujours prendre le soin d'expliquer au malade (homme ou femme) comment avoir un bon crachat qui s'obtient après un effort de toux profond et vigoureux. Il s'agit des mucosités bronchiques émises le matin au réveil, moment préférable de la journée pour leur recueil. Pour cela il suffit de confier au malade un récipient le soir et de le reprendre le lendemain matin.

3.1.1.2. Sujets non hospitalisés :

Pour ces sujets le médecin a le choix entre deux possibilités:

- Soit confier au malade un crachoir et le reprendre le matin ceci nécessite obligatoirement deux déplacements du malade ou l'un de ses proches parents.

- Soit faire cracher le malade sur place au laboratoire. Il faut alors prendre soin de répéter les examens des prélèvements de crachats trois jours de suite (qui est systématique chez un malade), les crachats salivaires sont d'emblée éliminés.

3.1.2. Sujets qui ne crachent pas :

Pour ces malades, avant de pratiquer un tubage gastrique ou tout autre prélèvement il faut s'assurer que le sujet est réellement incapable d'émettre des expectorations. Deux procédés sont couramment employés: le tubage gastrique et l'expectoration provoquée. On peut également employer avec profit l'écouvillonnage laryngé.

Ici encore le choix du prélèvement dépend de l'hospitalisation et de la non hospitalisation du malade. Le cas des enfants est spécial car ils ne savent pas cracher.

3.1.2.1. Sujets hospitalisés :

- Tubage gastrique: meilleur mode de prélèvement de l'expectoration chez les malades qui ne crachent pas. Il doit être pratiqué le matin au réveil et permet de recueillir les mucosités bronchiques dégluties pendant le sommeil.

Le tubage se fait à l'aide d'un tube semi-souple de fort diamètre (tube de Faucher) stérile, lubrifié à l'huile de vaseline stérile. On l'introduit latéralement dans la cavité buccale puis dans l'oesophage lors d'une déglutition. En faisant respirer profondément le malade, ceci permet d'introduire le tube dans l'oesophage puis dans l'estomac (entre les efforts de régurgitation).

Introduire ensuite 100 à 200 ml d'eau distillée stérile tiède dans l'estomac à l'aide d'un entonnoir fixé à l'extrémité libre du tube.

Après un temps donné on recueille avec le liquide introduit, les mucosités présentes dans l'estomac par siphonnage. Le produit du lavage gastrique est recueilli dans un récipient stérile. Actuellement on emploie des tubes en plastique à usage unique, ceci permet d'éviter toute cause d'erreur.

Le tubage gastrique est parfois remplacé par une aspiration gastrique, réalisée au moyen d'un tube en caoutchouc de petit diamètre, donc mieux toléré par le malade. Ce procédé, plus commode, est cependant moins

satisfaisant que le tubage gastrique car, n'assure pas totalement le prélèvement du contenu gastrique.

- Expectoration provoquée-Lavage bronchique.

Ces deux techniques peuvent être rapprochées, et tendent à faire cracher artificiellement le malade, il s'agit de: l'expectoration provoquée (par un aérosol de sérum physiologique additionné d'un produit expectorant) et le lavage bronchique (après anesthésie laryngée et bronchique avec du sérum physiologique additionné ou non d'un produit expectorant). L'aspiration bronchique est réalisée au cours d'une bronchoscopie par un spécialiste.

3.1.2.2. Sujets non hospitalisés :

Chez les sujets non hospitalisés qui ne crachent pas, la recherche du BK est difficile. Le tubage gastrique est souvent un geste inutile. Il est conseillé de faire l'expectoration provoquée et l'écouvillonnage laryngé.

Lorsque la recherche du BK est un élément de diagnostic capital, il est recommandé de faire hospitaliser le sujet pendant quelques jours afin d'effectuer les différents examens (tubage gastrique en particulier) dans les meilleures conditions.

3.1.3. Prélèvement des produits autres que les crachats.

La plupart des produits pathologiques autres que les crachats sont paucibacillaires. La mise en évidence du BK à l'examen direct est aléatoire et la culture souvent nécessaire. Il peut y avoir soit des produits contaminés, soit des produits non contaminés.

Pour les produits contaminés (urines, pus ganglionnaires, etc...) la culture n'est possible qu'après décontamination : le prélèvement n'a donc pas besoin d'être fait de façon stérile, ni d'être placé dans un récipient stérile. Il suffit tout simplement de disposer d'un récipient propre tout comme pour les crachats. Pour les urines il est souhaitable d'effectuer l'examen sur les premières urines émises le matin, et non sur les urines de 24 heures; beaucoup plus contaminées. La répétition des examens 3 jours de suite est recommandée.

Pour les produits pathologiques non contaminés (liquide pleural et péritonéal clair, liquide céphalo-rachidien, moelle osseuse etc...) le prélèvement fait d'une manière rigoureusement aseptique, doit être placé aseptiquement dans un récipient stérile; la culture pourra être faite directement sur des milieux de culture, ou bien le produit pathologique pourrait être dilué avec de l'eau distillée stérile au 2/5e avant d'être ensemencé sur les

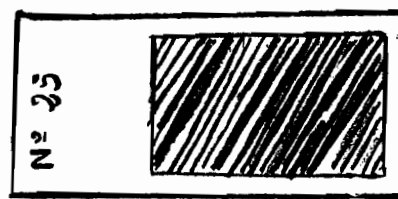
milieux de culture. Nous éviterons ainsi l'étape de la décontamination qui s'accompagne d'une destruction importante des bacilles.

3.2. Examen microscopique :

3.2.1. Confection et fixation du frottis :

On prélève à l'aide d'une anse de platine, préalablement flambée et refroidie, une parcelle purulente ou hémorragique de crachat que l'on étale sur les 2/3 de la lame à 0,5 cm de chaque bord de façon à réaliser un frottis fin. L'anse de platine est stérilisée à la flamme après chaque étalement, le frottis réalisé est séché à l'air pendant 5 à 10 mm puis fixé à la chaleur ou à l'alcool et à la chaleur.

Shéma III : Etalement des crachats



Frottis bien fait



Frottis mal fait

Fixation du frottis à la chaleur :

Prendre la lame avec une pince, la face portant le frottis étant tournée vers le haut. Passer la lame trois fois au dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

Fixation à la chaleur et à l'alcool :

Verser deux gouttes d'alcool sur le frottis, verser l'alcool, égoutter et flamber.

3.2.2. Coloration (14)

Toutes les méthodes de coloration sont basées sur la propriété fondamentale des mycobactéries : l'acido-alcool-résistance. Nous nous limiterons aux colorations les plus couramment utilisées.

3.2.2.1 Coloration de Ziehl Neelsen :

3.2.2.1.1. Réactifs

- Fuschine phéniquée de Ziehl :

Fuschine basique...1 g
Alcool absolu.....10 ml

Dissoudre par agitation, ajouter :
Phénol aqueux (obtenu par addition de 100 ml d'eau distillée stérile à 1 kg de Phénol cristallisé, chauffer au bain marie jusqu'à dissolution et refroidir)...5,5 g.

Puis ajouter 100 ml d'eau distillée en continuant à agiter. Laisser reposer 24 heures, puis filtrer .

- Bleu de méthylène phéniqué

Bleu de méthylène 2 g
Alcool absolu 10 ml

Dissoudre par agitation, ajouter :

Eau distillée..... 100 ml

Laisser reposer 24 heures, puis filtrer.

- Acide sulfurique au 1/4

Placer 75 ml d'eau distillée dans un récipient en verre pyrex. Ajouter très lentement 25 ml d'acide sulfurique pur pour analyse. Le récipient du mélange est généralement placé dans un cristalliseur rempli d'eau froide, car la réaction s'accompagne d'un fort dégagement de chaleur.

3.2.2.1.2 Technique :

Placer la lame sur un support en métal ou en verre. La recouvrir de fuschine de Ziehl filtrée extemporanément sur papier. chauffer doucement jusqu'à émission de vapeurs, au moyen de la veilleuse d'un bec Bunsen ou de la flamme d'un coton monté, trempé dans l'alcool. Laisser agir 10 minutes (5 à 15 minutes), chauffer la lame trois fois. Eviter l'ébullition et le dessèchement du colorant; si nécessaire rajouter de la fuchsine pour que la lame en soit toujours couverte.

Rejeter le colorant. Laver immédiatement à l'eau ordinaire. Recouvrir d'acide sulfurique dilué au 1/4. Durée 3 minutes. Laver et Recouvrir d'alcool à 90°C pendant 5 minutes, laver. le frottis est alors incolore ou légèrement teinté en rose.

Recolorer pendant 30 secondes par la solution de bleu de méthylène filtrée extemporanément sur papier. Laver à grande eau. Laisser sécher. La préparation est prête à l'examen microscopique.

3.2.2.2. Méthode à froid

La technique de coloration que nous utilisons est celle de Ziehl-Neelsen à froid. L'étalement de produit pathologique est fixé après 2 ou 3 passages dans la flamme. (frottis au dessus). La coloration à froid a lieu en 2 temps:

1er temps: placer la lame sur un support en métal ou en verre. Recouvrir de solution A. Laisser agir 5mn. Au bout de ce temps rejeter le colorant.

2è temps: Recouvrir la lame de la solution B pendant 3mn. Au bout de ce temps laver à grande eau, et laisser sécher. La préparation est prête pour l'examen microscopique.

Réactifs

Solution A:

- Fuschine basique.....5g
- Alcool absolu3ml
- phénol10mg
- Teepol15 gouttes.
- H₂O100 ml

Solution B:

- Alcool20ml
- Acide sulfurique au 1/410ml
- Bleu de méthylène 1%70ml

3.2.2.3. Méthode de Coloration Fluorescente:

3.2.2.3.1. Principe: Il consiste à colorer les bacilles avec des substances organiques excitables par une lumière de longueur d'onde déterminée et qui, après excitation, émettent une lumière de longueur d'onde plus élevée. Les colorants les plus courants sont excités par la lumière rouge ou verte.

Exemple: Fluorescéine, Rhodamine, Orangé d'acridine, Auramine et rouge thiazine.

3.2.2.3.2 Réactifs:

- . Auramine Phéniquée : Dissoudre 0,1g d'auramine dans 10ml d'éthanol à 90 ou 95° Gl, puis additionner a une solution à 3g de phénol dans 87ml d'eau distillée.

A Stocker dans une bouteille de verre foncé.

- . Acide-Alcool: Additionner 0,5ml d'acide chlorhydrique dans 100ml d'alcool à 70%.
- . Contre Colorant: Dissoudre 0,01 g d'orange d'acridine ou 0,1g de rouge de thiazine dans 100ml d'une solution aqueuse à 0,1% de phosphate dissodique anhydre (Na_2HPO_4)

3.2.2.3.3. Technique:

- . Couvrir le frottis avec une solution d'auramine phéniquée et laisser agir pendant 15 minutes.
- . Rincer avec un filet d'eau de robinet.
- . Couvrir le frottis avec la solution d'acide-Alcool pendant 2 minutes.
- . Rincer avec un filet d'eau du robinet.
- . couvrir encore le frottis avec le contre colorant pendant 2 minutes.
- . Rincer et laisser sécher: le frottis est prêt pour l'observation microscopique.

L'inconvénient de la méthode est que la plupart des produits pathologiques contiennent des particules naturellement fluorescentes qui, à l'occasion peuvent être confondues avec les bacilles et conduire à des résultats faussement positifs.

3.2.2.4. Lecture des Lames (48)

Après la coloration par la méthode de Ziehl Neelsen la recherche des bacilles acido-alcoolo-résistants exige un bon microscope et demande de la patience. La lecture est faite de façon systématique et standardisée. On utilise un objectif à immersion (X100) et un oculaire de 10. La lame étant placée sur la platine du microscope et la mise au point étant faite on commence la lecture au milieu de l'extrémité gauche du frottis, après avoir examiné un champ microscopique la lame est déplacée longitudinalement enfin que le champ voisin puisse à son tour être examiné. On examine les frottis sur 3 lignes parallèles suivant la longueur de la lame, ce qui correspond à 300 champs microscopiques. La lecture d'une lame prend 20 à 30 minutes. Les bacilles acido-alcoolo-résistants apparaissent sous forme de fins bâtonnets rouges longs de 0,5 à 1 μ et larges de 0,5 à 0,6 μ , droits ou légèrement incurvés, isolés ou en amas sur fond bleu.

Après la coloration en fluorescence, la lecture se fera après accommodation en chambre noire ou très sombre avec ou sans objectif à immersion. La coloration fait apparaître les bacilles acido-alcoolo-résistants en jaune pâle avec un contraste de fond variant avec les méthodes de coloration.

Chaque fois qu'il y a un doute sur la nature réelle du point lumineux avec l'objectif faible(x10), on doit revenir à un objectif de grossissement plus élevé(x40). On pourrait aussi récolorer par la méthode de Ziehl Neelsen une lame douteuse.

Cette méthode, bien qu'elle soit plus rapide que la méthode de Ziehl Neelsen doit être réservée aux laboratoires spécialisés vu le coût de l'appareillage et les risques d'erreurs.

3.2.2.5. Expression des Résultats

Les résultats doivent être toujours quantifiés; ceci permet en effet de se faire une idée sur la richesse des lésions, donc de la gravité de la maladie, et la contagiosité du sujet. Le résultat est noté au moyen de croix après une numération des B.A.A.R par champ, 10 champs, 100 ou 300 champs.

Tableau: Codification des Résultats de la Bacilloscopie

Nombre de B.A.A.R	Noter	Répondre	concentration bacillaire/crachat
0/300 champs	Négative	(-)	(-) de 1.000
1-2/300 champs	Nombre observé	Douteux à refaire	environ 5.000
1-10/100 champs	Nombre moyen par champ	(+)	environ 5000 à 10.000
1-10/10 champs	Nombre moyen par champ	(++)	environ 50.000
1-10/ champ	Nombre moyen par champ	(+++)	environ 100.000
10 ou plus/champ	Nombre moyen par champ	(++++)	500.000 ou plus

3-3 Culture (48)

L'isolement du bacille tuberculeux dans les produits de l'expectoration nécessite :

- la décontamination préalable de l'expectoration
- l'ensemencement sur un milieu de culture enrichi.

La première culture du bacille tuberculeux a été obtenue par Robert Koch en 1882 sur sérum de boeuf 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 ont été élaborés. On distingue : les milieux solides, et les milieux liquides.

3.3.1. Les Milieux solides

Ce sont les plus utilisés pour la culture des mycobactéries à partir des produits pathologiques. Actuellement deux milieux sont les plus couramment utilisés :

- Milieu de Loewenstein - Jensen (52)

* Composition :

Solution I

Phosphate mono-potassique.....	2,4g
Sulfate de magnésium.....	0,24g
Citrate de magnésium.....	0,60g
Asparagine.....	3,69g
Glycérine.....	12 ml
Eau distillée.....	600 ml

Ce mélange est chauffé jusqu'à dissolution. On stérilise à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Ajouter 30 g de fécule de pomme de terre (stérile) à la solution I et chauffer à 100°C pendant 15 minutes ; puis maintenir à 56°C. Ajouter à cette solution I 1 litre d'oeufs (cassés stérilement) et 20 ml de vert malachite à 2%. Il existe actuellement des milieux de loewenstein-Jensen déshydratés sur le marché, préparés jusqu'au stade des oeufs qu'il suffit d'ajouter.

- Milieu de Coletsos-Base

C'est un milieu enrichi avec des oligo-éléments, du pyruvate, du gluconate, et de l'ossein. Il permet une croissance rapide des mycobactéries et est particulièrement indiqué pour la culture de Mycobacterium bovis et Mycobacterium africanum

3.3.2. les Milieux liquides (52)

- leur genèse remonte à 1884 avec Proskaner et Beck qui mirent au point une formule simple constituée d'une solution tampon dans laquelle le carbonate d'ammonium est la source d'azote et la glycérine celle du carbone. Sauton en 1912 a ajouté un acide aminé et du fer. Youmans en 1947 a réalisé un milieu semi-synthétique en ajoutant au milieu de Proskaner et Beck 10% de sérum de boeuf.

Composition :

Asparagine	5g
Phosphate diacide de potassium.....	5g
Citrate de magnésium (14 H ₂ O).....	1,5g
Sulfate de potassium	0,5g
Glycérol.....	20g
Eau distillée.....	100ml
Ajuster le pH à 7,2 avec de la soude 1/10.	

- Milieu de Dubos (58)

Milieu liquide, inhibant la croissance des autres germes, alors que le bacille tuberculeux y pousse facilement.

Composition Hydrolysate de caseïne (poudre).....2g
Citrate de fer ammoniacal.....0,05g
Chlorure de Calcium.....0,0005g
Sulfate de Magnésium (à 7H₂O).....0,01g
Sulfate de Zinc.....0,0001g
Sulfate de cuivre.....0,0001g
Eau distillée.....900ml

amener à pH 6,8. Stériliser à +115°C pendant 20 minutes puis ajouter :

Twen 80 en solution à 10%..... 5 ml
Albumine de boeuf (fraction V de cohn) en solution..... 100ml

Stériliser par filtration sur bougie ou membrane stérilisante. Souvent pour un bon rendement de culture de souches pures de Mycobacterium tuberculosis, on enrichit ce milieu par adjonction par litre de :

Asparagine.....2g
Phosphate mono-acide de sodium (12H₂O)..6g
Phosphate diacide de potassium.....1g
Glycérol (ou glucose).....4g

- Milieu de Sula. Enrichi en alanine, c'est le seul milieu liquide qui contient du vert malachite.

3.3.3. Techniques de Culture :

Les techniques diffèrent selon la nature des produits pathologiques à ensemercer, qui peuvent être repartis en deux grands groupes : les produits non contaminés et les produits contaminés.

3.3.3.1 - Produits non contaminés :

Les produits pathologiques non contaminés, n'ayant eu aucun contact avec le milieu extérieur (L.C.R, Pus ganglionnaire, pleurésies séro-fibrineuses, etc...) sont ensemençés directement sur les milieux de culture sans traitement à raison de 3 à 4 gouttes par tube de milieux, en prenant la précaution de diluer aux 2/5e avec de l'eau distillée stérile, les liquides purulents.

3.3.3.2 - Produits contaminés

L'isolement des mycobactéries à partir des produits pathologiques nécessite une décontamination énergique. Ce traitement qui est improprement appelé homogénéisation du produit pathologique se fait en deux temps :

- Un premier temps de liquéfaction du mucus qui permet à la substance décontaminante d'atteindre la flore associée.
- Un deuxième temps de destruction des bactéries saprophytes. Plusieurs méthodes de décontamination ont été décrites :

3.3.3.2.1. Méthode de Pétroff : (47)

Les produits pathologiques placés dans un récipient stérile fermé hermétiquement, sont mélangés suivant leur viscosité avec deux à quatre fois leur volume de solution stérile de soude à 4% (4 ml de soude 1 N dans 100ml d'eau distillée). Après agitation vigoureuse on porte à l'étuve à 37°C pendant 30 minutes puis on centrifuge à 3.000 tours/minute pendant 15-20 minutes. Après décantation du liquide surnageant, on neutralise le culot de centrifugation par quelques gouttes d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique à 4% en présence d'un indicateur coloré (le bleu de tournesol ou le bleu de bromothymol)

Le produit final est ensemencé à raison de quelques gouttes par tube de milieu de culture. Nous avons utilisé cette méthode au cours de nos travaux.

3.3.3.2.2. Méthode de Petroff modifiée

2 ml de crachat sont placés dans un tube à centrifuger. On ajoute 3 ml d'une solution 1 N de soude. On agite pendant 30 minutes sur un agitateur. Ensuite on ajoute une solution d'acide phosphorique à 0,6% en présence de 2 ml de bleu de bromocrésol au 1/50e jusqu'à apparition de nuage jaune persistant au sein de la coloration bleu. On centrifuge à 3.000 tours par minute pendant 30 minutes. On ensemence le culot à raison de quelques gouttes par milieu de culture.

Inconvénient de la méthode de Petroff : La méthode de Petroff est une méthode classique. Krasnow a montré (47) que la technique de Petroff est la plus toxique pour le bacille tuberculeux. Pour cet auteur la survie du bacille tuberculeux varie en raison inverse de la concentration de soude employée. Ainsi avec la formation d'un excès de chlorure de sodium, lors de la neutralisation les bacilles pourront être inhibés en culture. En effet, le chlorure de sodium est nocif pour la vitalité du bacille tuberculeux. On doit utiliser le minimum d'acide pour la neutralisation du culot.

Il existe d'autres procédés de décontamination telsque :

- . Procédé au lauryl - sulfate de sodium
- . Procédé à l'acide sulfurique
- . Procédé au phosphate - trisodique
- . Procédé au bromure de cétyl-pyridinium

NB. De toutes les méthodes de décontamination, il semble que la méthode de Petroff est la plus brutale autrement dit la plus toxique pour les bacilles tuberculeux. Par ailleurs après ensemencement les milieux de culture sont mis à l'étuve à 37°C en position verticale pour les milieux liquides et en position horizontale pour les milieux solides. Ces dernières sont incomplètement fermés pour que le liquide d'ensemencement s'évapore. Ensuite, ils sont hermétiquement fermés, les tubes sont contrôlés chaque jour pendant au moins une semaine pour déceler les poussées précoces et les contaminations. Tous les tubes contaminés seront écartés. Après une semaine de contrôle quotidien, on procède à un contrôle hebdomadaire. Au delà de quatre mois tous les tubes stériles (culture négative) seront mis dans la cocotte pour être stérilisés, lavés et réutilisés, tandis que les poussées feront l'objet d'études ultérieures.

3.3.4. Aspect des Colonies

Les mycobactéries donnent sur les milieux de culture des colonies dont l'aspect est caractéristique et variable d'un milieu à un autre. Cependant les milieux solides sont les milieux indiqués, notamment le milieu de Loewenstein-Jensen.

Sur ce milieu on observe que :

- Mycobacterium tuberculosis donne des colonies eugoniques rugueuses, sèches, de teinte crème-beige de 1 à plusieurs millimètres de diamètre. Les colonies âgées peuvent prendre l'aspect en chou-fleur. Il existe de rares colonies dysgoniques.
- Mycobacterium africanum donne des colonies dysgoniques rugueuses, poussant lentement sur Loewenstein-Jensen. Sa croissance peut être stimulée par addition de pyruvate de sodium. Les colonies sont plates, mâtes avec un mamelon central sur les vieilles cultures.
- Mycobacterium bovis donne des colonies lisses dysgoniques non pigmentées, blanchâtres.
- Le B.C.G donne des colonies similaires à celles de bovis. Mais ces colonies sont rugueuses eugoniques, pigmentées en crème-beige et apparaissent en 10 à 30 jours comme M.tuberculosis

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

3.4. Identification des mycobactéries

Si l'identification des mycobactéries donnant des colonies pigmentées est souvent facile, il n'en est pas de même pour les autres mycobactéries.

Leur identification repose sur les caractères cultureux, les caractères biochimiques et la sensibilité aux antibiotiques.

3.4.1. Caractères Cultureux

On doit rechercher 4 caractères :

- la date d'apparition des colonies (vitesse de croissance).
- l'aspect des colonies.
- la pigmentation des colonies à l'obscurité et à la lumière (photo-induction)
- la température de croissance.

Technique : On ensemence 3 tubes avec 0,1 ml d'une suspension à 10^{-3} mg/ml afin d'obtenir des colonies séparées. On enveloppe 2 des tubes de papier (exemple : papier d'aluminium) afin d'éviter toute exposition à la lumière. Puis on place les 3 tubes à l'étuve à 37°C position couchée. Eventuellement, on peut placer 2 tubes supplémentaires à 22°C, 2 tubes à 30°C, 2 tubes à 45°C.

Lecture : On note

- la date d'apparition des colonies 4^e, 14^e, 21^e, 42^e jours.
- la taille des colonies, leur aspect rugueux (R) ou lisse (S)
- la pigmentation des colonies.
- la température à laquelle la croissance se produit.

Dès l'apparition de colonies, exposer pendant 1 heure à la lumière solaire ou artificielle, l'un des 2 tubes cultivés à l'obscurité. Remettre le tube à l'étuve à la même température. Observer le lendemain la pigmentation des colonies en comparant avec le 2^e tube laissé à l'obscurité.

- s'il y a pigmentation des colonies sur le tube exposé à la lumière et sur le tube laissé à l'obscurité, la souche est scotochromogène
- s'il y a pigmentation des colonies sur le tube exposé à la lumière et absence de pigmentation sur le tube laissé à l'obscurité, la souche est photochromogène.
- s'il y a absence de pigmentation sur les deux tubes, la souche est non chromogène.

3.4.2. Caractères biochimiques

Il existe cinq principaux caractères biochimiques permettant l'identification des mycobactéries :

- Présence de catalase à 22°C et 70°C
- Présence de la peroxydase
- Production d'acide nicotinique
- Réduction des nitrates
- Transformation du Citrate de fer ammoniacal
- . La catase est un enzyme qui décompose l'eau oxygénée en libérant de l'O₂. Sa présence dans une souche donnée se traduit par un dégagement gazeux lorsqu'on met cette souche en présence d'eau oxygénée.
- . La peroxydase est un enzyme qui catalyse les oxydations à partir de l'eau oxygénée. Sa présence se traduit par un noircissement des colonies lorsque celles-ci sont mises en contact avec l'eau oxygénée et d'un substrat oxydable (catéchol, Benzidine etc...)
- . Les souches de M. tuberculosis produisent une importante quantité d'acide nicotinique dont la présence est révélée par le bromure de Cyanogène.
- . les mycobactéries présentent une nitrate réductase permettant de réduire les nitrates en nitrites (NO₃---->NO₂).
- . Certaines mycobactéries ont la possibilité d'accumuler les sels de fer et de les transformer en oxyde de fer de couleur brune.

Au cours de nôtre étude, nous nous limiterons à la recherche de trois principaux parmi les cinq caractères :

3.4.2.1. Recherche de la Catalase : A 22°C et 70°C (52)

La recherche de la catalase doit être faite sur des cultures jeunes de moins d'un mois.

On place 10 mg ou une anse pleine de colonies de bacille tuberculeux dans deux tubes à hémolyse contenant chacun deux gouttes d'eau distillée stérile. Mettre au bain-marie à 70°C pendant 15 minutes l'un des tubes, le refroidir aussitôt, après introduire dans les 2 tubes 1ml de la solution suivante :

- eau distillée..... 170ml
- Twen 80..... 10ml
- Eau oxygénée à 110 volumes..... 10ml

Pour préparer cette solution, dissoudre à chaud le twen 80 dans l'eau, ajouter alors l'eau oxygénée après refroidissement du premier mélange.

Ou encore on pourra préparer et conserver séparément la solution de Twen80 et d'eau oxygénée à 110 volumes au réfrigérateur à l'abri de la lumière à (+4°C). Dans ce dernier cas le mélange Twen 80 et eau oxygénée sera fait extemporanément au moment de l'emploi. Le mélange se faisant à volume égal, en ajoutant l'eau oxygénée au Tween 80. La lecture se fera après cinq minutes de contact.

- . Pas de mousse : résultat négatif, absence de catalase (-)
- . Hauteur de mousse de moins de 4 cm : Résultat douteux (±)
- . Hauteur de mousse de plus de 4 cm : Résultat positif (+)

Toutes les mycobactéries sont catalase (+) sauf certaines souches INH-Résistantes de M. bovis et M. tuberculosis : Il existe différentes souches distinguables les unes des autres par leur sensibilité thermique.

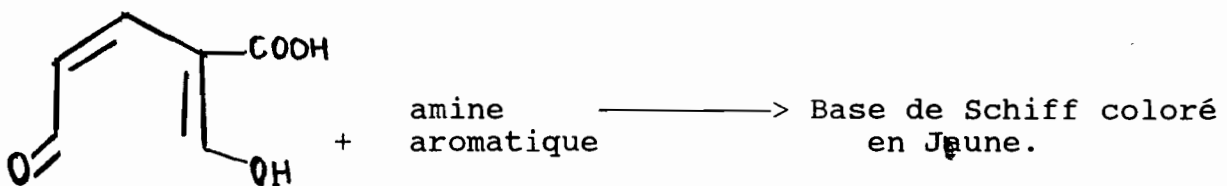
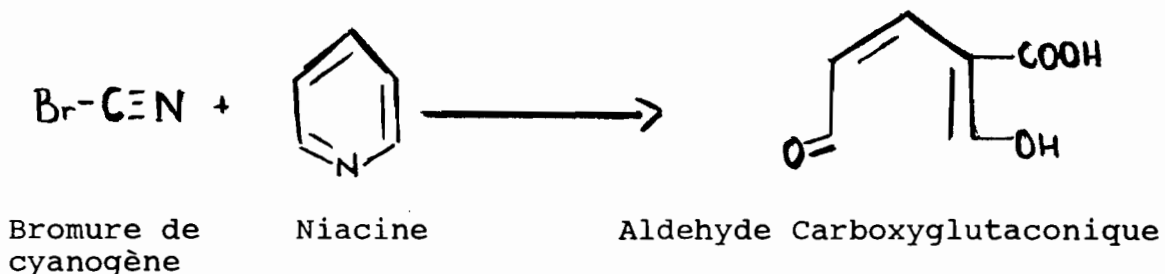
Seules les mycobactéries atypiques ont une catalase active à 22°C et à 70°C (catalase thermostable) : Resultat positif dans les tubes. Les mycobactéries tuberculeuses sont thermosensibles.

3.4.2.2. Recherche de la Niacine (Test de konno) ou Niacin-Test. La recherche s'effectue sur les cultures âgées de plus d'un mois, contrairement à la recherche de la catalase et de la peroxydase.

C'est sur les cultures âgées que la production d'acide nicotinique est assez importante pour être facilement décelée. On opère sous hotte ou devant une fenêtre ouverte.

Technique directe : Sur une culture abondante sur milieu de loewenstein-Jensen, ajouter 1 ml d'eau distillée stérile. Placer à l'étuve pendant 2 heures en position inclinée afin que l'eau recouvre la surface de la culture. Si la culture est confluyente, briser la masse cellulaire pour faciliter l'extraction du milieu (la Niacine est extra-cellulaire et s'accumule dans le milieu). Prélever l'eau riche en bacilles et ajouter 1 ml de solution d'aniline à 4% à l'aide d'une pipette-Pasteur, puis 2 ml de solution de bromure de cyanogène. (35).

La réaction est instantanée l'apparition d'une coloration jaune indique que la réaction est positive ; la réaction est négative si le milieu est incolore. Actuellement on utilise des bandelettes réactives, pour cela procéder comme pour la méthode précédente jusqu'à l'extraction, puis introduire des bandelettes dans le liquide dans le sens indiqué par la flèche. Visser le tube immédiatement. Le développement d'une couleur jaune dans le liquide indique une réaction positive. La lecture doit être immédiate puisque la réaction est fugace (58). Dans la méthode des bandelettes, le bromure de cyanogène est remplacé par le chlorure de cyanogène formé au cours de la réaction.



3.4.2.3. Recherche de la Nitrate réductase (52)

Virtanen a observé que les mycobactéries diffèrent quantitativement dans leur pouvoir de réduction des nitrates; ce qui pourrait être utilisé pour leur identification.

M. tuberculosis réduit fortement les nitrates

M. bovis donne une réaction négative ou très faible

Réactifs :

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

Na NO ₃	0, 85g
KPO ₄ H ₂	0, 117g
Na ₂ PO ₄ H (12H ₂ O).....	0, 487g
eau distillée.....	10ml

Réactif 1 (R₁) : Une dilution au $\frac{1}{2}$ d'acide chlorhydrique dans l'eau (10ml de Hcl + 10 ml d'eau).

Réactif 2 (R₂) : 0,2 mg de sulfanilamide dans 100 ml d'eau distillée

Réactif 3 (R₃) : 0,1 g de bichlorhydrate de N-(1-naphyl-éthylène diamine) dans 100 ml d'H₂O.

Les trois réactifs R₁, R₂, R₃ et le substrat seront conservés au réfrigérateur et à l'obscurité. On les jette en cas de formation de précipité ou de changement de couleur.

Technique : Dans un tube à hémolyse contenant 2 gouttes d'eau distillée introduire 10 mg de bacille (culture jeune de moins d'un mois) c'est à dire une spatule pleine. Ajouter 2 ml de la solution de NaNO₃. Porter 2 heures à l'étuve à 37°C. Ajouter une goutte de R₁ puis de R₂, et 2 gouttes de R₃.

On doit observer un virage à la couleur rouge si la réaction est positive. Dans le cas contraire, soit la réaction est négative (pas de coloration ou coloration rose pâle), soit les nitrates ont été réduits jusqu'au stade d'azote. Dans ce cas, ajouter de la poudre de Zinc qui catalyse la réduction des nitrates en Nitrites. Si la coloration rouge apparaît, c'est la réaction qui est réellement négative. Si la solution reste incolore, c'est que la réaction est positive, car tous les nitrates ont été réduits jusqu'au stade d'azote.

3.5 Tests de sensibilité aux antibiotiques

Plusieurs méthodes ont été décrites dans les tests de sensibilité. La méthode que nous avons utilisée est celle des proportions décrites par Cannetti Rist et Grosset (12). La mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux antibiotiques est actuellement bien codifiée. La méthode qu'il y a lieu de suivre, appelée méthode des proportions est à la portée de tout laboratoire normalement équipé.

Elle donne des renseignements précis à condition d'être exécutée avec minutie. Deux variantes de tests sont possibles, l'une rapide et l'autre lente.

La variante rapide ne peut être employée que pour les produits pathologiques riches en bacilles et s'exécute sur le produit pathologique même, et fait gagner 3 à 4 semaines. C'est le test direct.

La variante lente qui nécessite une culture préalable (primoculture) peut être employée quelque soit la richesse des produits pathologiques en bacilles: c'est le test indirect. Dans les deux variantes, le principe, et l'interprétation des résultats sont strictement les mêmes.

3.5.1 Principe de la méthode des proportions (12)

Un test de sensibilité par la méthode des proportions consiste à mesurer la proportion de bacilles résistants qui existe 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 parmi ces bacilles. On ensemence trois dilutions bacillaires qui sont de cent en cent fois plus faibles les unes que les autres: 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} sur milieu de Loewenstein-Jensen avec antibiotiques incorporés avant coagulation et deux témoins pour chaque dilution sans antibiotique incorporé. Les tubes contiennent 7ml de milieu. Les dilutions sont choisies de manière que l'une d'entre elles donne naissance à des colonies comptables. En dénombrant le nombre de colonies obtenues sur les milieux avec antibiotiques (bacilles résistants) et le nombre de colonies obtenues sur les milieux sans antibiotiques (population bacillaire totale), on obtient facilement la proportion de bacilles résistants qui existent dans la souche testée. En deçà d'une certaine proportion dite proportion critique, la souche est sensible et au delà, la souche est résistante. Le seuil critique varie suivant les antibiotiques. On évitera l'utilisation des milieux fabriqués de plus de deux mois.

3.5.2. Préparation des dilutions bacillaires et ensemencement

Le test de sensibilité comporte deux variantes, l'une dite méthode directe et l'autre dite méthode indirecte.

3.5.2.1. Test indirect Il est réalisé à partir de la primoculture des produits sur milieu de Loewenstein-Jensen.

Préparation des dilutions bacillaires

On prélève avec une spatule en platine stérile de 12x6 mm, 5mg de culture. Le prélèvement est placé dans un ballon stérile de 5cm de diamètre contenant une trentaine de billes de verre de 3 mm de

diamètre. Agiter fortement le ballon à sec pendant 20 à 30 secondes, puis ajouter 5 ml d'eau distillée stérile lentement : le ballon continuant à être agité.

Prélèver la suspension bacillaire et placer dans un tube stérile de 22 mm de diamètre. On ajuste alors l'opacité de la suspension bacillaire, par adjonction d'eau distillée stérile, à l'opacité d'une suspension bactérienne à 1mg/ml de B.C.G (servant d'étalon, fourni sur demande par l'Institut Pasteur; cet étalon doit être conservé au réfrigérateur, et placé à la température du laboratoire 15 minutes avant l'emploi.)

A partir de cette suspension (suspension-mère), On prépare trois dilutions 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} , on procède par échelle décimétrique (10^{-1} mg/ml, 10^{-2} mg/ml jusqu'à 10^{-6} mg/ml). Par exemple pour préparer la dilution 10^{-1} mg/ml, on place 0,5ml de la dilution 1mg/ml (suspension-mère) dans 4,5ml d'eau distillée à l'aide de pipette Pasteur. Mais on prend soin de changer de pipette après chaque dilution.

.Ensemencement . (52)

Avec chacune des dilutions 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} mg/ml, on ensemence deux tubes de milieu sans antibiotique (tubes témoins) et un tube de milieu par concentration d'antibiotique à raison de 0,2ml par tube. Le nombre de tubes pour chaque dilution est 6, soit 18 tubes pour un test. Après ensemencement, les tubes sont légèrement inclinés à l'horizontal permettant ainsi au liquide de couvrir toute la surface du milieu sans toucher l'extrémité du tube. Quant tout le liquide d'ensemencement est évaporé, les tubes sont alors bien vissés, puis remis à l'étuve jusqu'à la lecture des résultats.

3.5.2.2 Test direct (12)

Il se fait directement avec le produit pathologique lui-même. Le frottis étant fait, on décontamine le crachat par la méthode de Petroff décrite précédemment. Le produit final constitue la dilution I (suspension-mère). Les dilutions à préparer et les dilutions à ensemencer dépendent du nombre de bacilles visibles sur le frottis de l'examen microscopique direct. Elles sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

A partir de la dilution I on procède en ce moment comme dans le cas du test direct.

Nombre de bacilles à l'examen microscopique (objectif 100 à l'immersion)	Dilutions à ensemercer	
	Sur les tubes témoins	Sur les tubes à antibiotiques
- de 1 bacille par champ... De 1 à 10 bacilles /champ..	Pas de titrage direct Dilution I, 10^{-2} , 10^{-3}	Dilution I, 10^{-2}
+ de 10 bacilles par champ.	10^{-1} , 10^{-2}	10^{-1} , 10^{-2}

Tableau : Titrage direct : dilution à ensemercer en fonction du nombre de bacilles visibles à l'examen microscopique.

3.5.2.3 Lecture et Interprétation des Résultats

La lecture des résultats est effectuée au 28ème jour et au 42ème jour; dans la majorité des cas les résultats sont donnés au 28ème jour.

La lecture des résultats consiste à :

- compter le nombre de colonies apparues dans les différents tubes.
- déduire de là, la proportion de bacilles résistants qui existent dans la souche.
- confronter cette proportion avec la proportion critique adoptée pour l'antibiotique correspondant, afin de savoir si elle se situe en deça (souche sensible) ou au delà (souche résistante).

Les proportions critiques admises pour chaque antibiotique:

- INH... 1% si la concentration dans le milieu est 0,2 µg/ml
10% si la concentration dans le milieu est 0,1 µg/ml
- Streptomycine. 1% si la concentration dans le milieu est 4 µg/ml
- Rifampicine ..10% " " " est 40 µg/ml
- E.M.B..... 10% " " " est 2 µg/ml
- Tb₁..... 10% " " " est 2 µg/ml
- T.C.H..... 10% " " " est 2 µg/ml

. Calcul de la proportion de bacilles résistants contenus dans la souche

Exemple : test indirect pour l'I.N.H

Dilution	Tubes témoins		Tubes INH concentration en µg/ml		
			0,1	0,2	1
10 ⁻³	∞	∞	∞	∞	∞
10 ⁻⁵	60	72	68	8	2

La population totale de bacilles viables contenus dans 0,2 ml de la dilution 10⁻⁵ est indiqué par le nombre de colonies trouvées sur chaque tube témoin ensemencé avec la même dilution. La moyenne des deux tubes témoins donne $\frac{60+72}{2} = 66$ colonies

Par conséquent chaque tube, avec ou sans antibiotique a reçu 66 bacilles viables. Sur les 66 bacilles viables reçus par les tubes avec INH combien ont donné des colonies ? Combien sont résistants ?

Avec la concentration 0,1 µg/ml on trouve 68 colonies donc $\frac{68}{66} \# 100\%$ des bacilles de la souche sont résistants à l'INH à la concentration de 0,1 µg/ml.

Avec la concentration 0,2 µg/ml on trouve 8 colonies donc $\frac{8}{66} \# 12\%$ des bacilles de la souche sont résistants à 0,2 µg/ml d'INH.

Avec la concentration 1 $\mu\text{g/ml}$ on a deux colonies donc 2/66 = 3% de bacilles résistants à l'INH à 1 $\mu\text{g/ml}$.

La proportion critique pour l'INH à 0,2 $\mu\text{g/ml}$ est fixée à 1%; or la souche testée contient 12% de bacilles résistants à cette concentration; elle est donc résistante à l'INH.

3.5.2.4 Interprétation des Résultats

La première lecture est faite au 28  jour, si elle indique une résistance, une lecture au 42  jour est inutile. Si la souche paraît sensible une deuxième lecture au 42  jour donne une réponse définitive.

L'important n'est pas de savoir s'il existe ou non des bacilles résistants, car il en existe dans toute population normale nombreuse, mais de savoir si la population des bacilles résistants est normale ou anormale.

Une souche normale de bacilles tuberculeux est sensible aux principaux antibiotiques antituberculeux (isoniazide, streptomycine, ethambutol, rifampicine, éthionamide, PAS).

La sensibilité au TCH s'effectue en même temps que le test de sensibilité aux antibiotiques. Seule les souches normales de M. tuberculosis poussent sur le milieu imprégné. Mais en cas de résistance à l'INH ce test ne permet plus une discrimination entre souche car entraînant une résistance croisée au TCH.

Les souches de BCG sont naturellement résistantes à la cycloserine. Les mycobactéries atypiques sont résistantes au P.A.S.

Mycobacterium bovis a une résistance naturelle partielle au PAS et au Tb₁, totale au pyrazinamide.

RESULTATS-DISCUSSION-CONCLUSION

VI Résultats

D'octobre 1990 à octobre 1991 notre échantillonnage a porté sur 404 prélèvements de produits pathologiques venant de nouveaux malades et d'anciens malades (malades en retraitement ou en cours de traitement).

Parmi les 404 prélèvements tousensemencés, on comptait 352 crachats, 3 sécrétions bronchiques, 9 urines, 7 pus, 33 liquides de ponction (pleurale, péricardique, ganglionnaire, ascite, LCR, moelle osseuse, liquides d'hydrocèle.....)

Nous avons obtenu au total 282 cultures positives dont 272 crachats, 2 Pus, 3 urines et 5 liquides de ponction. Ceci montre que le bacille tuberculeux peut attaquer presque tous les organes, mais c'est surtout la tuberculose pulmonaire qui est la plus fréquente.

Tableau I: Répartition des cultures faites et positives selon la nature du produit pathologique.

Nature du produit pathologique	Nombre de cultures faites	Cultures positives	
		Nbre	% de positivité
Crachats.....352....	272	77,27
Urines.....9....	3	33,33
Sécrétions bronchiques3....	0	0
Pus.....7....	2	28,57
Liquides de Ponction.33....	5	15,15
TOTAL	404	282	69,80

1. Culture

Nous avonsensemencé 404 prélèvements de produits pathologiques (dont 339 positifs à l'examen direct) sur milieu de Loewenstein-Jensen simple et milieu de Loewenstein-Jensen additionné de pyruvate de sodium. Ces milieux ont été préparés sur place au laboratoire de bactériologie de l'INRSP.

Sur l'ensemble des cultures réalisées, 282 ont donné des cultures positives soit 69,80%, 32 ont été contaminées et 80 se sont avérés négatives.

2. Identification

Les cultures positives se manifestent par l'apparition des colonies qui sont alors soumises à une identification sur la base des caractères morphologiques et biochimiques. Sur les 282 cultures positives, 160 ont pu être testées d'une manière précise, nous avons trouvé 147 M.tuberculosis (81,87%), M. africanum (5%) et 5 Mycobactéries atypiques (3,13%). Nous n'avons pas identifié de M.bovis. Les 122 cultures restantes étaient en cours d'identification au moment de la rédaction de ce travail.

Tableau II: Répartition des souches en fonction du sexe.

Espèce de Myco- bactéries Sexe	M.tuberculosis		M.africanum		M.Atypiques		TOTAL	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
Masculin	100	90,09	6	5,40%	5	4,51%	111	69,37%
Féminin	47	95,92	2	4,08%	0	-	49	30,63%
Total-souches	147	91,87	8	5 %	5	3,13%	160	100%

Ce tableau montre que parmi les malades de notre échantillonnage, les hommes sont plus fréquents que les femmes et que l'espèce la plus isolée est M.tuberculosis.

Tableau III: Répartition des souches en fonction de l'âge.

Espèce TRANCHE d'ÂGE	M. tuberculosis		M. africanum		M. Atypiques		TOTAL	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
10 à 19 ..	12	... 8,16	0 -	0	... -	12	..7,5
20 à 29 ..	46	...31,29	112,5	1	... 20	48	.. 30
30 à 39 ..	22	...14,97	112,5	2	... 40	25	.15,63
40 à 49 ..	19	...12,93	112,5	1	... 20	21	.13,12
50 à 59 ..	15	...10,20	112,5	1	... 20	17	.10,62
>= 60 ..	6	... 4,08	0 -	0	... -	6	. 3,75
Indéterminé	27	...18,37	4 50	0	... 0	31	.19,38
Total	147	100	8	100	5	100	160	100

Ce tableau montre que le maximum de souches de M. tuberculosis isolées proviennent de malades appartenant à la tranche d'âge de 20 à 29 ans. En ce qui concerne les autres espèces, les chiffres enregistrés sont trop faibles pour permettre une comparaison valable.

Tableau IV: Répartition des souches en fonction des ethnies.

Espèces Ethnies	M. tuberculosis		M. africanum		M. Atypiques		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Bambara ...	5037,42	4 50	2 40	61 .	.38,10
Peulh	2819,06	112,5	1 20	30 .	.18,75
Sonraï	2416,33	0 -	1 20	25 .	.15,60
Malinké ...	09 6,13	112,5	0 -	10 .	. 6,06
Minianka...	1 0,68	0 -	0 -	1 .	. 0,60
Dogon	3 2,05	0 -	1 20	4 .	. 2,5
Sarakolé...	10 6,80	112,5	0 -	11 .	. 6,90
Sénoufo....	1 0,68	0 -	0 -	1 .	. 0,70
Somono.....	3 2,05	0 -	0 -	3 .	. 1,80
Bella.....	5 3,40	0 -	0 -	5 .	. 3,10
Kassonké...	4 2,73	112,5	0 -	5 .	. 3,10
Touaregh...	2 1,36	0 -	0 -	2 .	. 1,25
Maure.....	1 0,68	0 -	0 -	1 .	. 0,70
Bobo.....	1 0,68	0 -	0 -	1 .	. 0,70
Total	147	100	8	100	5	100	160	100

Selon ce tableau, Mycobacterium tuberculosis apparaît en plus grande fréquence chez les Bambara suivis des Peulh, Sonraï, Sarakolé puis les Malinké. En fait ces ethnies sont les plus représentées dans notre échantillon. Pour la même raison, Mycobacterium africanum est présent surtout dans l'ethnie Bambara.

Tableau V : Répartition des souches en fonction de la résidence des malades

Espèces Résidence	M.tuber- culosis		M.africa- num		M.atypiques		Total	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
Kayes.....	7.....	4,76	-	-	-	-	7.....	4,40
Bamako.....	82.....	55,78	5.....	62,50	3.....	60,00	90.....	56,25
Koulikoro.....	28.....	15,65	2.....	25,00	-	-	25.....	15,62
Sikasso.....	7.....	4,76	1.....	12,50	-	-	8.....	5,00
Ségou.....	6.....	4,08	-	-	-	-	6.....	3,75
Mopti.....	6.....	4,08	-	-	-	-	6.....	3,75
Tombouctou.....	3.....	2,04	-	-	1.....	20,00	4.....	2,50
Gao.....	2.....	1,36	-	-	-	-	2.....	1,25
Rép de C. Ivoire	1.....	0,68	-	-	-	-	1.....	0,62
Rép de Mauritanie	1.....	0,68	-	-	-	-	1.....	0,62
Indéterminé	9.....	6,12	-	-	1.....	20,00	10.....	6,25
Total	147	100	8	100	5	100	160	100

Ce tableau montre que la plupart des souches ont été isolées chez les malades résidant à Bamako suivis de Koulikoro, Sikasso, Kayes, Ségou, Mopti.

3. Test de sensibilité aux antibiotiques antituberculeux

Nous l'avons toujours pratiqué après les tests d'identification. Nous avons pu mener à bout les études bactériologiques sur 90 souches, dont une partie provenaient de nouveaux malades non encore traités pour l'étude de la résistance primaire, et l'autre partie d'anciens malades positifs en cours de traitement ou déjà traités mais sans succès pour étudier la place de la résistance dans ces cas d'échecs thérapeutiques.

3.1. Résistance primaire

Les taux de résistance primaire aux différentes drogues antibacillaires sont consignés dans le tableau VI.

Tableau VI : Taux de résistance primaire des mycobactéries aux différentes drogues antituberculeuses.

ANTIBIOTIQUES	Résistants		Sensibles	
	Nombre	%	Nombre	%
Isoniazide seul INH	10/44	22,70	34/44	77,30
Streptomycine seule(SM)	8/44	18,20	36/44	81,80
Rifampicine seule(RIF)	1/44	2,70	42/44	95,45
Ethambutol seul EBM	0	-	42/44	95,45
INH + SM.....	8/44	18,20	36/44	81,80
INH + SM + RIF.....	1/44	2,70	42/44	95,45
INH + SM + EMB.....	1/44	2,70	43/44	97,70
INH + SM + RIF +EMB	1/44	2,70	43/44	97,70
Sensible à tous les antibiotiques			26/44 59,09
Résistant à INH et ou SM	10/44	22,70%		

Le tableau VI montre que :

- 26 souches sur 44 soit 59,09% sont sensibles à tous les antibiotiques.

- les taux de résistances à l'INH, à la SM, et à l'association INH + SM sont respectivement de 22,70%, 18,20% et 18,20%

- les taux de résistance aux autres antibiotiques sont très faibles.

Au total, on peut dire que la résistance primaire interesse essentiellement l'INH et la SM seuls le plus souvent, ou parfois en association; les autres antituberculeux sont très peu en cause et les polyrésistances sont exceptionnelles.

3.2 Résistance chez les malades en traitement

Tableau VII : Taux de résistance aux différents antibiotiques pour 46 anciens malades

ANTIBIOTIQUES	Souche Résistante		Souches Sensibles
	Nombre	%	
Isoniazide seul	2/46	4,350/46
Streptomycine seule	2/46	4,350/46
Rifampicine seule	0/46	04/46
Ethambutol seul	0/46	04/46
INH + SM.....	7/46	15,220/46
SM + Tb ₁	4/46	8,690/46
Thioacétazone (Tb ₁)..	0/46	02/46
INH + SM + Tb ₁	7/46	15,220/46
INH + SM + RIF.....	2/46	4,350/46
INH + EMB+ Tb ₁	2/46	4,350/46
INH + RIF+ Tb ₁	5/46	10,870/46
INH + SM + RIF+Tb ₁ .	4/46	8,690/46
INH + SM + EMB+Tb ₁ .	4/46	8,690/46
INH + SM + RIF+EMB.	2/46	4,350/46
SM + RIF + Tb ₁	2/46	4,350/46
INH+SM+RIF+EMB+Tb ₁ .	1/46	2,172/46
Sensible à tous les antibiotiques			2/46 soit 4,35
Résistant au moins à un antibiotique	44/46	95,65	

Le tableau VII montre que:

- la polyrésistance (40/46 soit 86,95%) est plus fréquente que la résistance simple à un seul antibiotique ou mono-résistance (4/46 soit 8,69%). Ces 4 cas de mono-résistance ont d'ailleurs été rencontrés chez des malades en suivi de traitement.

- les taux de résistance les plus élevés concernent les associations INH + SM et INH + SM + Tb₁ (15,22% chacune) suivie de l'association INH + RIF + Tb₁ (10,87%).

- Sur les 40 souches polyrésistantes 27/46 soit 58,69% incluent l'INH et la SM dans leur phénotype de résistance et 19,56% englobent l'INH, la SM et la rifampicine dans leur phénotype de résistance.

Au total on peut dire que la résistance chez les anciens malades interesse l'INH et la SM ; mais surtout en association soit entre eux, soit avec d'autres antituberculeux en particulier la Thioacetazone (Tb₁), la Rifampicine (RIF) et l'Ethambutol (EMB).

Les 46 anciens malades peuvent être repartis en 3 groupes:

- * 26 malades en retraitement pour n'avoir pas été négativés durant leur premier traitement.
- * 6 malades en retraitement pour rechute
- * 14 malades en suivi de traitement.

3.2.1 Malades en retraitement pour non stérilisation

Rappel du régime de retraitement : Le régime de retraitement dure six mois, il se résume de la manière suivante :

3 HRE ZS ₃ /3 H ₃ R ₃ E ₃	ou
---	----

H = Isoniazide R = Rifampicine, E = Ethambutol
Z = Pyrazinamide S = Streptomycine

Tableau VIII : Fréquence des différents phénotypes de résistance chez les 26 malades en retraitement pour non stérilisation.

Phénotypes de résistance	Nombre	%
H.S.....	5.....19,23
S.T.....	3.....11,54
H.S.T.....	4.....15,38
H.S.R.....	1.....3,85
H.E.T.....	1.....3,85
H.R.T.....	4.....15,38
H.S.R.T.....	3.....11,54
H.S.E.T.....	2.....7,69
H.S.R.E.....	2.....7,69
H.S.R.E.T.....	1.....3,85
TOTAL.....	26.....100

Le phénotype de résistance le plus fréquent dans le tableau VIII est HS (19,23 %) suivi des phénotypes de résistance H.S.T et H.R.T (15,38 %) chacun, ensuite les phénotypes S.T et H.S.R.T (11,54 %) chacun, puis viennent les phénotypes H.S.R.E et H.S.E.T (7,69 %) chacun et enfin les phénotypes H.S.R; H.E.T et H.S.R.E.T (3,85 %) chacun. Nous n'avons noté aucun cas de monorésistance.

3.2.2. Malades en retraitement pour rechute

Ces malades au nombre de six avaient été déclarés guéris puisque les contrôles successifs de leurs crachats à la fin d'un premier régime de traitement donnaient toujours des résultats négatifs.

Tableau IX : Fréquence des différents phénotypes de résistance chez les 6 malades en retraitement pour rechute.

Phénotypes de Résistance	Nombre	Fréquence
HS	1 16,67
HST	2 33,33
HRT	1 16,67
HSET	2 33,33
Total.....	6.....	... 100

Ces tableaux VIII et IX montrent que tous les malades en retraitement pour rechute et pour non stérilisation hébergent des souches polyrésistantes à 2, 3, 4, ou même 5 antibiotiques dont H, S, E et/ou R. Leur chance de guérison est très réduite en se basant sur les travaux de Mitchison (communication à la 25e Conférence Mondiale de l'Union Internationale contre la tuberculose à Buenos Aires 15-18 Décembre 1982), conformément au tableau suivant :

Souches résistantes à	Malades traités	Echec du traitement
INH seul 21 0/21
Streptomycine seule 32 0/32
INH et SM 22 8/22

Il est donc nécessaire d'envisager pour le retraitement de ces malades, de nouveaux antibiotiques tels que les fluoroquinolones, molécules encore actives sur les souches devenues résistantes aux antituberculeux classiques (69) et actuellement couramment utilisés dans le traitement de la tuberculose dans d'autres pays.

3.2.3. Malades en cours de traitement

Au DAT de Bamako et au Service de pneumo-phtisiologie de l'hôpital National du Point G, tous les malades dépistés sont actuellement soumis au régime de traitement court de 8 mois: 2HRSZ/6HT

Tableau X : Les différents phénotypes de résistance chez les 14 malades en suivi

Phénotype de Résistance	Nombre
Sensibles	2
H	2
S	2
ST	1
HS	1
HST	1
HSR	1
HET	1
SRT	2
HRST	1
TOTAL	14

Parmi les 14 malades en cours en traitement :

- . 2 malades sont actuellement à leur 2ème mois de traitement, dont l'un héberge une souche sensible et l'autre une souche résistante à l'INH. Vu le nombre d'antibiotiques utilisés pour le traitement court, on peut penser que la positivité de ces deux malades est due à une irrégularité au traitement.
- . 4 malades sont à leur 3ème mois de traitement (une souche sensible, deux souches monorésistantes dont un à l'INH et l'autre à la SM et une souche polyrésistante à ST). Dans ce cas encore, on peut évoquer une irrégularité des malades au traitement.
- . 6 malades sont à leur 6ème mois de traitement (une souche monorésistante à la SM, les autres souches polyrésistantes dont 1 à HS, 1 à HST, 2 à SRT, 1 à HET). Dans ce cas il s'agit d'un vrai échec thérapeutique imputables pour le premier malade à une irrégularité et les autres à une polyrésistance.
- . 2 malades sont à leur 8ème mois de traitement, hébergeant des souches polyrésistantes dont 1 à HSR et 1 à HRST. Il s'agit d'un échec thérapeutique dû à une polyrésistance.

3.2.4 Comparaison des différents phénotypes de résistance.

Tableau XI Comparaison des différents phénotypes de résistance rencontrés chez les trois groupes de malades.

Phénotypes de Résistance	Nombre de cas			T O T A L
	chez les malades en 1er traitement (Régime court)	Chez les malades en retraitement		
		Pour rechute	Pour non Stérilisation	
H	2	0	0	2
S	2	0	0	2
HS	1	1	5	7
ST	1	0	3	4
HST	1	2	4	7
HSR	1	0	1	2
HET	1	0	1	2
HRT	0	1	4	5
HSRT	1	0	3	4
SRT	2	0	0	2
HSET	0	2	2	4
HSRE	0	0	2	2
HSRET	0	0	1	1
Total	12	6	26	44

Le tableau XI montre que :

- chez les 12 malades en 1er traitement :
 - . 4 cas de monorésistance (soit 33,33%)
 - . 8 cas de polyrésistance (soit 66,67%) dont 2 à 2 antibiotiques, 5 à 3 antibiotiques et 1 à 4 antibiotiques.

- chez les 6 malades en retraitement pour rechute, 6 cas de polyrésistance (100%) dont 1 à 2 antibiotiques, 3 à 3 antibiotiques et 2 à 4 antibiotiques.

- chez les 26 malades en retraitement pour non stérilisation 26 cas de polyrésistance (100%) dont 8 à 2 antibiotiques, 10 à 3 antibiotiques, 5 à 4 antibiotiques et 1 à 5 antibiotiques.

Au total, chez les 12 malades positifs en 1^{er} traitement on note 4 cas de monorésistance soit 33,33%, 8 cas de polyrésistance soit 66,67% ; et les 32 malades en retraitement on a 32 cas de polyrésistance soit 100% .

On peut donc conclure que 66,67% des malades positifs pendant leur 1^{er} traitement et les malades en retraitement guériront difficilement de leur tuberculose.

NB Il est intéressant de signaler que parmi les 90 malades ayant bénéficié de culture et de test de sensibilité, 3 étaient séro positifs à HIV dont:

. 1 HIV₁ (+) et HIV₂ (+)

. 2 HIV₁ (+)

Tableau XII: Résultats de l'antibiogramme chez les 3 malades séropositifs.

Nom et Prénom	Sexe et Age	Régime de ttt	Résultat de la bacilloscopie	Résultat des tests d'identification	Résultat de l'antibiogramme H S R E T	Phéno-type de résistance	Sérologie
Y.Coulibaly	M 41	RC	A +	<u>M.tuberculosis</u>	R R S S R	HST	HIV ₁ (+)
M.Kouma	M 34	RC	N +	<u>M.tuberculosis</u>	R R R S R	HSRT	HIV ₁ (+)
T.Diarra	F 25	RC	N +	<u>M.tuberculosis</u>	R R S S R	HST	HIV ₁ (+) et HIV ₂ (+)

RC : Regime court de 8 mois

A : Ancien malade

N : Nouveau malade

ttt: traitement

Ces 3 malades hébergent tous des souches polyrésistantes. L'infection des séropositifs par des souches polyrésistantes est une observation de plus en plus courante dans la littérature et notamment aux Etats Unis.

VII Discussion .

C'est dans le souci d'apporter notre contribution à la politique nationale de lutte contre l'endémie tuberculeuse que nous avons réalisé ce travail. Il porte à la fois sur les nouveaux malades (Résistance primaire) et les anciens malades ("Résistance secondaire"). Nous avons voulu par ce travail aborder les aspects bactériologiques de la tuberculose chez les malades de notre échantillonnage. La culture, l'identification et les tests de sensibilité ont été faits par nous même au service de bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) à BAMAKO.

1. Culture :

Elle a donné dans l'ensemble 69,80% de positivité, 80 cultures n'ont pas poussé et 32 cultures ont été contaminées; ceci peut être attribué à plusieurs facteurs. Dans notre cas il pourrait s'agir:

- de prélèvements négatifs ensemencés car sur 404 prélèvements, 339 étaient positifs à l'examen direct
- de malades sous traitement dont les bacilles vus à l'examen direct pouvaient avoir perdu leur aptitude à pousser sur les milieux de culture, et être pratiquement morts.
- d'une méthode de décontamination brutale (Méthode de Petroff à la soude à 4%) avant l'ensemencement.
- du manque de milieu de Colestos et du Loewenstein-Jensen enrichi de pyruvate pendant un certain temps.

2. Identification (58)

Nous avons identifié 160 souches, dont 147 Mycobacterium tuberculosis (91,87%), 8 M.africanum (5%), et 5 M.atypiques (3,13%). Le pourcentage faible de M.africanum peut s'expliquer par le fait que, le milieu de colestos et le milieu de Loewenstein-Jensen additionné de pyruvate n'ont été utilisés que pendant une courte période. Les travaux précédents ont montré que le taux réel du Laboratoire est entre 65 et 70% pour M.tuberculosis et autour de 30% pour M.africanum. Ainsi SANGARE (S) (53) dans sa thèse trouvait 68,18% de M.tuberculosis et 29,54% de M.africanum en 1981-1982; Maïga (M.D) (41) trouvait 65% de M. tuberculosis contre 32% de M. africanum en 1982-1983.

Ces Résultats déjà disponibles confirment la fréquence plus élevée de l'infection à M.tuberculosis que celles des autres espèces de mycobacteries. En effet en 1972 -73 Grosset et Coll (4) trouvait 67,5% de M.tuberculosis en 1979-80, Touré et coll trouvaient 67,2% (59).

Des études similaires ont été faites dans d'autres pays et selon la publication O.C.C.G.E no 166/BIO-CM 7533/Doc Techn 80, nous avons noté :

- En Mauritanie: sur 156 souches 67 M.tuberculosis (57%)
- Au Niger à Niamey sur 264 échantillons: 54,4% de M.tuberculosis
- Au Burkina-Faso sur 55 souches à Dori, 49% de M.tuberculosis; en 1987 67,4% de M.tuberculosis contre 32,6% de M.africanum ; en 1975 sur 429 cultures positives 68% de M.tuberculosis contre 32% de M.africanum.
- Au Togo en 1981-1983 Touré et collaborateurs trouvaient 47,80% de M.tuberculosis contre 48,25% de M.africanum (62) on constate une analogie entre les taux de M.tuberculosis et M.africanum au Mali et au Burkina-Faso.

En Afrique centrale et de l'Est le taux de M.africanum reste encore élevé 60 à 90% (59). M.africanum ne se retrouvant pas en Afrique du Nord, apparaît donc comme une espèce de l'Afrique Noire. Il existe plusieurs Variétés d'africanum, dont les types Dakar, Yaoundé, Rwanda I et Rwanda II.

Nous constatons aussi que sur l'ensemble des 160 souches identifiées, la majorité provient de sujets de sexe masculin (69,37%). Des résultats identiques ont été obtenus par BA (A) en 1990 (71,74% d'hommes contre 28,26% de femmes); SANGARE(S) (70% d'hommes contre 30% de femmes en 1982) Tangara (D) trouvait 80% d'hommes contre 20% de femmes en 1990.

Par ailleurs nous constatons que la tranche d'âge la plus fréquemment représentée dans l'échantillon de sujets atteints est celle comprise entre 20 et 50 ans, c'est à dire la tranche d'âge la plus économiquement active de la population

3. Tests de sensibilité aux antibiotiques antituberculeux

Au total nous avons réalisé 90 antibiogrammes sur l'ensemble des 160 souches identifiées.

3.1 Résistance primaire:

La résistance primaire aux 2 antibiotiques les plus utilisés l'INH et la SM sont respectivement 22,70% et 18,20% d'après notre étude. La résistance à l'INH et /ou la SM a été trouvée dans 18% des cas en 1972-73 par GROSSET et Collaborateurs (30) dans 18% des cas en 1980 par Koumaré B; Truffot C; et GROSSET J., (37) dans 18,18% des cas en 1981 par SANGARE S, dans 22,41% des cas par Maïga en 1982 (41) et dans 23,26% des cas par Bâ A (4). Dans cette étude nous avons trouvé 22,70% des cas.

On constate donc que cette résistance se situait autour de 18% de 1972-73 à 1981-1982. A partir de 1982 on constate une légère augmentation qui semble se stabiliser autour de 22%.

- En Mauritanie: sur 156 souches 67 M.tuberculosis (57%)
- Au Niger à Niamey sur 264 échantillons: 54,4% de M.tuberculosis
- Au Burkina-Faso sur 55 souches à Dori, 49% de M.tuberculosis; en 1987 67,4% de M.tuberculosis contre 32,6% de M.africanum ; en 1975 sur 429 cultures positives 68% de M.tuberculosis contre 32% de M.africanum.
- Au Togo en 1981-1983 Touré et collaborateurs trouvaient 47,80% de M.tuberculosis contre 48,25% de M.africanum (62) on constate une analogie entre les taux de M.tuberculosis et M.africanum au Mali et au Burkina-Faso.

En Afrique centrale et de l'Est le taux de M.africanum reste encore élevé 60 à 90% (59). M.africanum ne se retrouvant pas en Afrique du Nord, apparaît donc comme une espèce de l'Afrique Noire. Il existe plusieurs Variétés d'africanum, dont les types Dakar, Yaoundé, Rwanda I et Rwanda II.

Nous constatons aussi que sur l'ensemble des 160 souches identifiées, la majorité provient de sujets de sexe masculin (69,37%). Des résultats identiques ont été obtenus par BA (A) en 1990 (71,74% d'hommes contre 28,26% de femmes); SANGARE(S) (70% d'hommes contre 30% de femmes en 1982) Tangara (D) trouvait 80% d'hommes contre 20% de femmes en 1990.

Par ailleurs nous constatons que la tranche d'âge la plus fréquemment représentée dans l'échantillon de sujets atteints est celle comprise entre 20 et 50 ans, c'est à dire la tranche d'âge la plus économiquement active de la population

3. Tests de sensibilité aux antibiotiques antituberculeux

Au total nous avons réalisé 90 antibiogrammes sur l'ensemble des 160 souches identifiées.

3.1 Résistance primaire:

La résistance primaire aux 2 antibiotiques les plus utilisés l'INH et la SM sont respectivement 22,70% et 18,20% d'après notre étude. La résistance à l'INH et /ou la SM a été trouvée dans 18% des cas en 1972-73 par GROSSET et Collaborateurs (30) dans 18% des cas en 1980 par Koumaré B; Truffot C; et GROSSET J. (37) dans 18,18% des cas en 1981 par SANGARE S, dans 22,41% des cas par Maïga en 1982 (41) et dans 23,26% des cas par Bâ A (4). Dans cette étude nous avons trouvé 22,70% des cas.

On constate donc que cette résistance se situait autour de 18% de 1972-73 à 1981-1982. A partir de 1982 on constate une légère augmentation qui semble se stabiliser autour de 22%.

Tableau XIII: Evolution de la résistance primaire à certains antibiotiques (INH, SM et Rifampicine) au Mali de 1972 à 1991.

Antibiotiques	1972-73 GROSSET et Coll (30)	1979-1980 TOURE (IM) (59)	1980-1981 TOURE (IM) (63)	1981-1982 SANGARE. S (53)	1982-1983 MAIGA (MD) (41)	1989-90 BA (A) (4)	1990-91 Ce travail
INH seul	-	-	35%	11,10%	12,06%	23,26%	22,72%
SM seul	-	-	33,3%	5,50%	5,17%	20,93%	18,20%
INH et SM	-	-	-	20,80%	5,17%	18,60%	18,20%
INH et/ou SM	18%	30%	16%	18,18%	22,41%	23,26%	22,70%
Rifampicine	-	-	3,3%	1,40%	1,72%	2,32%	2,70%

A part les chiffres trouvés en 1979-1980 (59) la résistance primaire à l'INH et/ou la SM semble se stabiliser autour de 18% de 1972 à 1983. Mais à partir de 1982-1983 nous constatons une légère hausse de ce taux de résistance primaire qui semble se confirmer par notre étude dont le taux est 22,70% cette résistance est de l'ordre de 8% en France et en Algérie donc environ 3 fois moins élevée qu'au Mali.

La résistance primaire à la Rifampicine semble se stabiliser autour de 2%, elle était de 3,3% en 1980-1981 (63); de 1,72% en 1982 (Maïga); de 1,4% en 1981 (SANGARE). Pour la plupart des pays le taux global de la résistance à ce produit est inférieur à 5%.

Nous avons réuni dans le tableau suivant, les données concernant les taux de résistance primaire par antibiotique en Afrique de l'Ouest.

TABLEAU XIV: Données concernant la résistance primaire par antibiotique dans certains pays de l'Afrique de l'ouest.

Années	Pays	Auteurs	Nombre de Souches	% de Résistance aux AB				
				INH	SM	TB1	RIF	EMB
1966	Haute-Volta	ALBERT (2)	101	13%	18%	-	-	-
1967	"	"	115	14,8%	22,6%	-	-	-
1967	Sénégal	SARRAT(55)	202	20%	10,4%	-	-	-
1970	Haute-Volta	ALBERT (2)	109	20,2%	21,1%	-	-	-
1971	"	"	88	18,1%	14,7%	-	-	-
1977 - 1974	Côte d'Ivoire	ROUDAUT 51	318	10,4%	13,5%	-	-	-
1975 - 1976	Mauritanie	Villon(64)	90	13,3%	20,0%	-	-	23,9%
1975	Sénégal	DESOUZA 20	638	18,4%	18,7%	18,4%	-	-
1977	Côte-d'ivoire	ROUDAUT 51	583	5,6%	8,8%	-	-	-
1977	Haute Volta	REY (50)	-	19,5%	23,9%	25,8%	-	-
1978	"	"	-	8,7%	6,5%	47,8%	-	-
1980	Mali	TOURE (63)	120	35,0%	33,3%	31,7%	3,9%	39,2%
1981	"	SANGARE 53	33	11,1%	5,5%	-	1,4%	-
1981 - 1983	TOGO	TOURE (62)	227	19,82%	29,07%	30,97%	7,49%	-
1982	Mali	Maïga (41)	58	12,06%	5,17%	-	1,72%	-
1989 - 1990	"	BA (4)	43	23,26%	20,93%	20,93%	2,33%	9,30%
1990 - 1991	"	Ce travail	44	22,70%	18,20%	-	2,70%	0%

NB : Haute-Volta : Actuel Burkina-Faso

L'examen de ce tableau fait ressortir certain nombre de points :

- la fréquence de la résistance primaire est variable d'une région à une autre.
- dans la majorité des cas :
 - . de 1966 à 1977, la résistance à la SM est plus élevée qu'à l'INH, sauf en 1967 au Sénégal (20% pour l'INH contre 10,4% pour la SM) et en 1971 en Haute-Volta (18,1% pour l'INH contre 14,7% pour la SM).
 - . de 1978 à 1991 c'est le phénomène contraire qu'on a constaté, c'est à dire que la résistance à l'INH est plus élevée qu'à la SM, sauf au Togo où TOURE (IM) trouvait la résistance à la SM (29,07%) plus élevée que celle de l'INH (19,82%). Dans notre travail nous avons trouvé la résistance à l'INH (22,70%) plus élevée que celle de la SM (18,20%).

Dans le tableau suivant, nous avons réuni les résultats concernant la polyrésistance primaire en Afrique de l'Ouest.

Tableau XV : Résultats comparatifs de la polyrésistance primaire dans certains pays de l'Afrique de l'Ouest.

Années	Pays	Auteurs	Nombre de Souches	% de résistance aux associations d'Antibiotiques					
				INH + SM	INH + TB1	INH + RIF	SM + RIF	INH + SM+RIF	INH + SM+TB1
1966	Côte d'Ivoire	Delormas 51	130	-	4,7%	-	-	-	-
1973	Sénégal	N'Diaye 44	16	6,2%	6,2%	-	-	-	-
1974	Côte d'Ivoire	Roudaut 51	318	2,2%	0,63%	-	-	-	-
1974	Sénégal	N'Diaye 44	32	9,3%	6,2%	-	-	-	-
1975	"	"	116	6%	4,3%	-	-	-	-
1975 -1976	Mauritanie	Villon 64	90	23,0%	-	-	-	-	-
1976	Sénégal	N'Diaye 44	71	7%	2,8%	-	-	-	-
1977	"	"	66	0%	0%	-	-	-	-
1978	"	"	99	10%	4%	-	-	-	-
1981	Mali	SANGARE 53	33	18,18%	-	-	-	1,4%	-
1981 - 1983	TOGO	Touré 62	227	6,25%	2,34%	0,78%	1,56%	0%	1,56%
1982	Mali	Maïga 41	58	5,17%	-	-	-	-	-
1989 - 1990	Mali	BA (4)	43	18,60%	13,95%	0%	0%	2,33%	13,95%
1990 - 1991	Mali	ce travail	44	18,20%	-	-	-	2,70%	-

Le tableau XV montre que les polyrésistances sont surtout fréquente pour INH + SM notamment au Mali. Des actions sont à mener pour freiner le développement de cette polyrésistance.

3.2 Résistance chez les anciens malades

L'interprétation des résultats des tests de sensibilité chez les anciens malades, nous ont permis de faire les constatations suivantes:

- le taux de résistance chez les anciens malades non guéris ou en rechute est très élevé parmi les souches étudiées.
- Il s'agit le plus souvent d'une polyrésistance. En effet sur les 44 souches résistantes, on note seulement 4 souches monorésistantes (2 à l'INH et 2 à la SM), les 40 autres souches étant polyrésistantes.

VIII. Conclusion:

Au terme de cette étude sur la résistance aux antibiotiques du bacille tuberculeux au Mali, entreprise à Bamako au Laboratoire de bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) sur des prélèvements provenant dans la plupart des cas de l'Hôpital National du Point G et du DAT de Bamako, nous avons réussi à collecter 404 échantillons. Les résultats obtenus sont les suivants :

- Sur les 404 échantillons, 339 ont été positifs à la bacilloscopie directe.
- 282 cultures ont été positives (69,80%) sur les 404 produits pathologiques ensemencés.
- Nous avons pu identifier 160 souches dont 147 M.tuberculosis (91,87%), 8 M.africanum (5%) et 5 M.atypiques (3,15%). Nous n'avons pas rencontré de M.bovis dans notre étude.
- Sur les 160 souches identifiées et testées, 90 antibiogrammes ont pu être achevés et interprétés dont 44 nouveaux malades et 46 anciens malades.
- Parmi les 44 souches provenant de nouveaux malades ("Résistance primaire") 26 (59,09%) étaient sensibles à tous les antibiotiques testés (INH, SM, RIF, Tb1, EMB). Nous avons obtenu les taux de résistance les plus élevés, à l'INH (22,70%), la SM (18,20%) et à l'association INH+SM (18,20%). La résistance à la rifampicine a été très faible 2,70%
- Parmi les 46 souches provenant d'anciens malades, nous avons rencontré 2 souches sensibles à l'ensemble des antibiotiques testés, 4 souches monorésistantes (2 à l'INH et 2 à la SM), 40 souches polyrésistantes.

Les malades hébergeant des souches polyrésistantes, étant nombreux par rapport aux autres, selon les travaux de Mitchison le risque d'échec thérapeutiques est grand pour eux si on utilise le régime de retraitement classique.

Il serait souhaitable pour l'amélioration de la lutte anti-tuberculeuse d'utiliser de nouveaux antibiotiques tels que les fluoroquinolones (les nouvelles quinolones), ayant fait la preuve de leur efficacité dans le traitement de la tuberculose, ceci dans le souci de sauver les anciens malades portant des souches polyrésistantes./.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1. ACTUS (E) : An uncommon pathogenic Mycobacterium.
Arch. Inst. Pasteur, Tunis, 1956, 33, 245-257.
2. ALBERT (JP), MENARD(M), RETIF(M) :
Résultats des antibiogrammes pratiqués sur les mycobactéries isolées au Centre Muraz en 1967-1968.
Med. Afr. Noire 1969. 16, 425-426
3. AUDRIN (J): L'isolement du bacille tuberculeux à partir des produits pathologiques surinfectés.
Thèse Pharmacie Marseille 1955.
4. BA (A) : Nouvelle contribution à l'étude de la résistance primaire du bacille tuberculeux au Mali.
Thèse Pharmacie. Bamako 1989; No 18.
5. BARRY (V.C):
Development of the chemotherapeutic agent of tuberculosis in chemotherapy of tuberculosis. Ed Butte Worth, London 1964.p.46.
6. BOISVERT (H) :
L'identification des mycobactéries par la recherche de l'acide nicotinique.
Ann.Inst.Pasteur. 1960, 99, 600-607.
7. BOIVERT (H) :
L'ulcère cutané à Mycobacterium ulcerans, Etude bactériologique.
Bull. Soc.Path.Exo; 1977, 70, 125, 131.
8. BOULAHBAL (F), GROSSET (J) :
L'utilisation du bromure de cethyl.pyridinium comme milieu de transport des crachats tuberculeux.
Ann.Inst.Pasteur. d'Algerie. 26

9. BOULAHBAL (F) :

Manuel technique pour la recherche du bacille tuberculeux au microscope (aspects techniques et économiques).
Inst.Pasteur.Alger et Laboratoire Central de la Tuberculose 1983.

10. CALMETTE (A) :

L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux.
Ed.Masson et Cie. Paris 1936. 1024p

11. CANNETTI (G), GROSSET (J), CETRANGOLO (A) :

Une simplification technique de la methode des proportions pour tests de sensibilité du bacille tuberculeux : l'emploi d'une anse de platine.
Arch.Inst.Pasteur Alger 1964. 42, 14-37.

12. CANNETTI (G), RIST (N), GROSSET (J) :

Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la methode de proportions : méthodologie, critères de resistance, résultats, interpretation.
Rev. tub. Pneum. 1963, 27, 217-272.

13. CANNETTI (G) GROSSET (J) :

Techniques et indications des examens bactériologiques en tuberculose.
Edition de la Tourelle Saint-Mandé 1968.

14. CASTETS (M), RIST (N), BOISVERT (H) :

La variété africaine du bacille tuberculeux humain.
Med. Afr. Noire, 1969, 16, 321.

15. CASTETS (M), BOISVERT (H), GRUMBACH (F), BRUNEL (N), RIST (N) :

Les bacilles tuberculeux, type africain.
Rev. tuber. Pneumol. Paris, 1968, 32 : 179-184.

16. CLAVEL(S) :

Lysotypie du bacille tuberculeux dans quelques pays d'Afrique tropicale et en Guadeloupe. Rapports avec classification de Mycobacterium africanum.
Ann. Sclavo, 1975, 571-577.

17. U.I.C.T. (Commission de traitement) :

La chimiothérapie de la tuberculose considérations sur les médicaments antituberculeux et recommandations sur les régimes de chimiothérapie. Texte intégral du rapport présenté à la conférence mondiale de l'U.I.C.T. à Mexico en Septembre 1975.

18. U.I.C.T. (Commission de traitement) :

Recommandation de l'U.I.C.T. concernant la chimiothérapie antituberculeuse.
Bull. U.I.C.T, 1983, 58, 2-166.

19. COLETSOS (P.J) :

Milieux et modalités de culture adaptés à la réanimation et à la multiplication in vitro de Mycobacterium tuberculosis de vitalité réduite, de viabilité éphémère ou en état de quiescence.

Ann. Inst. Pasteur 1960 : 99, 475-495.

20. DE SOUZA (V.C) :

Contribution à l'étude bactériologique, épidémiologique et immunologique de Mycobacterium africanum
Thèse Médecine Dakar 1974, N°8.

21. DOUMBIA (S) :

Organisation de la chimiothérapie antituberculeuse à l'échelle Nationale au Mali (à l'exclusion de la région de Kayes)
Thèse Médecine Bamako 1978. No 17.

22. DISPENSARE ANTITUBERCULEUX DE BAMAKO (DAT) MALI.
1. Directive pour le traitement de courte durée de nouveaux cas de tuberculose pulmonaire. Manuel thérapeutique 1989. DAT. Bamako (Mali).
 2. Directive pour le régime court de retraitement Manuel thérapeutique 1989. DAT. Bamako (Mali).
23. Ministère de la santé Publique de la Solidarité et des personnes âgées. Division de l'Epidémiologie de Bamako (Mali) :
- . Annuaire statistique des services de Santé. Année 1990.
24. Division de l'Epidémiologie de Bamako (Mali) :
- . Données épidémiologiques de morbidité et de mortalité de vingt maladies transmissibles. Année 1989 Volume 1 juin 1990.
25. FRANKEL (G) :
- L'infection bacillaire et la tuberculose.
Ed Masson et Cie Paris 1936, 16.
26. GERNEZ RIEUX (CH), TACQUETA. DEVULDER (B), DE BRUYNE(J) :
- Les mycobactérioses humaines. Méthodes actuelles de diagnostic bactériologique. Aspects cliniques et épidémiologiques. XVIème congrès National de la tuberculose et des maladies respiratoires. Bordeaux 1970. Ed Masson. Paris, 1971.
27. GROSSET (J) :
- Les principes bactériologiques des traitements de la tuberculose.
Bull. U.I.C.T. 1989. 5, 20-70.
28. GROSSET (J) :
- Hierarchie des médicaments antibacillaires. Données biologiques.
XVIIIème congrès National de la tuberculose et des maladies respiratoires. Clermont. Ferrand 1974, 3-25.

29. GROSSET (J), TRUFFOT (C) :

Le laboratoire : son rôle dans le diagnostic et le traitement de la tuberculose.
Rev. Fr. Mal. resp. 1989, 3. 1-100.

30. GROSSET (J), SANGARE (S), RIST (N), MEYER (L) :

Caractères cultureux et biochimiques des bacilles tuberculeux isolés chez 230 tuberculeux pulmonaires au Mali.
Bull. U.I.C.T. 1974, 49 : 190-200.

31. HUET (M), RIST (N) :

Interêt des milieux au pyruvate pour la culture du bacille tuberculeux en Afrique Noire.
Bull U.I.C.T. 1973, 43 : 97-102.

32. HUET (M), RIST (N), BOUBE (G), POITIER (D) :

Etude bactériologique de la tuberculose au Cameroun.
Rev. Tuberc. Pneumol 1971, 35 : 413-426.

33. KANGOYE (L.T) :

Contribution à l'étude de la tuberculose de l'enfant en Afrique de l'Ouest.
Thèse Médecine Dakar 1976 N°19.

34. KEITA (B) :

Organisation du dépistage de la tuberculose pulmonaire à l'échelle nationale au Mali (à l'exclusion des régions de Kayes et Tombouctou).
Thèse Médecine Bamako, 1979, N°21.

35. KONNO (K) ET AL :

Differentiation, of human tubercle bacilli from atypical acid fast bacilli I-niacin production clinical application. Ann. Rev. Resp. Dis. 1958, 77, 669-80.

36. KOUMARE (B) :

Contribution à l'étude de la réduction des nitrates chez les mycobactéries.
Thèse Doctorat d'état ES Sciences Pharmaceutiques, 1977, Paris.

37. KOUMARE (B), TRUFFOT (C), GROSSET (J) :

Les espèces mycobactériennes isolées chez les tuberculeux pulmonaires au Mali et leur sensibilité aux antibiotiques.

Colloque Inst. Pasteur, Février 1981.

38. LAMBIN (S), GERMAN (A) :

Précis de microbiologie.

Ed Masson et Cie, Paris, 1969.

39. LANGERON (M), TACQUET (A) :

Comparaison des différentes méthodes d'homogénéisation et de purification des produits pathologiques en fonction des milieux de culture solides ou liquides.

Bull. Org. Mond. Santé. 1968. 39 : 663-680.

40. LEBAUX (B), ROCHEMAURE (J) :

Indication, Posologie et Association des grandes médications antituberculeuses.

Rev. P. Ch. ant. 1979 : 29-33.

41. MAIGA (MD) :

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

Thèse Pharmacie Bamako, 1982, 52p. No 3.

42. MEYER (L) :

Evolution, significations et caractères épidémiologiques de la résistance primaire de bacille tuberculeux en France de 1962- 1972.

Thèse Médecine Paris 1974.

43. MEYER (L), HUGO (D) :

Mycobactériologie en Santé Publique.

Inst. Pasteur. Paris 1980.

44. N'DIAYE (I) :

Surveillance et évolution des résistances aux antituberculeux des mycobactéries humaines isolées à Dakar (1973-1978).

Thèse Médecine Dakar, 1979, N°51.

45. MOUSTARDIER (G) :

Bactériologie médicale.
Ed. Maloine S.A. Paris 1972 : 923-993.

46. PARROT(R) BRAUN (J), GAILLAR (J.P), SORS (CH), GROSSET(J):

Les mycobactérioses pulmonaires à Mycobacterium xenopei. A propos de 50 cas, éléments de diagnostic.
Rev. Fr. Mal, Resp. 1979, 7 : 501-503.

47. PENSO (G) :

Prémier Colloque international sur les mycobactéries.
Ed. P.G. Jansens. Anvers 1959, P : 52-70.

48. PETTROF (S.A) :

Some cultural Studies on the tubercle bacilli. Bull
Johns Hepkins Hosp. 1915 : 276-279.

49. QUENUM (C), N'DIAYE (P.D), UM (J):

La tuberculose au Sénégal à travers les documents
anatomo-pathologiques.
Med. Af. Noire 1969, 4, 359-365.

50. REY, VILLON (A) :

Etude bactériologique succincte des souches de
bacilles tuberculeux isolées dans la région de Bobo-
Dioulasso en 1975 et 1976.
Doc. Techn. O.C.C.G.E. 1977, N°6567.

51. ROUDAUT (M), TIENDREBEOGO (M), SCHMIDT (D), DELORMAS(P):

La résistance initiale du bacille de Koch en Côte
d'Ivoire.
Rev. Fr. Mal. Resp, 1977, 5, 683-696.

52. SANGARE (B) :

Aspects bactériologiques de la tuberculose pulmonaire
à Bamako.
Mémoire Pharmacie 1980, Bamako. p102. No 2.

53. SANGARE (S) :

Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la tuberculose pulmonaire au Mali.
Thèse Pharmacie. Bamako 1982. No 8.

54. SEMEGA (C) :

Problèmes de la lutte antituberculeuse dans les zones rural du Mali. Etude critique du projet Pilote de Kayes. Thèse Médecine Bamako, 1977, N°25.

55. SARRAT (H) :

Infection à mycobactéries au Sénégal. Aspects biologique. Monographie Inst. Pasteur, Dakar, 1972, 210p.

56. SY (B) :

Considérations épidémiologiques et aspects radio-cliniques de la tuberculose pulmonaire au Mali.
Thèse Médecine Bamako 1974 N°6.

57. TACQUET (A), TISON (P) :

Nouvelle technique d'isolement des mycobactéries par le Lauryl sulfate de sodium.
Ann. Inst. Pasteur. 1961, 100 : 676-680.

58. TANGARA (D) :

Etat de sensibilité aux antibiotiques antituberculeux des souches de bacilles hébergés par les malades tuberculeux en traitement à Bamako.
Thèse Pharmacie 1990 Bamako 124p. No 29.

59. TOURE (IM) et SANGARE (S) :

Contribution à l'étude des souches de mycobactéries isolées à Bamako et leur sensibilité à différentes drogues antibacillaires.
Af. Med. 1980. 21, 10-20.

60. TOMAN (K) :

Dépistage et chimiothérapie de la tuberculose .
Ed Masson. 1980 p.79.

61. TOUNKARA (B) :

Contribution à l'étude de la place que doit occuper la Rifampicine dans le traitement de la tuberculose pulmonaire au Mali.
Thèse Médecine Bamako 1983, 83p. No 32.

62. TOURE (IM), TIDIANI (O), AMEDOME (A) et COLL :

Etude des résistances initiales des bacilles tuberculeux isolés d'expectorations de malades atteints de tuberculose pulmonaire du service de pneumophtisiologie du CHU de Lome (Rep du Togo).
Méd. Af. Noire. 1987, 34, 5, 429-442.

63. TOURE (I.M), SANGARE (S), DOUMBIA (S) :

Etude bactériologique de 235 expectorations provenant du service national de la tuberculose de la République du Mali.
Doc. Tech. O.C.C.G.E. N°8234. 1983.

64. VILLON (A), REY (J.L), SALIOU (P), RENAUDET (J), BONEL(J) :

Etude bactériologique de la tuberculose en Mauritanie. Identification et sensibilité aux antibiotiques des souches isolées (1976).
Doc. techn. O.C.C.G.E. N°6236.

65. YOUMANS (G.P), WILLISTON (E.H), FELDMAN (WH), HINSCHAW H.C) :

Increase in resistance of tubercle bacilli to streptomycin. Preliminary report. Proc. Staff. Meet. Mayo clin. 1946, 21, 126-127.

66. ZELLER (E.A), OWEN (C.A) :

Enzymology of the genus mycobacterium Adv. Tub. Resp. 1951, 4, 39-53.

67. Dictionnaire Larousse. Petit Larousse Ed 1967 30ème tirage

68. GIROUND (JP), MATHE(G), MEYNIEL(G) et COLL :

Pharmacologie clinique .
Base de la thérapeutique.
2ème édition . Expansion Scientifique française 1988
P 1477-1481.

69. DIALLOUX (M), PETIT PAIN (N), HENRY (C), WEBER (M) :

Détermination in vitro de la sensibilité des
mycobactéries aux fluoroquinolones.
Path. Biol, 1989, 37, 5, 346-349.

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.

Nom : GUINDO
Prénoms : Assana

TITRE DE LA THESE : ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ANTITUBERCULEUX DES SOUCHES DE BACILLES HEBERGES PAR LES MALADES TUBERCULEUX A BAMAKO

- . Nouveaux malades
- . Malades positifs après 2-3 mois
- . Malades en rechute et malades en retraitement

Année 1991 - 1992

Ville de soutenance : Ecole nationale de Médecine et de Pharmacie BAMAKO

Pays d'origine : MALI

Lieu de dépôt : Bibliothèque : Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie

SECTEUR D'INTERET : Bactériologie de la Tuberculose.

Résumé : Au cour de notre étude sur la résistance aux antibiotiques du bacille tuberculeux au Mali, nous avons collecté 404 prélèvements de produits pathologiques dont 339 positifs à la bacilloscopie directe. Sur les 404 échantillons tous ensemencés, 282 cultures ont été positives (69,80%).

Nous avons pu identifier 160 souches dont 147 M.tuberculosis (91,87%), 8 M.africanum (5%) et 5 M.atypiques (3,13%). Nous n'avons pas rencontré de M. bovis dans notre étude.

Nous avons réaliser, sur les 160 souches identifiées et testées, 90 antibiogrammes dont 44 nouveaux malades et 46 anciens malades. En analysant les résultats des antibiogrammes, nous constatons que :

- la résistance primaire intéresse essentiellement l'INH (22,70%) et la SM (18,20%) seuls le plus souvent, ou parfois en association (18,20%), les autres antituberculeux sont très peu en cause et les polyrésistances sont exceptionnelles.
- la résistance chez les anciens malades intéresse l'INH et la SM ; mais surtout en association, soit entre eux (15,22%), soit avec d'autres antituberculeux en particulier la Thioacétazone (Tb₁), la Rifampicine (RIF) et l'Ethambutol (EMB).
Parmi les 90 malades ayant bénéficié de test de sensibilité, 3 étaient séropositifs à l'HIV dont:
 - . 1 HIV₁(+) et HIV₂(+)
 - . 2 HIV₁(+)

MOTS-CLES : Mycobactéries ; antituberculeux ; monorésistance(s), polyrésistance(s), souche(s), Mycobacterium tuberculosis