

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

.....
UNIVERSITE DU MALI

.....
FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE
ET D'ODONTO STOMATOLOGIE

.....
ANNEE : 1997 / 1998

n° 20

**Etude de la sensibilité des mycobactéries de la tuberculose
aux antibiotiques antituberculeux dans le District de Bamako
et dans le cercle de Sikasso**

T H E S E

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 30 MARS 1998
DEVANT LA FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO
STOMATOLOGIE

PAR : Mademoiselle ADAMA SANGARE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ETAT)

JURY :

PRESIDENT :

Membres :

Professeur Souleymane SANGARE

Professeur Arouna KEITA

Docteur Oumar BA

Docteur Flabou BOUGOUDOGO

DIRECTEUR DE THESE : Professeur Brehima KOUMARE

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 1997--1998

ADMINISTRATION

DOYEN : **MOUSSA TRAORE** - PROFESSEUR

1er ASSESSEUR: **AROUNA KEITA** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

2ème ASSESSEUR : **ALHOUSSEYNI AG MOHAMED** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

SECRETAIRE PRINCIPAL: **BAKARY CISSE** - MAITRE DE CONFERENCES

ECONOME: **MAMADOU DIANE** CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Ortho-Traumato.Sécourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-ptisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L.TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Enrérologie

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

D.E.R.CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGE

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousséini Ag MOHAMED	O.R.L. Chef de DER

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aissata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif Diakité	Gynéco-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mme DIALLO Fatimata.S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesth.-Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Ortho.Traumatologie
Mr Abdoulaye K.DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Tiéman COULIBALY	Ortho.Traumatologie
Mme TRAORE J.THOMAS	Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS

Mr Ibrahim ALWATA	Ortho.Traumatologie
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

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

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGÉ

Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yéniomégué A.DEMBELE	Chimie Organique
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M.CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S.MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sekou F.M.TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr N'yenigue Simon KOITA	Chimie organique
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Ibrahim I.MAIGA	Bactériologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique

D.E.R.DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Med.Int.
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, Chef de DÉR
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamamdou M. KEITA	Pédiatrie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGE

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtysiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Abdel Kader TRAORE	Med.Interne
Mr Moussa Y.MAIGA	Gastroenterologie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastroenterologie
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie

3. ASSISTANTS

Mr Adama D.KEITA	Radiologie
------------------	------------

D E R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1.PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
--------------------------	-------------

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGE

Mr Arouna KEITA	Matière Médicale (Chef de D.E.R.)
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharm.Chim.

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Elimane MARIKO

Pharmacologie

3. MAITRE ASSISTANT

Mr Drissa DIALLO

Mr Alou KEITA

Mr Ababacar I.MAIGA

Matières Médicales

Galénique

Toxicologie

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA

Santé Publique (chef D.E.R.)

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A.MAIGA

Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yanick JAFFRE

Mr Sanoussi KONATE

Anthropologie

Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE

Santé Publique

5. ASSISTANT

Mr Massambou SACKO

Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr Mamadou KONE

Physiologie

Mr Kaouïrou DOUCOURE

Biologie

Mr N'Golo DIARRA

Botanique

Mr Boubà DIARRA

Bactériologie

Mr Salikou SANOGO

Physique

Mr Bakary I.SACKO

Biochimie

Mr Sidiki DIABATE

Bibliographie

Mr Boubacar KANTE

Galénique

Mr Souléymanne GUINDO

Gestion

Mme DEMBELE Sira DIARRA

Mathématiques

Mr Modibo DIARRA

Nutrition

Mme MAIGA Fatoumata SOKONA

Hygiène du Milieu

Mr Nyamanto DIARRA

Mathématiques

Mr Moussa I.DIARRA

Biophysique

Mr Mamiadou Bocary DIARRA

Cardiologie

Mme SIDIBE Aissata TRAORE

Endocrinologie

Mr Siaka SIDIBE

Médecine Nucléaire

PERSONNEL D' ENCADREMENT (STAGES & TP)

Docteur Antoine Niantao	H.G.T.
Docteur Kassim Sanogo	H.G.T.
Docteur Chompere Kone	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy Dicko	P.M.I.SOGONINKO
Docteur Mohamed Traore	KATI
Docteur N'DIAYE F. N'DIAYE	IOTA
Docteur Hamidou B.SACKO	HGT

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr A.E.YAPO	BIOCHIMIE
Pr M.L.SOW	MED.LEGALE
Pr D. BA	BROMATOLOGIE
Pr M.BADIANE	PHARMACIE CHIMIQUE
Pr B.FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Dr G.FARNARIER	PHYSIOLOGIE

DEDICACES

Je dédie cette thèse

- A toutes les victimes de la tuberculose (In memorium) particulièrement à mon père : Feu Dramane SANGARE.

A toi, qui a toujours été soucieux de notre réussite, toi qui aurais tant voulu voir ce jour, mais tu fus cruellement arraché à notre amour au moment où nous avions le plus besoin de toi. Nous oeuvrerons toujours pour que d'autres n'aient plus à subir le même sort que toi.

Tu seras toujours présent dans nos coeurs
Dors en paix PAPA.

- A ma mère : Aminata SANGARE

Profondément maternelle, tu as été un père et une mère.

Toujours soucieuse de notre bien - être et de notre réussite tu t'es imposée des privations et n'as jamais cessé d'être disponible pour nous, même aux moments les plus critiques.

Cette thèse n'est que le fruit de la belle éducation, de l'amour du travail que tu nous a inculqué. Que Dieu te bénisse et te garde longtemps à nos côtés.

- A ma tante : Feu Madouko SANGARE

Mère, tu l'as été pour moi. Au moment où je tourne une page importante de ma vie, je ne peux m'empêcher de penser à toi. Ta générosité et ton amour pour moi font que je t'oublierai jamais.

Dors en paix NAKÔ.

- A mes grands - parents maternels

Le savoir vivre en masse, le comportement envers le prochain, la franchise appris à vos côtés resteront des règles d'or dans ma mémoire.

Paix à vos âmes Toumani et Aminata.
Profonde reconnaissance Filamousso.

- A ma sœur Malado et mes frères : Lassine, Amadou, Toumani.

Vous resterez pour moi l'image de cette belle entente, de l'amour, de l'entre - aide et la solidarité.

Que le tout puissant assiste notre famille.

- A Seydou KONE

Sans tes conseils, je ne serai pas là aujourd'hui. Tu a su me guider et me montrer la voie à suivre. Ton aide matérielle et morale ne m'a jamais fait défaut. Je te souhaite une réussite dans tout ce que tu entreprends.

Eternel reconnaissance.

REMERCIEMENTS

- Au corps professoral de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie pour la qualité des cours dispensés.
- Au personnel du laboratoire de bactériologie de l'INRSP notamment Mamadou DIAKITE, Amadou YOSSI, Seydou DIARRA pour avoir guidé mes premiers pas dans la recherche.
- A tout le personnel du dispensaire antituberculeux
Profonde gratitude.
- A tout le personnel du service de Pneumo - phtisio de HPG.
- A tous mes frères, cousins paternels et maternels.
- A toutes mes soeurs, cousines paternelles et maternelles.
- A mon beau - frère Kibiss pour son aide morale et matérielle
Profonde reconnaissance
- A mes belles - soeurs Founè et Binta dite Bollo pour votre soutien.
- A Macoura TRAORE (Gaga)
Pour l'immense affection maternelle dont tu m'as toujours fait preuve.
Profonde reconnaissance.
- A Tonton Ben NIANGADO
Je me souviendrai éternellement de tous les efforts consentis pour nous. Je n'aurai de cesse de t'être reconnaissante.
Que Dieu te guide et exhausse tes vœux.
Reçois ici mon indéfectible attachement.
- A Cheick SAGARA
pour votre constante participation, votre enthousiasme dans l'exécution de cette tâche fastidieuse.
Je vous souhaite beaucoup de satisfaction dans votre carrière.
- A tout le personnel de la Cellule Technique du District de Bamako (unité d'adressage).
Pour votre accueil et votre esprit de compréhension.
- A mes amis(es)
Safoura BERTHE, Henda TOURE, Cheick Lack Daff, Sourabhiet, KOÏTA, pour le chemin parcouru ensemble « l'amitié est tout ce qu'il y a de plus beau ».
- A Safia KOUNTA, Miss KANE Nana, Ramatoulaye SANGARE
Pour votre constante fidélité : Amitiés sincères.

- A Florence GRIEFFET.

Pour son soutien moral, ses conseils
Bonne chance dans ta vie future.

- A tous mes camarades de promotions

Pour les moments de joie et de peines passés ensemble.
A vous tous, je souhaite un heureux parcours dans la vie.

- Au docteur Amara SANOGO

Pour son amitié fidèle, son soutien moral.
Profonde gratitude.

- A Mamadou DIANE (Econome FMPOS)

Pour son aide et son soutien moral et matériel
toute ma reconnaissance.

- A Ladjji DEME, Alou DIAKITE

Pour leur soutien et leur aide désintéressée

- A Mme BERTHE Fanta SIDIBE

Pour ses conseils, ses angoisses pour notre cause. Je te souhaite tout le bonheur possible dans ton foyer.

- A Feue Mariam SIDIBE

Très chère amie arrachée à notre affection à la fleur de l'âge.
Tu resteras toujours présente dans nos coeurs.
Que ton âme repose en paix.

- A la direction régionale de la santé publique de Sikasso.

- Au Directeur régional de la santé publique de Sikasso : Dr Oumar BAH et son adjoint Dr Diakalia KONE.

Pour votre enthousiasme, votre chaleur humaine et votre constante disponibilité.
Sincères reconnaissances.

- A Drissa SANOGO chauffeur à la DRSP de Sikasso.

- Au médecin - chef du service socio - sanitaire de cercle de Sikasso : Dr Yacouba SIDIBE et son personnel.

- Au personnel du laboratoire des grandes endémies du SSSC de Sikasso :

Mahamadou YATTARA, Adjara DIAKITE, Salif TRAORE, Amadou DIARRA. Pour votre sympathie, votre amour du prochain, votre franche collaboration à la réalisation de ce travail.

- A Mamouni, Mozon KONE, Paul, Awa DJAN, Mariétou SIDIBE, Dialia KONE, Mamou GOÏTA.

Pour avoir rendue agréables mes séjours à Sikasso.

- A Salia DIALLO et sa femme.

Pour votre gentillesse, votre sympathie et votre générosité. Vous m'avez accepté avec allégresse et sincérité. Heureux ménage à vous.

- A Mahamadou KONATE

Tu m'as aidé, encouragé, aimé. En retour je te souhaite bonne chance dans toutes tes entreprises.

Sincères affections

- A tous ceux qui n'ont pas été cités et qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réalisation de cette thèse.

- A notre maître et président de jury, Monsieur le Professeur Souleymane SANGARE :

Professeur agrégé en Pneumo-phtisiologie.

Consultant de la tuberculose à l'OMS au Mali.

Chargé de cours à la FMPOS.

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

Dans le milieu de la recherche scientifique votre rigueur et votre dévouement dans le travail,

l'étendu de vos connaissances ainsi que vos qualités humaines ont forcé notre admiration.

Veuillez trouver ici l'expression de notre profond respect.

- A notre maître et juge, Monsieur le professeur Arouna KEÏTA :

Professeur agrégé en pharmacognosie.

Chef du département Médecine Traditionnel à l'INRSP.

Chargé de cours de pharmacognosie à la FMPOS.

Premier accesseur en exercice à la FMPOS.

Nous avons été honoré de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de faire partie de notre jury.

Vos qualités d'éminents chercheurs, vos immenses connaissances scientifiques, votre simplicité, votre disponibilité et surtout vos conseils judicieux font de vous un maître très admiré.

En vous remerciant pour l'aide précieuse que vous nous avez accordé trouvez ici, l'expression de notre profonde gratitude.

- A notre maître et juge, Monsieur le Docteur Oumar BA:

Docteur en Médecine.

Spécialiste en santé Publique.

Directeur régional de la Santé Publique de Sikasso.

Nous avons pu apprécier l'étendu de vos savoirs, vos qualités humaines et professionnelles et votre disponibilité pendant tout le temps que nous avons passé ensemble dans votre service.

Malgré vos multiples occupations, vous nous faites l'honneur de faire partie de notre jury.

Permettez-nous de vous en remercier et de vous témoigner notre profonde gratitude.

- A notre maître et juge, Monsieur le Docteur Flabou BOUGODOGO :

Chef du service de bactériologie Virologie et du département de la formation à l'INRSP.

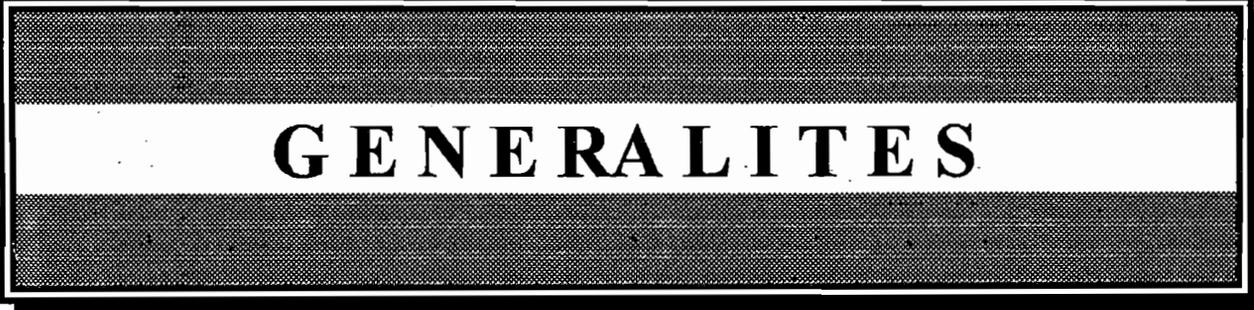
Maître assistant à la FMPOS.

CES en microbiologie.

Au cours de ce travail, nous avons pu apprécier l'étendu de votre savoir et vos immenses qualités humaines. Votre rigueur scientifique, votre souci du travail bien fait et votre constante disponibilité ne sauraient nous laisser indifférents.

C'est avec beaucoup de compréhension et de générosité que vous nous avez consacré des heures précieuses malgré vos multiples occupations.

Recevez ici notre profond respect et estimation et tous nos voeux de réussite pour les événements futurs.



GENERALITES

I - INTRODUCTION

la tuberculose est une maladie infectieuse et contagieuse connue depuis plus de cinq millénaires, due à différentes espèces du genre *Mycobacterium*. L'incidence de la maladie avait été réduite depuis la fin de la dernière guerre mondiale et jusqu'au milieu des années quatre-vingts, on considérait que la tuberculose ne représentait plus un problème majeur de santé publique dans les pays industrialisés (16, 26). Néanmoins, depuis plusieurs années, nous assistons à une recrudescence de cette maladie, non seulement dans les pays en voie de développement mais également dans les pays industrialisés dont l'ampleur est croissante en raison de l'épidémie de SIDA et de l'émergence de souches de *M.tuberculosis* résistantes à au moins deux des antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement.

La tuberculose, citée parmi les maladies émergentes et réémergentes par l'OMS représente donc à l'échelle mondiale un énorme problème de santé publique.

Les indicateurs épidémiologiques de la tuberculose restent alarmants. En 1995 un tiers environ des 15 millions de personnes infectées par le VIH dans le monde entier l'étaient également par *M.tuberculosis*: 70% des personnes présentant une co - infection vivent en Afrique subsaharienne, 20% en Asie et 8% en Amérique latine et aux caraïbes (55).

La tuberculose est considérée comme la première cause de mort des sujets séropositifs (VIH) avec 40% de décès.

Environ 9 millions de nouveaux cas de tuberculose ont été dépistés dans le monde entier en 1995 avec trois millions de décès.

95% des tuberculoses et 98% des décès se produisent dans les pays en voie de développement où 75% des cas surviennent dans le groupe d'âge économiquement productif (15 à 50 ans).

L'incidence a été estimée en 1992 à 1,18 millions de cas soit un taux de 214 cas pour 100.000 habitants avec un taux de mortalité très élevé de 39,6%.

En France on estime à 15 - 17 pour 100.000 habitants l'incidence de la maladie. (67).

Les incidences les plus faibles sont observées en Australie, Canada, Danemark, Pays Bas (< 15 pour 100.000 habitants)

Au Mali, on estime à 180 pour 100.000 habitants l'incidence annuelle des nouveaux cas bacillifères (83)

Selon les statistiques (70) de la division de l'Epidémiologie du Ministère de la Santé de la Solidarité et des Personnes Agées, la tuberculose pulmonaire a été classée en 5^{ème} position parmi les grandes endémies après le paludisme, la rougeole, la bilharziose et l'hépatite virale comme cause de morbidité.

Selon les rapports d'activités de la section de la tuberculose et des immunisations, on note :

1741 malades dépistés en 1994

1866 malades dépistés en 1995

2173 malades dépistés en 1996

Dans le cercle de Sikasso (18) (3^e région administrative du Mali) on note

254 malades dépistés en 1994

244 malades dépistés en 1995

224 malades dépistés en 1996

- A notre maître et directeur de thèse, monsieur le Professeur Bréhima Koumaré :

Professeur agrégé en microbiologie.

Président de la SOAMI (Société Africaine de Microbiologie).

Consultant à l'OMS à Abidjan.

Chargé de cours à la FMPOS

Vous nous avez accueilli à bras ouvert, confié ce travail, accepté sa direction et nous faire bénéficier de votre très grande compétence en matière de tuberculose. Ceci est un honneur pour nous.

Nous avons apprécié votre rigueur dans la recherche scientifique, votre dévouement dans le travail. Vos qualités exceptionnelles de formateur et l'étendue de vos connaissances, jointes à votre générosité et votre modestie font de vous une référence.

Permettez nous de vous renouveler notre profond respect.

ABREVIATIONS

ADN : Acide Desoxyribo - Nucléique
ARN : Acide Ribonucleïque
BAAR : Bacille Acido - Alcoolo - Resistant
BCG : Bacille Calmette Guerin
BK : Bacille de Koch.
CCD : Chimiothérapie de Courte Durée
Cdm : Coefficient de dépassement moyen
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CS : Cyclosérine
DAT : Dispensaire antituberculeux
EMB = E : Ethambutol
INH = H : Isoniazide
LCR : Liquide Céphalo Rachidien
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAS : Acide Para - Amino - Salicylique
PNLT : Programme National de Lutte contre la Tuberculose
Rif = R : Rifampicine
Tb₁ = T : Thiacétazone
TCH = Hydrazide de l'acide Thiophene - 2 - Carboxylique
INRSP : Institut Nationale de Recherche en Santé Publique
SSSC : Service Socio - Sanitaire de Cercle

SOMMAIRE

GENERALITE	1
I - INTRODUCTION	2
II - HISTORIQUE	5
III - NOMENCLATURE ET CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES	7
1) Nomenclature	7
2) Classification.....	7
IV - LE BACILLE DE LA TUBERCULOSE	10
1) Définition.....	10
2) Caractères bactériologiques.....	10
3) Pouvoir pathogène.....	14
4) Diagnostic biologique des infections dues au bacille tuberculeux.....	16 27
5) Tests de sensibilité aux antibiotiques	29
6) Traitement des infections dues au bacille tuberculeux	51
METHODOLOGIE	52
1) Sujets étudiés.....	52
2) Matériels.....	54
3) Méthodes.....	70
RESULTATS	71
1) Produits pathologiques étudiés (PP)	72
2) Résultat de l'examen microscopique :.....	73
3) Résultat de la culture	75
4) Identification des souches :.....	75
5) Test de sensibilité des souches aux différents antibiotiques utilisés	88
DISCUSSIONS	99
CONCLUSIONS	100
RECOMMANDATIONS	
ANNEXES	

Les services de santé de la région ont dépisté 516 cas de tuberculoses dont 469 pulmonaires en 1996. Le taux de guérison dans la région est de 16,47%. La région ne disposait que du schéma long de 12 mois de traitement et ce jusqu' en juillet 1997. Ce temps long de traitement associé souvent au difficile accès du centre de santé aux malades venant des villages, explique les abandons (40,31%) et les échecs de traitement (9,49%) occasionnant de faible taux de guérison. Le taux de décès est de 7,55% ; c'est pourquoi le Programme National de Lutte contre la Tuberculose au Mali a introduit le régime court de 8 mois de traitement qui pour l'instant ne concerne que 2 cercles de la région : le cercle de Sikasso et le cercle de Koutiala. La région est facilement accessible à partir de la côte d'ivoire et du Burkina Faso (par voie routière) où la prévalance du VIH est plus élevée.

La multirésistance du bacille tuberculeux, définie comme la résistance à au moins l'isoniazide et la rifampicine accompagnée ou non de résistance à d'autres anti - tuberculeux, compromet gravement les chances de guérison.

La multirésistance *secondaire* se développe lorsque des problèmes thérapeutiques (erreurs de prescription, non observance) entraînent la sélection successive de bacilles mutants résistants. Si les malades porteurs de bacilles multirésistants contaminent des personnes de leur entourage qui deviennent à leur tour malades, il s'agit de résistance *primaire*.

Certains facteurs comme : la possible recrudescence de la tuberculose dans les populations marginalisées, le problème d'accès aux soins, le relâchement de la vigilance vis à vis de la tuberculose, la détérioration de la prise en charge et l'épidémie de VIH pourraient favoriser l'émergence de cas à bacilles multirésistants.

Depuis quelques années il a été signalé une augmentation de la prévalance de la multi - résistance dans certaines régions du monde :

3,5% en 1991 à New - York (67)

0,5% en 1992 en France (67)

17,9% en 1988 au Sénégal (15)

18,20% en 1990 au Mali (32)

A l'instar de notre pays, le Mali, des programmes nationaux de lutte contre la tuberculose ont été mis sur pied pour combattre la maladie, avec les objectifs suivants :

- Objectif général : réduire la transmission du bacille tuberculeux au sein de la population.

- Objectifs spécifiques

- Dépister 70% des nouveaux cas de tuberculose pulmonaire à frottis positifs d'ici l'an 2000 ;
- traiter et guérir 85% des cas dépistés ;
- Réduire à moins de 10% le taux des défailants au traitement.
- Diminuer l'impact de l'infection VIH sur l'incidence de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive en collaboration avec le programme national de lutte contre le sida.

Les stratégies sont :

- Prophylaxie : Vaccination par le BCG de tous les enfants dès la naissance.
- Formation et/ou recyclage du personnel.
- Extension progressive du dépistage et de la chimiothérapie de courte durée à tout le pays.

Le rôle du laboratoire de référence de la tuberculose, sis à l'INRSP est d'évaluer régulièrement l'état de la sensibilité des souches de mycobactéries isolées au Mali.

C'est dans ce cadre que nous nous sommes proposés d'étudier la sensibilité des souches hébergées par les malades de Bamako (régime court de 8 mois) et d'une autre localité utilisant le régime long de 12 mois. Pour ce faire nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Identifier les différentes espèces de mycobactéries isolées à Bamako et à Sikasso
- Etudier leur sensibilité aux antibiotiques antituberculeux utilisés dans les schémas thérapeutiques
- Déterminer la fréquence des phénotypes de résistance chez les nouveaux malades (résistance Primaire) et chez les anciens malades (résistance secondaire).

Pour rédiger ce travail nous avons adopté le plan suivant :

- HISTORIQUE
- NOMENCLATURE ET CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES
- LE BACILLE DE LA TUBERCULOSE
- SUJETS ETUDIES, MATERIELS ET METHODES
- RESULTATS
- DISCUSSION
- CONCLUSION

II - HISTORIQUE

Connue depuis la plus haute antiquité, la tuberculose est restée longtemps confondue avec les autres affections de la poitrine.

Des momies égyptiennes, notamment celle de TOUTAKHAMON seraient porteuse de séquelles de tuberculose.

L'histoire de la tuberculoses se résume en quatre (4) grandes étapes (77).

1) Etape obscure :

La tuberculose est longtemps restée une pathologie méconnue des hommes et cela en dépit des multiples tentatives de démystification auxquelles se sont livrés les chercheurs des temps anciens.

C'est ainsi qu'Hippocrate accorde une place importante aux phtisies lorsqu'il mentionne les infections broncho-pulmonaires et pleurales ; suivies plus tard par GALIEN COELIUS ANRELIUS qui a tenté de décrire la maladie par ses différents aspects cliniques (9).

Il a fallu attendre l'époque de la renaissance du 19^{ème} siècle en Europe pour percevoir un changement au niveau de la maladie. A savoir, lorsque Cirolumo Fracastor de Vérone a entièrement rénové la notion traditionnelle de phtisie en plaçant la tuberculose dans le même cadre que les autres maladies infectieuses, avec la mise en cause, pour une première, des micro-organismes dans la pathogénicité et la transmission inter humaine de la maladie (9).

Le 19^{ème} siècle est donc l'ère des grandes rénovations en matière de tuberculose.

En 1865, Villemin soupçonne le caractère microbien de la tuberculose. Il démontre le caractère infectieux de la maladie en inoculant (par voie sous-cutanée) au lapin et au cobaye des broyats de lésions humaines. La maladie ainsi provoquée est transmissible d'un animal à un autre et est identique à la phtisie humaine. Il conclut que « La tuberculose est une maladie spécifique. La cause réside dans un agent inoculable ».

En 1882, Robert Koch découvre le bacille tuberculeux qui porte son nom « Bacille de Koch » où « BK ».

En 1885, Roetgen découvre les rayons X permettant le diagnostic radiologique de la tuberculose.

2) Etape bactériologique :

En 1882, Robert Koch découvre le bacille tuberculeux humain : *Mycobacterium tuberculosis* et réussit sa culture sur sérum de bœuf coagulé en 1884. Il mit au point la tuberculine en 1891 après avoir décrit le phénomène immunologique qui porte son nom.

Peu après, Ehrlich découvre l'acido-alcoolo-resistance qui est la propriété fondamentale des mycobactéries. Et ceci en montrant qu'en le colorant par la fuschine anilinée, il n'est pas décoloré par l'acide nitrique au tiers.

Ziehl met à la place de la fuschine anilinée de la fuschine phéniquée et Neelsen divulgue la méthode de coloration dite de Ziehl - Neelsen en 1885.

En 1907, Von Pirquet décrit les réactions cutanées tuberculiniques.

A partir de 1895, de nombreuses mycobacteries furent découvertes. Le genre *mycobacterium* est créé en 1896 par Newman.

Dietrich en 1899, Laporte en 1940 (80), Feldman en 1943 (23), relèvent la présence de *mycobacteries atypiques* dans de nombreux prélèvements.

En 1920 LOEWENSTEIN et JENSEN mettent au point un milieu de culture synthétique répondant parfaitement aux besoins métaboliques des mycobactéries exception faite de *Mycobacterium leprae* qui reste incultivable sur milieu artificiel.

3) Etape vaccinale :

CALMETTE et GUERIN inventent le bacille qui porte leur nom : Bacille - Calmette - guerin : B.C.G de 1908 à 1920 . Il s'agit du bacille tuberculeux bovin atténué.

En 1921, il a été réalisé avec succès la première vaccination au B.C.G chez l'homme. Marquant ainsi une étape très importante dans la prophylaxie de la maladie.

4) Etape thérapeutique :

L'effet bactériostatique des sulfamides a été découverte en 1940 chez le cobaye infecté par le bacille tuberculeux. Pour la première fois, la démonstration est faite qu'un agent chimiothérapeutique, dérivé de la dapsonne connu sous le nom de promine (Diaphenyl sulfone) peut arrêter l'évolution d'une tuberculose chez le cobaye (6). La dapsonne et les autres sulfones étaient inefficaces sur la tuberculose humaine mais étaient efficaces dans le traitement de la lèpre. La dapsonne est toujours le médicament anti-lèpreux de base (5).

- En 1944, Waksman démontre la remarquable efficacité de la streptomycine, antibiotique isolé d'un micro-organisme du sol : streptomyces griseus., sur la tuberculose expérimentale du cobaye. Peu après, elle a été utilisée pour la première fois chez l'homme (70 et 23).
- En 1949, découverte du rôle de l'acide para-amino salicylique (P.A.S) qui prévient l'apparition de la résistance aux médicaments lorsqu'il est donné en association avec la streptomycine. Depuis lors, l'administration de deux produits où plus en association est considérée comme un des éléments essentiels d'une bonne chimiothérapie antituberculeuse.
- En 1952, découverte de l'activité antituberculeuse de l'isoniazide, composé chimique synthétisé quarante ans auparavant. Depuis son introduction, l'isoniazide (INH) est demeuré l'un des composants majeurs de tout régime thérapeutique de première ligne, en raison de sa haute efficacité, de sa toxicité relativement faible et de son coût minime.
- En 1956, résultats étonnants des essais thérapeutiques contrôlés effectués à Madras, démontrant que le traitement ambulatoire à domicile était très efficace, sans pour autant augmenter le risque de contagion pour l'entourage. Ce qui entraîne l'abandon du traitement sanatorial traditionnel et a ouvert de nouvelles perspectives pour l'élaboration dans les pays en développement d'un programme national de traitement applicable dans l'ensemble du pays.
- En 1972, introduction des régimes de courte durée permettant la réduction de moitié la durée classique du traitement sans diminuer l'efficacité thérapeutique. (82)
- En 1982, définition d'une liste de six médicaments essentiels dans la tuberculose par la commission de traitement de l'Union Internationale Contre la Tuberculose.

1. Isoniazide ou INH
2. Rifampicine
3. Streptomycine
4. Thiacetazone ou thiosemicarbazone ou Tb1
5. Ethambutol
6. Pyrazinamide

III - NOMENCLATURE ET CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES

1) Nomenclature (48)

les mycobactéries appartiennent à la famille des mycobactériaceae, à l'ordre des *Actinomycetales*, classe des *Schizomycètes*. Cette famille renferme un seul genre : le genre *Mycobacterium* comportant de nombreuses espèces. L'espèce type est : *Mycobacterium tuberculosis* : (Lehman et Newman, Holotype *M. tuberculosis* souche H₃₇RV déposé à l'American type culture collection N° ATCC 27 294).

2) Classification

Les mycobactéries constituent un groupe très complexe et varié. Il existe plusieurs classifications ; pratiquement on les classe en deux groupes :

2 - 1) Les mycobactéries non cultivables sur milieux artificiels

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

2 - 2) Les mycobactéries cultivables sur milieux artificiels

Il s'agit de mycobactéries tuberculeuses toujours pathogènes pour l'homme et de mycobactéries atypiques ou opportunistes occasionnellement pathogènes.

2 - 2 - 1) Les mycobactéries tuberculeuses

Elles sont responsables de la tuberculose chez l'homme et l'animal. Les bacilles tuberculeux sont relativement résistants aux agressions chimiques et physiques et se différencient des autres germes par leur exigence métabolique. Ce sont des mycobactéries à croissance lente.

- ◆ *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille tuberculeux, ou bacille de Koch (BK) responsable de la tuberculose pulmonaire dans 90% des cas. Souche type : H₃₇ RV ATCC 27294.
- ◆ *Mycobacterium bovis* (48) ou Bacille bovin (est souvent considéré comme une variété de *M. tuberculosis* : *M. tuberculosis* types bovinus). 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, souche type ATCC 10210.

L'isolement de *Mycobacterium bovis* chez des malades humains a une signification épidémiologique et de santé publique toute particulière. L'homme est infecté par *M. bovis* au contact d'animaux infectés, surtout les bovidés, ou plus souvent par ingestion du lait contaminé. Ainsi le diagnostic d'un cas de tuberculose de l'homme causé par *M. bovis* (une anthroponose) doit être suivi par une recherche épidémiologique dont le but est d'identifier la source de l'infection.

⇒ *Mycobacterium africanum* Décrit par Sarat en 1968 et étudié la même année par CASTETS et COLL (11). Ce type particulier de bacille tuberculeux a été isolé chez l'homme en Afrique tropicale de l'Ouest et du centre ce type de bacille tuberculeux est apparu au cours d'enquête systématique avec une fréquence particulièrement élevée, souvent supérieure à celle de *M. tuberculosis*. Il est responsable de la tuberculose pulmonaire et extra - pulmonaire en Afrique au sud du Sahara.

Ces bacilles dits africains présentent schématiquement des caractères intermédiaires entre *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium bovis*.

Cependant, on distingue différents types en fonction des caractères culturels et biochimiques. Il existe une corrélation entre le type de bacille et le lieu géographique. A ces trois espèces s'ajoute :

♦ **Le B.C.G** (Bacille - Calmette - Guérin) (32)

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 tout en gardant son pouvoir immunogène c'est à dire son pouvoir protecteur.

2 - 2 - 2) Les mycobactéries atypiques

Ce sont généralement des mycobactéries saprophytes ou commensales qui peuvent occasionnellement entraîner des affections profondes et ganglionnaires, cutanées. En se basant sur la vitesse de croissance et la production de pigment RUNYON a classé les mycobactéries habituellement isolées dans les laboratoires cliniques (sauf les mycobactéries tuberculeuses) en quatre groupes.

La majorité des mycobactéries auparavant appelées « atypiques » peuvent être aujourd'hui identifiées précisément, celles qui ne le peuvent pas doivent être classées provisoirement dans un des groupes de Runyon.

GROUPE I Les mycobactéries photochromogènes

Ce sont des mycobactéries à croissance lente non pigmentées à l'obscurité et donnant des colonies dont la pigmentation n'apparaît qu'à la lumière. Dans ce groupe on note deux espèces :

- ♦ *Mycobacterium kansasii* Décrit par Hauduroy en 1955, il est encore appelé yellow bacillus ou *Mycobacterium luciflavum* responsable d'affections pulmonaires. Souche type : ATCC 12478. Croissance lente à 37°C.
- ♦ *Mycobacterium marinum* décrit par Aronson en 1926. Souche type : ATCC 927. Il a une croissance rapide (7 jours), responsable dans les pays tempérés d'ulcérations cutanées au cours des baignades dans des piscines souillées.

GROUPE II Les mycobactéries scotochromogènes

Ce sont des mycobactéries à croissance lente à 37°C, donnant des colonies pigmentées à la lumière et à l'obscurité.

- Exemples :**
- * *Mycobacterium scrofulaceum* responsable d'adénites sous-mandibulaires chez l'enfant.
 - * *Mycobacterium aquae* : quelques rares cas d'atteintes pulmonaires.

GROUPE III Les mycobactéries non chromogènes

Ce sont des mycobactéries à croissance lente, en général non pigmentées mais avec possibilité d'accumulation lente de pigment dans certaines cultures anciennes.

- Exemples :**
- * *Mycobacterium avium* responsable de la tuberculose aviaire.
 - * *Mycobacterium intracellulare* ou *batteyi* : affections pulmonaires ou ganglionnaires, osseuses parfois.
 - * *Mycobacterium xenopi* : affections pulmonaires chroniques et progressives.
 - * *Mycobacterium gastri*
 - * *Mycobacterium terrae*
 - * *Mycobacterium triviale*
- ||| ⇒ non pathogènes (77)
- * *Mycobacterium ulcerans* responsable d'ulcération cutanées profondes à tendance phagédénique dans les pays tropicaux.

GROUPE IV : Les mycobactéries à croissance rapide

Elles correspondent aux bacilles paratuberculeux de 1901. Culture visible en 3 à 5 jours.

- Exemples :**
- * Espèces non pigmentées
 - *Mycobacterium fortuitum*
 - *Mycobacterium chelonae* : sont souvent responsables d'abcès post traumatiques ou même souvent au point d'injection de produits médicamenteux supposés stériles.
 - * Espèces pigmentées
 - *Mycobacterium aurum*
 - *Mycobacterium vaccae*
 - * Espèces thermophiles
 - *Mycobacterium phlei*

Remarque : *Mycobacterium leprae murium* : des souches ont pu être cultivées en 1970 par Ogawa sur milieu au jaune d'œuf d'Ogawa (29).

Hors groupe

- *Mycobacterium paratuberculosis* : agent de l'entérite hypertrophiante
 - *Mycobacterium leprae murium* : agent de la lèpre du rat
- ||| ⇒ Qu'on peut rattacher au groupe III

IV - LE BACILLE DE LA TUBERCULOSE

1) Définition

Le bacille de la tuberculose est une bactérie appartenant au genre *Mycobacterium*. Trois espèces répondent à cette appellation : *M.tuberculosis*, *M.bovis* et *M.africanum*

Etymologiquement « Mycobacterium » signifie « Bâtonnet - Champignon » car ces bactéries peuvent former des extensions filamenteuses présentant parfois des branchements courts. Ces formes filamenteuses ramifiées sont rares et une faible perturbation suffit à les fragmenter en formes bacillaires ou coccoïdes.

2) Caractères bactériologiques

2-1) Habitat

Parasite strict de l'homme, il est capable d'infecter certaines espèces animales proche de l'homme (chien et plus rarement chat, perroquet, animaux de ménagerie). Il n'existe pas dans la nature mais peut survivre pendant plusieurs jours dans les expectorations.

2-2) Morphologie

Les mycobactéries sont des bâtonnets fins et droits ou légèrement incurvés de 2 à 5 μ de long sur 0,2 - 0,3 μ de large. Les extrémités sont arrondies, elles sont immobiles, se présentent en petits amas ou sous forme isolée. Elles ne sont pas colorables par les colorants usuels ; mais sont colorées par la fuchsine pheniquée selon la méthode de Ziehl - Neelsen. Elles retiennent le colorant malgré l'action combinée des acides et de l'alcool. Elles sont acido - alcoolo - résistants

2-3) Caractères cultureux

Les mycobactéries se caractérisent par leur exigence de culture et leur lenteur de croissance. Toute diminution en apport d'oxygène entrave sa culture. Ce qui explique son développement préférentiel dans les parties bien oxygénées de l'organisme.

- Production de pigments à l'obscurité et à la lumière (photo induction)
 - Vitesse de croissance : le temps de division est en moyenne 20 heures, les cultures ne seront positives qu'après une ou plusieurs semaines d'incubation à 37°.
 - Aspect des colonies (rugueux - taille)
- Il lui faut des milieux spécifiques enrichis de sérum, œuf, glycérine, albumine bovine
- Fécula de pomme de terre : préalablement utilisé
 - Milieu de Dubos
 - Milieu de Löwenstein - Jensen : milieu de référence pour la détermination de la nature eugonique ou dysgonique des colonies.
 - température optimum de croissance 35 - 37° C
 - pH optimum 6,8 - 7

2 - 4) Caractères biochimiques

Il est fondamental de considérer que le développement de colonies sur milieu de Löwenstein - Jensen n'est pas systématiquement synonyme de B.K. L'identification des mycobactéries repose maintenant sur une batterie d'épreuves biochimiques.

- Présence de la catalase à 22° et à 70°C
- Présence de la peroxydase
- Production d'acide nicotinique
- Réduction des nitrates
- Transformation du citrate de fer ammoniacal
- Présence de la glycosidase
- Présence de l'uréase
- Présence de l'aryl - sulfatase
- Hydrolyse du tween 80

les plus couramment utilisés sont les suivants :

* -- Catalase est un enzyme qui décompose l'eau oxygénée en libérant de l'oxygène. Sa présence dans une souche donnée se traduit par un dégagement gazeux lorsque l'on met cette souche en présence d'eau oxygénée. Toutes les mycobactéries synthétisent de la catalase à 22°C sauf certaines souches isoniazido - résistantes de *M. bovis* et *M. tuberculosis*. Il existe différentes souches distinguables les unes des autres par leur sensibilité thermique.

* -- Acide Nicotinique les souches de *M. tuberculosis* produisent une importante quantité d'acide nicotinique dont la présence est révélée par le bromure de cyanogène.

-- Réduction des nitrates les mycobactéries présentent une nitrate reductase leur permettant de réduire les nitrates en nitrites : ($\text{NO}_3 \text{ -----} > \text{NO}_2$)

2 - 5) Caractères antigeniques :

les mycobactéries ont une forte teneur en lipide 20 à 45%. Ceux-ci représentent 60% des constituants de la paroi.

Structure de la paroi : l'étude de la structure de la paroi du bacille tuberculeux permet de comprendre comment l'agent responsable de la tuberculose bouleverse, contourne ou/et neutralise les mécanismes cellulaires antimicrobiens (19).

Les mycobactéries en général et *Mycobacterium tuberculosis* en particulier, comme les bactéries Gram positif ont un épais peptidoglycane et pas de membrane externe. Mais elles ont à l'extérieur du peptidoglycane une structure lipopolysaccharidique qui rappelle, en plus épais et en plus dense, celle qui existe chez les bactéries à Gram négatif. Cette structure, composée d'arabino-galactane et d'acides mycoliques, acides gras de poids moléculaire très élevé, forme une barrière particulièrement hydrophobe autour du corps microbien.

En l'absence de membrane externe et de porine, les acides mycoliques empêchent les colorants habituels des bactéries de pénétrer à l'intérieur des mycobactéries. (28)

(habituellement dans la partie supérieure du bras gauche), à la dose de 0.05ml pour les enfants de 0 à 1 an et à 0.1ml pour ceux qui ont plus d'un an.

Chez l'homme, l'immunité n'empêche pas l'apparition de la maladie tuberculeuse chez certains sujets infectés. Le bacille de Calmete et Guerin est à l'heure actuelle le vaccin le plus immunisant et en même temps le moins pathogène dont on dispose pour créer l'état de surinfection.(29)

3) Pouvoir pathogène

3 - 1) Transmission

La tuberculose se transmet essentiellement par voie respiratoire. L'infection se fait par l'intermédiaire de gouttelettes de mucus infectées venant des poumons d'un malade atteint de tuberculose pulmonaire. Les gouttelettes sont produites quand le malade tousse, éternue, parle jusqu'à 3000 par accès de toux (55). Elles sèchent rapidement et se fixent à de fines particules de poussière. Les plus petites d'entre elles restent en suspension dans l'air pendant plusieurs heures. Seules les particules de moins de 10 µm de diamètre peuvent atteindre les alvéoles du poumon., Les plus grandes se déposent dans les voies aériennes supérieures d'où elles sont emportées par le courant mucociliaire pour être habituellement dégluties(91). D'autres modes de transmission du bacille tuberculeux, tels que le contact manuel avec les objets contaminés ou l'introduction artificielle du bacille dans ou sous la peau, sont très rares et sans importance épidémiologique. En dehors de l'éventualité d'un contact étroit avec des cas index dont l'expectoration est à frottis positifs, une proportion relativement faible de sujet en contact développe la maladie. Si le bacille tuberculeux atteint un individu, il peut ne pas l'infecter ; le nombre de micro-organismes viables reçus peut être insuffisant pour provoquer l'infection ; ils peuvent aussi ne pas pouvoir atteindre l'appareil respiratoire à une dose infectante suffisante. Même si le bacille arrive à infecter l'homme, l'infection n'entraîne une tuberculose active que chez à peu près 10% des individus qui ont acquis une infection primaire. La pénétration par la voie digestive peut être empruntée par le bacille, mais elle est exceptionnelle.

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

3 - 2) Rappel physiopathologique (1 - 53)

Les affections tuberculeuses chez l'homme sont très variées et les lésions qu'elles déterminent sont très polymorphes. D'autant plus que les facteurs intervenant dans la détermination de ces lésions sont nombreuses :

- Le nombre de bacilles infectants et leur vitesse de croissance au niveau des différentes localisations.
- La résistance de l'hôte et les phénomènes d'hypersensibilité au cours de l'infection.

Cependant, la localisation pulmonaire est de loin la plus fréquente, puisqu'elle est la plus contagieuse. Elle est aussi la plus grave par son caractère invalidant et son impact sur la vie socio-économique. Elle évolue en plusieurs étapes :

- Aussitôt après l'arrivée des bacilles tuberculeux dans les alvéoles pulmonaires par la voie aérienne, deux éventualités peuvent se présenter :
 1. Si le sujet est immunologiquement compétent, les bacilles sont captés par les macrophages tissulaires et sanguins. Il se développe une réaction fibreuse impliquant les lymphocytes et

les cellules épithélioïdes aboutissant à la formation d'une gangue calcifiée autour des bacilles qui sont du coup privés d'O₂. Si cette gangue persiste, la multiplication des bacilles peut s'arrêter là. Et elle peut évoluer vers une résorption totale ou une sclérose. Les symptômes disparaissent peu à peu et l'individu peut guérir sans faire une tuberculose maladie. Seulement, la radiographie montre des traces au niveau des poumons et l'I.D.R. reste positive : c'est le cas heureux.

2. Si le sujet est soumis à des conditions défavorables ; affaiblissement de l'organisme pour plusieurs raisons, qui produit une décalcification de la gangue suivie de la libération des bacilles, ou encore une forte exposition aux bacilles ; le sujet peut subir une réinfestation . et la maladie évolue vers le second stade. On observe alors deux types de lésions :

- Un type exsudatif :

Caractérisé par une réaction inflammatoire aiguë avec infiltration liquidienne suivie d'oedème pulmonaire avec présence de macrophages, de polynucléaires et plus tard de monocytes autour des bacilles tuberculeux. Si la multiplication s'arrête là, il y a évolution vers la résorption. Si au contraire, elle continue, on assiste à une 3^{ème} figure de la maladie.

- un type productif

Caractérisé par une lésion granulomateuse chronique, constituée par trois zones : une zone centrale avec de nombreuses cellules géantes contenant des bacilles tuberculeux, une zone médiane constituée par des cellules épithélioïdes et une zone périphérique formée par des fibroblastes, des lymphocytes et des monocytes.

Quand la zone centrale se nécrose, il se produit une homogénéisation solide qui aboutit à la formation du caseum processus fondamentale de la tuberculose.

Au bout de la caséification, on observe un très grand nombre de bacilles dans la lésion par rapport à sa fin où ce nombre diminue progressivement.

Cette lésion caséuse solide peut évoluer vers une résorption, soit vers une liquéfaction qui s'accompagne d'une véritable flambée bacillaire suivie d'une collection de pus dans une cavité délimitée par une coque scléreuse qui la sépare du parenchyme pulmonaire. Cette cavité peut s'ouvrir dans une bronchiole et s'accompagne d'une élimination des parties ramollies : c'est la caverne pulmonaire qui explique la chronicité de la tuberculose, sa marche envahissante et sa contagiosité surtout dans les familles où il y a promiscuité.

En effet cette caverne ne guérit pas spontanément et il se produit une multiplication bacillaire intense dans le revêtement nécrotique de sa coque et les bacilles se répandent par les bronches. On assiste à une forme disséminée dans le tissu pulmonaire.

Il peut y avoir des complications graves telles que : pulmonaire, hémorragie capillaire ou artérielle diffuse, atélectasie, des complications cardiaques surtout dans les formes bilatérales ; suite à une augmentation des résistances périphériques et aboutissant à une insuffisance cardiaque droite.

3 - 3) Les formes cliniques de la tuberculose

- * Tuberculose pulmonaire : attaque le poumon dans 80% des cas. A frottis positifs chez l'adulte, elle est hautement contagieuse. Les cas dont les crachats sont positifs à la culture seulement sont sept à dix fois moins contagieux que ceux qui sont positifs à l'examen microscopique.
- * Tuberculose extra-pulmonaire (T.E.P): se définit classiquement par l'atteinte d'un organe qui n'est pas les poumons. Elle peut survenir en la présence ou l'absence d'une atteinte pulmonaire patente. L'évolution d'une TEP peut être aiguë ou foudroyante ou au contraire être chronique et lentement évolutive sur plusieurs années. N'importe quel viscère peut être concerné (45). Elle atteint des organes aussi divers que les ganglions lymphatiques, les os et

les articulations, le tractus génito-urinaire, le système nerveux (méningite), l'intestin... Il est très rare que les malades porteurs de cette forme de tuberculose (sans atteinte pulmonaire associée) infectent d'autres personnes.

- * Tuberculose de l'enfant : chez les enfants on obtient difficilement des crachats. Le diagnostic de la tuberculose repose largement sur l'anamnèse, la notion de contact (familial), l'examen radiologique et le test tuberculinique.

En général tout enfant de moins de cinq ans, qui présente un test tuberculinique positif, qui n'a pas été vacciné par le B.C.G mais qui a des signes ou des symptômes évoquant la tuberculose, doit être considéré comme faisant une tuberculose active et doit recevoir un traitement antituberculeux complet. En l'absence de signes de la maladie, on doit lui administrer une chimiothérapie préventive.

La plus grande affinité pour les poumons semble être expliquée par deux phénomènes :

- 1 - Les bacilles tuberculeux sont aérobies stricts, alors que les poumons sont les organes les plus aérés de l'organisme.
- 2 - Le mode de transmission qui est essentiellement aérien.

4) Diagnostic biologique des infections dues aux bacilles tuberculeux

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

4 - 1) Prélèvement (70)

La nature du prélèvement varie en fonction de l'état infectieux. Les résultats n'ont de valeur que si le prélèvement est correctement effectué.

4 - 2) Transport et conservation des produits (10)

Avant d'aborder le problème de transport, il convient de rappeler quelques caractères du bacille tuberculeux ; notamment sa vitalité c'est à dire sa résistance aux agents physiques et chimiques.

4 - 2 - 1) Vitalité du bacille tuberculeux (77)

4 - 2 - 1 - 1) Chaleur

Le bacille tuberculeux est aussi sensible à la chaleur que les autres bactéries non sporulées. Il est détruit par autoclavage à 120° C pendant 30 mn et par la chaleur sèche au four pasteur à 175° C pendant 30 mn. Un séjour prolongé à une température de plus de 40° C diminue considérablement sa vitalité.

4 - 2 - 1 - 2) Froid

Au réfrigérateur, à +4° C le bacille tuberculeux n'est pas affecté dans sa vitalité pendant cinq à huit jours. A -35° C surtout à -76° C, il n'y a pas de diminution notable de la vitalité du bacille pendant plusieurs mois.

4 - 2 - 1 - 3) Dessiccation

Les bacilles tuberculeux sont assez résistants à la dessiccation ; à l'abri de la lumière solaire, ils peuvent survivre pendant plusieurs mois. L'association dessiccation refroidissement (lyophilisation) est le meilleur procédé de conservation.

Entraînant des variations de pH et surtout la libération d'enzymes bactériens, elle affecte considérablement la vitalité du bacille. A ce premier 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 émissions doit être gardé au froid à +4°C, notamment dans un réfrigérateur cela permet une conservation relativement satisfaisante pendant plusieurs jours. En résumé le froid est le meilleur agent de conservation.

Cependant dans la mesure du possible, l'examen immédiat est préférable. D'autre part, les produits du tubage gastrique toujours acides (par HCL stomacal) doivent être neutralisés avec de la soude ou du bicarbonate de soude en présence de quelques gouttes d'indicateur de pH.

Il faut enfin des mesures de protection du personnel travaillant. La conservation est une opération bactériologique très décisive dans le diagnostic des infections à mycobactéries.

4 - 3)- Examen microscopique

La mise en évidence de bacilles acido-alcoo-résistants à l'examen microscopique du frottis fait à partir du produit pathologique est le moyen le plus rapide et le moins coûteux de faire le diagnostic de présomption de la tuberculose.

4 - 3 - 1) Coloration (39)

La recherche microscopique des mycobactéries s'effectue après coloration.

Les méthodes de coloration utilisées sont basées sur la propriété tinctoriale caractéristique des mycobactéries : l'acido-alcoolo-résistance.

Diverses méthodes de coloration sont proposées.

4 - 3 - 1 - 1) Méthodes de coloration de Ziehl - Neelsen

Mécanisme : Les acides mycoliques jouent un rôle essentiel dans l'acido-alcoolo-résistance, mais la brillance conférée aux bacilles par la coloration de Ziehl - Neelsen ne résulte pas de la seule acido-alcoolo-résistance des acides mycoliques (29) selon Barksdale et Kim, la coloration de Ziehl - Neelsen aurait un double effet :

- Une quantité importante de fuchsine pénétrerait à l'intérieur du corps microbien et serait responsable de la brillance de la coloration ;
- Une quantité moins importante de fuchsine formerait des complexes avec les groupements carboxyl libres des acides mycoliques situés à la partie la plus externe de la bactérie.

La fuchsine serait emprisonnée à l'intérieur du corps microbien grâce aux complexes qui formeraient une barrière hydrophobe.

4 - 3 - 1 - 2) Méthode de coloration fluorescente

La méthode de coloration par fluorescence est basée sur le même principe que la méthode classique à la Fuchsine basique. C'est une coloration de la totalité de la préparation suivie d'une décoloration sélective par l'alcool - acide puis d'une récoloration du fond.

Il y a plusieurs variantes :

- Méthode de DEGOMMIER
- Méthode de SMITHWK : modifiée

Principe : Il consiste à colorer les bacilles avec des substances organiques excitable par une lumière de longueur d'onde déterminée et qui après excitation donne une lumière de longueur d'onde plus élevée. Les colorants les plus courants sont excités par la lumière rouge ou verte.
Exemple : Fluoresceïne, Rhodamine, orangé d'acridine, Auramine et rouge thiazine.

4 - 4) Isolement des mycobactéries :

Le diagnostic direct de la tuberculose repose sur la mise en évidence du bacille tuberculeux par examen microscopique et/ou par culture.

Obtenir en culture pure le genre responsable est certainement le moyen le plus rigoureux de faire le diagnostic de certitude de la tuberculose, c'est aussi un moyen très sensible, puisqu'à priori tout bacille viable va donner naissance à une colonie mais d'exécution relativement laborieuse et dont les résultats ne sont disponibles qu'après un délai de 3 - 4 semaines voire plus.

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

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

En effet, Nocard et Roux ont obtenu une croissance satisfaisante du bacille en 1887 par l'adjonction de glycérine en proportion convenable (5 à 8%).

Depuis lors, de nombreux milieux de culture ont été élaborés.

On distingue deux groupes :

- Les milieux liquides
- Les milieux solides

4 - 4 - 1) Les milieux liquides : (72)

*** Milieu de Dubos Tween80 (38)**

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

Donne des cultures à aspect macroscopiquement homogène à partir des souches déjà isolées à l'état pur.

* Milieu SULA : enrichi en alamine, c'est le seul d'ailleurs qui contient du vert malachite.

4 - 4 - 2) Milieux solides :

Actuellement deux milieux solides sont les plus couramment utilisés :

4 - 4 - 2 - 1) Milieu de Löewenstein - Jensen (38)

La base pour milieu de Löewenstein - Jensen additionnée d'œufs, et, dans la plupart des cas de glycérol, est un milieu sélectif recommandé pour l'isolement, le dénombrement et la différenciation des mycobactéries. Il est aussi utilisé pour déterminer la sensibilité de ces bactéries aux agents chimio - thérapeutiques et aux antibiotiques. Il est préparé selon la formule :

Composition :

Solution 1

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

Ce mélange est chauffé jusqu'à dissolution. On le stérilise à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Ajouter 30g de fécule de pomme de terre (stérile) à la solution et chauffer à 100°C pendant 15 minutes, puis maintenir à 56°C. Mélanger à cette solution 1 litre d'œufs (cassés stérilement) et 20ml de vert de malachite à 2%.

On peut aussi préparer les milieux de Löwenstein - Jensen enrichis de pyruvate de Na à 0,2%. Le pyruvate de Na stimule surtout la croissance des *Mycobacterium africanum* et *Mycobacterium bovis*.

4 - 4 - 2 - 2) Colestos - base (38)

La base pour milieu de colestos, additionné d'œufs entiers, de jaunes seuls, de pyruvate de gluconate et, dans certains cas, d'osseïne, est un milieu sélectif, riche, recommandé pour l'isolement des mycobactéries particulièrement exigeantes. Il en permet une culture rapide et abondante.

4 - 4 - 3) Technique de culture :

La majorité des produits pathologiques qui contiennent des mycobactéries contiennent également d'autres bactéries. Ces dernières doivent être éliminées avant l'ensemencement afin d'éviter la contamination des milieux de culture.

Les techniques diffèrent selon la nature donc du produit pathologique.

4 - 4 - 3 - 1) Produits non contaminés (77)

Les produits pathologiques non contaminés n'ayant aucune communication avec le milieu extérieur (LCR, pus ganglionnaire, pleurésies sero-fibrineuses, etc...) sont ensemencés directement sur les milieux de culture sans traitement à raison de 3 à 4 gouttes par tube de milieu. Cependant, les liquides purulents seront dilués aux 2/5 avec de l'eau distillée stérile.

4 - 4 - 3 - 2) Produits contaminés :

Les produits contaminés qui associent une ou plusieurs flores aux mycobactéries doivent faire l'objet d'un traitement énergique avant d'être ensemencés. Ce traitement consiste à une décontamination encore appelée homogénéisation du produit pathologique et se fait en deux mécanismes simultanés :

- Un premier mécanisme de liquéfaction du mucus qui permet à la substance décontaminante d'atteindre la flore associée.
- Un deuxième mécanisme de destruction des bactéries saprophytes.

De nombreuses méthodes de décontamination existent parmi lesquelles deux méthodes peuvent être recommandées pour l'isolement des mycobactéries à partir des produits pathologiques, notamment des crachats : la méthode de pétroff et la méthode au lauryl-sulfate de sodium.

- Méthode de petroff (modifiée) (39)

a) Réactifs

Solution décontaminante stérile

- Hydroxyde de sodium pur en pastilles 4g
- Eau distillée Q.S.P 100ml

Solution de neutralisation

- Acide sulfurique à 4% + solution aqueuse de bleu de tournesol ou de bleu de bromothylol.

b) Technique

- Mettre le crachat dans un tube à centrifuger à vis de 50 ml
- Ajouter un volume égal de solution de soude
- Agiter jusqu'à l'obtention d'une bonne homogénéisation apparente
- Mettre le tube à l'étuve à 37°C pendant 40 minutes, ne pas dépasser ce temps d'incubation ;
- Neutraliser
- Centrifuger à 2000G, soit à vitesse réduite (3000t/mn) pendant 20 minutes.
- Décanter le liquide surnageant, ensemercer 4 gouttes du culot neutralisé sur chaque milieu de culture.

Remarques

De toutes les méthodes de décontamination, il semble que la méthode de pétroff est la plus brutale autrement dit la plus toxique pour les bacilles tuberculeux. Pour Krasnow, 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.

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 solides. Les colonies de bacilles tuberculeux ne prennent un aspect typique que si le milieu est bien oxygéné et la partie liquide de l'inoculum évaporée. On ne ferme donc les tubes qu'après évaporation complète de l'inoculum.

Il existe d'autres méthodes de décontaminations telles que :

- La méthode de l'acide sulfurique
- La méthode au phosphate trisodique
- La méthode du bromure de cétyl - pyridinium

* Méthode du bromure de cétyl - pyridinium (7)

Réactifs : Préparation

Solution de bromure de cétyl - pyridinium 1% dans l'eau distillée 10 g. Ajouter cette solution à 1l d'eau distillée. Répartir cette solution dans des tubes à vis et stériliser dans la cocotte minute (les tubes sont légèrement dévissés et maintenus en position verticale) pendant 30 mn environ. Laisser refroidir et revisser les tubes pour éviter une recontamination, puis les ranger dans une boîte. La solution peut se garder une semaine.

* Protocole

A un volume presque égal du produit pathologique on ajoute aseptiquement du bromure de cétyl - pyridinium. Agiter vigoureusement le mélange.

Laisser agir pendant 24 heures à la température ambiante (22°C) ou à l'étuve à 37°C.

Procéder à 2 ou 3 agitations manuelles pendant les 24h ou au moins une seconde fois avant de quitter le laboratoire de façon à assurer une bonne homogénéisation et permettre au bromure de pénétrer dans les moindres parcelles et détruire et détruire les bactéries saprophytes.

Centrifugé ou non le produit final est prêt à êtreensemencé à raison de 0,20 ml (4 gouttes) par tube de milieu de culture.

Les méthodes de diagnostic dites méthodes conventionnelles de diagnostic de la tuberculose que sont l'examen direct et la culture présentent une certaine insuffisance.

Insuffisance des méthodes conventionnelles

→ L'examen microscopique

Cette méthode n'est pas très sensible puisqu'il faut que le produit pathologique examiné contienne au moins 10000 bacilles par millilitre pour être positif.(60). Les produits pathologiques d'origine extra - respiratoire sont généralement paucibacillaires. Seulement 10% des cas positifs à la culture le sont à l'examen microscopique. L'examen microscopique permet donc de détecter les tuberculeux les plus contagieux. Sa sensibilité est augmentée par l'examen d'échantillons successifs. En plus de ce manque de sensibilité, il n'identifie pas l'espèce mycobactérienne.

→ La culture

C'est la méthode de référence et permet de déterminer l'espèce en cause. Mais plusieurs semaines (3 à 6 pour *M. tuberculosis* par exemple) sont nécessaires avant que n'apparaissent les colonies sur milieux solides de Löewenstein - Jensen et colestos.

A cette lenteur de culture s'ajoutent d'autres difficultés telles que :

- La décontamination qui s'accompagne toujours de perte de bacilles ,
- La souillure de culture par insuffisance de décontamination.

Pour palier ces difficultés, plusieurs approches tentent de trouver une méthode de diagnostic rapide, fiable et applicable à une utilisation de routine.

+ Méthodes récentes : Parmi ces méthodes récentes de détection de mycobactéries dans les échantillons citons :

* Hémoculture Isolator Cette méthode ne s'applique qu'à la recherche des mycobactéries dans le sang. Elle consiste à prélever le sang sur un agent lytique et anticoagulant, puis le centrifuger, le culot est ensuiteensemencé sur les milieux solides classiques ou sur milieu liquide type Bactec.

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

L'hémoculture est une technique non vulnérante qui permet le diagnostic des mycobactéries notamment *M. avium intracellulare* à un stade précoce de l'infection.

* Méthodes de détection radiométrique de culture en milieu liquide.

Principe

Il repose sur l'association d'une culture en milieu liquide et d'une détection radiométrique. La croissance des mycobactéries est détectée par l'augmentation de radio activité dans l'atmosphère de culture.

• Amplification en chaîne par polymérase P.C.R

La P.C.R permet, en théorie, la détection de l'ADN à partir d'une seule molécule cible, dans un délai de 24 - 48 heures. L'ADN est extrait de l'échantillon puis soumis à l'action de l'enzyme Taq polymérase thermostable. Le nombre de séquences d'ADN encadrées par les amorces oligonucléotidiques spécifiques augmente en théorie de façon exponentielle. Les séquences amplifiées sont détectées à l'aide de sondes nucléiques spécifiques, radio - actives ou froides.

4 - 5) Identification des mycobactéries (39)

Les mycobactéries constituent un groupe très complexe, ce qui pose le problème de leur identification.

Caractères différentiels des mycobactéries

En plus de l'aspect des colonies sur le milieu, les mycobactéries peuvent être différenciées par certains de leurs caractères biochimiques.

En effet, l'analyse du tableau III montre que toutes les mycobactéries ont une activité catalasique à 22° C qui est thermosensible chez les mycobactéries tuberculeuses contrairement aux atypiques qui gardent leur activité à 68° C. A quelque exception près, les mycobactéries atypiques résistent tous à la tb₁ et au TCH contrairement aux mycobactéries tuberculeuses excepté *Mycobacterium tuberculosis* qui résiste au TCH.