

Ministère de l'Enseignement  
Supérieur et de la Recherche  
Scientifique

Université des Sciences, des Techniques  
et des Technologies de Bamako

Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie

DER de Santé Publique et Spécialités

N° ..... DERSP/FMOS/USTTB

REPUBLIQUE DU MALI  
Un Peuple – Un But – Une Foi



# Mémoire

**Master en Santé Publique**

**Option Epidémiologie**

**Année Universitaire 2014 - 2015**

**Comparaison de la technique MODS (Observation Microscopique de la Sensibilité des Médicaments Antituberculeux ) à la technique standard (culture sur MGIT-SIRE-AST) dans le diagnostic de la tuberculose multi-résistante à Bamako au Mali**

Présenté et soutenu le .....

Par : **Bourahima KONE**

Président :

Membre :

Directeur : Dr Yaya Ibrahim COULIBALY

Encadreur : Dr Yeya dit Sadio SARRO

Sponsor : SEREFO et Fogarty Training Grant (5D43TW007995 et 5UM1AI69471)

## REMERCIEMENTS

- Gloire à ALLAH Seigneur de l'univers, le Tout puissant, le Très miséricordieux pour m'avoir permis de bien mener cette formation.

Ce travail a été rendu possible grâce aux apports des personnes et structures suivantes :

- Le personnel et spécialement le Directeur de SEREFO, Professeur Souleymane DIALLO pour son implication personnelle dans la réalisation et le financement de ce projet de Master 2,
- Le Feu Professeur Anatole TOUNKARA,
- Le Professeur Seydou DOUMBIA
- Le Professeur Robert Leo MURPHY de Northwestern University, Chicago, IL, USA, pour la prise en charge d'une partie de mon inscription pour le Master1, des voyages et les hébergements sur le site de regroupement de Ouagadougou à travers le programme de bourse *Fogarty Training Grant* (5D43TW007995 et 5UM1AI69471),
- Le responsable de formation de SEREFO, Dr Mamoudou MAIGA pour son soutien continue durant cette formation,
- Mes encadreurs: Dr Yaya I COULIBALY encadreur au DERSP, chef Unité Filariose et à Dr Yeya dit Sadio SARRO chef d'unité core Immunologie de SEREFO pour leurs conseils et leurs suggestions dans la réalisation de ce mémoire,
- Le responsable du laboratoire de niveau de sécurité (BSL-3) de tuberculose Dr Bassirou Diarra et son équipe,
- Le Dr Moumine SANOGO de l'unité de tuberculose et au Dr Amadou KONE,
- A Dr Drissa GOITA et Dr Bocar BAYA,
- Ma collègue Mme Keita Nadie COULIBALY et toute l'équipe de SEREFO,
- La direction de DERSP pour avoir initié cette formation de Master 2 en santé publique, Option Epidémiologie,
- Le personnel et particulièrement les enseignants de DERSP,
- Ce travail a bénéficié du soutien et de l'accompagnement de ma tendre épouse.

## TABLE DE MATIERE

RESUME .....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUCTION .....	1
1.1. Contexte et justification .....	1
1.2. Enoncé du problème.....	2
1.2.1. Question de recherche.....	3
1.2.2. Hypothèse de recherche .....	3
1.3. Les objectifs de l'étude .....	3
1.3.1. Objectif général :.....	3
1.3.2. Objectifs spécifiques :.....	3
1.4. Structure d'accueil et d'encadrement.....	4
1.4.1. Présentation du centre de recherche et de formation sur le VIH et la tuberculose (CEREFO/SEREFO) .....	4
1.4.2. Historique.....	4
1.4.3. Missions .....	4
1.4.4. Infrastructures et équipements .....	5
1.4.6. Collaboration sur le plan clinique.....	6
1.4.7. Le personnel.....	6
1.4.8. Formation.....	7
1.4.9. Projet de Recherche .....	7
2. MATERIELS ET METHODES .....	7
2.1. Population d'étude et méthode de collecte.....	7
2.2. Type d'étude.....	7
2.3. Population d'étude.....	7
2.3.1. Critère d'inclusion .....	8
2.3.2. Critère de non inclusion .....	8
2.4. Techniques de laboratoire .....	9
2.4.1. Dépistage du VIH .....	9
2.4.2. Culture et identification des mycobactéries .....	10

---

3.	Collecte des données.....	14
3.1.	Outils de collecte.....	14
3.2.	Méthodes de collecte.....	14
3.3.	Variables étudiées.....	14
4.	Analyses des données.....	16
5.	Implication dans les travaux.....	16
6.	Considérations éthiques.....	17
3.	RESULTATS.....	18
3.1.	Description du flux des patients d'étude.....	18
3.3.	Validité, fiabilité et reproductibilité du test de Diagnostic par MODS.....	21
3.4.	L'examen microscopique et la technique MODS.....	23
3.5.	Essai MODS dans le diagnostic des patients co-infectés VIH et tuberculoses.....	23
3.6.	Rapidité de MODS dans le diagnostic de la tuberculose.....	24
3.7.	L'essai MODS comme outils de diagnostic pour la TB-MR.....	24
4.	DISCUSSION.....	26
5.	CONCLUSION.....	28
6.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	29
7.	ANNEXES.....	32

---

**LISTE DES FIGURES**

Figure 1: Décontamination des crachats par la méthode de NaLC-NaOH, schéma adapté (20)..	10
Figure 2: Ensemencement des puits dans MODS schéma adapté (20).....	10
Figure 3: Schéma de la technique d'essai MODS au laboratoire de tuberculose de SEREFO ....	13
Figure 4: Schéma de sélection des sujets pour l'analyse, étude essai MODS 2010-2015.....	18
Figure 5: Répartition des 98 patients ayant participé à l'étude MODS, à Bamako, entre 2010-2015 à Bamako. ....	20
Figure 6 : Répartition selon la profession des 98 patients selon le sexe ayant participé à l'étude MODS entre 2010-2015 à Bamako .....	21
Figure 7 : Délai de positivité de la technique MODS et de MGIT .....	24

---

**LISTE DES TABLEAU**

Tableau I: Caractéristiques démographiques et cliniques des 98 patients ayant participé à l'essai MODS à Bamako.....	19
Tableau II: Sensibilité, spécificité et les rapports de vraisemblances du test de diagnostic MODS dans la population générale des patients cas suspects de TB. ....	21
Tableau III: Les valeurs prédictives, Validité, fiabilité et reproductibilité du test de diagnostic MODS dans la population générale des patients cas suspects de TB.....	22
Tableau IV: Comparaison entre le frottis BARR à l' examen microscopique de crachats et l'essai MODS.....	23
Tableau V: Sensibilité, spécificité, les valeurs prédictives par l'essai MODS chez les patients co-infectés.....	23
Tableau VI : Comparaison de la fréquence entre l'essai MODS et le test de référence AST/MGIT/SIRE dans le diagnostic de la TB-MR dans le groupe C de l'étude.....	25

**LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS**

AST	<i>Antimicrobial Susceptibility Testing</i> ou antibiogramme
AST -MGIT- SIRE	Test Manuel par proportion de-sensibilité aux antituberculeux de première ligne (S, I, R, E) par le MGIT
BARR	Bacilles acido-alcalo-résistant
DERSP	Département d'Enseignement et de Recherche en Santé Publique
EDTA	L'acide éthylène diamine tétra-acétique
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay ou dosage d'immuno-adsorption par enzyme liée
FAPH	Faculté de Pharmacie
FMOS	Faculté de Médecine et Odontostomatologie
INH	Isoniazide
IRB	Comité de Revue Institutionnelle
MGIT	Tube indicateur de Croissance Mycobactérienne ( <i>Mycobacteria growth indicator tube</i> )
MODS	Observation au microscope de la sensibilité des médicaments ( <i>Microscope observation of drug susceptibility</i> )
MTB	<i>Mycobacterium Tuberculosis</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
RIF	Rifampicine
SIRE	Streptomycine, Isoniazide, Rifampicine, Ethambutol
TB	Tuberculose
TB-MR	Tuberculose multirésistante
USSTB	Université des Sciences, des techniques et des technologies de Bamako
VIH	Virus de l'immunodéficience Humaine
VPP	Valeur prédictive positive
VPN	Valeur prédictive négative

**RESUME**

**Introduction** : Au Mali, la détection rapide des cas de la tuberculose multi résistant (TB-MR) et leur traitement est un challenge nécessitant de recourir à des techniques rapides de diagnostic. MODS est reconnu par l'OMS, basé sur l'observation directe des micro- colonies du complexe MTBc sous forme de « cordes » en milieu liquide grâce au microscope inversé. Elle évalue concomitamment sa sensibilité à l'isoniazide et à la rifampicine à partir d'échantillons de crachats.

**Objectifs** : Cette étude avait pour objectif de comparer la rapidité de MODS dans le diagnostic de MTBc et sa sensibilité aux antituberculeux par rapport à la méthode classique du laboratoire combinant la culture et le test de sensibilité AST /MGIT/SIRE (BD, Sparks, MD, USA).

**Méthodologie** : Entre janvier 2010 et Octobre 2015, nous avons recruté 98 patients tuberculeux positifs à l'examen direct des crachats lors d'une étude de cohorte observationnelle approuvée par les comités d'éthique de la FMOS de l'USTT de Bamako et du comité de revue institutionnelle des Etats Unis. Le diagnostic de la Tuberculose a été confirmé par la combinaison de la microscopie et du résultat de la culture. Les résultats de la technique MODS ont été comparés à ceux de la méthode de référence (MIGIT-AST-SIRE).

**Résultats** : Le test de MODS comparé au test de référence (MIGIT-AST-SIRE) a donné 94,12% de sensibilité et 85,71% de spécificité. Le délai médian de positivité de la technique MODS a été de 8 jours avec un intervalle interquartile entre (5-11) jours tandis que celui du MIGIT a été de 6 jours avec un intervalle interquartile entre (5-6) jours. Pour la détection des cas de tuberculose multi résistante le test de MODS a donné une sensibilité de 100 % et spécificité de 95,92 % avec les valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) respectivement de 66,7 % et 100%. Le coefficient de Kappa de Cohen de la technique MODS était de 0,78 avec un intervalle de confiance à 95% entre (0,517-1,043). Le délai médian pour l'obtention des résultats de la TB-MR a été de 9 jours tandis qu'il a été de 35 jours pour la méthode standard de laboratoire.

**Conclusion** : La technique MODS identifie rapidement la Tb - MR au Mali avec un délai moyen de 9 jours (8,8). Cela se traduit par la rationalisation du traitement des patients et la guérison rapide. Méthode simple rapide et abordable, l'essai MODS peut améliorer la prise en charge de la tuberculose au Mali.

**Mots clé** : Observation au microscope de la sensibilité des médicaments, Tuberculose multi résistante, Mali, TB



**ABSTRACT**

**Introduction:** In Mali, early detection of MDR-TB cases and their treatment are still challenging and require the use of rapid diagnostic tools for better patient's management. MODS is a commercialized test recognized by the WHO, based on direct observation of micro colonies of MTBc complex as "cording" in a liquid medium with an inverted microscope. It assesses concomitantly its sensitivity to both isoniazid and rifampicin from sputum samples.

**Objectives:** This study was aimed to compare the speed of MODS in the diagnosis of MTB and its susceptibility to isoniazid and rifampicin compared to the conventional method of the laboratory combining culture and sensitivity test using MGIT/AST / SIRE (BD, Sparks, MD, USA).

**Methods:** Between January 2010 and October 2015, we recruited 98 TB positive patients by direct examination of sputum in an observational cohort study approved by the ethics committee of the FMOS/USTT, Bamako, and the IRB (Internal Review Board) committee of NIH /NIAID, USA. TB diagnosis was based on the combination of sputum smear and culture result, and the results of MODS technique were compared to the MIGIT-AST- SIRE reference test.

**Results:** The MODS test compared to the reference (MGIT-AST-SIRE) showed 94.12% and 85.71% of sensitivity and specificity in detecting the disease. The median time to positivity of the MODS technique was eight days with an interquartile range (IQR) of (5-11) days while the MGIT is 6 days with an IQR of (5-6) days. In detecting multidrug resistant TB, MODS test provided a sensitivity of 100% and a specificity of 95.92% with a positive predictive value and negative predictive value of 66.7% and 100% respectively. The Cohen Kappa coefficient of the MODS technique is 0.78 with a confidence interval of 95% between (0.517 to 1.043). The median time for the obtaining of the results of TB-MDR was of 8 days, whereas it was 35 days for the standard method of laboratory

**CONCLUSION:** MODS technology rapidly identifies TB-MDR in Mali with an average time of 9 days (8.8). As simple fast and affordable method, MODS could significantly improve the management of the tuberculosis in Mali. This translates into fast and appropriate drug treatment initiation, which has huge impact on disease transmission in our communities.

**Keywords:** Microscope observation of drug susceptibility, multidrug resistant tuberculosis, Mali, TB

# 1. INTRODUCTION

## 1.1. Contexte et justification

La tuberculose (TB) considérée comme une pathologie infectieuse et elle demeure toujours un problème de majeure de santé publique surtout avec l'émergence du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et l'apparition des souches résistantes aux antituberculeux. C'est une maladie contagieuse causée par les mycobactéries appartenant au complexe *tuberculosis*. Les mycobactéries du complexe *tuberculosis* sont composées de sept sous espèces qui sont : *Mycobacterium tuberculosis* ; *Mycobacterium bovis* ; *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti*; *Mycobacterium canettii* ; *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium pinnipedii* et *Mycobacterium mungi* (1). Toutes ces mycobactéries sont capables de causer la tuberculose maladie mais avec des incidences différentes selon les régions.

En 2013, 9 millions de personnes ont développé la tuberculose et 1,5 million en sont mortes. Plus de 95% des décès dus à la tuberculose se produisent dans les pays à revenu faible et intermédiaire et près de 480 000 personnes ont développé une tuberculose multi-résistante (TB MR). La tuberculose est responsable d'un décès sur quatre chez les personnes vivant avec le VIH (2). La lutte mondiale contre la tuberculose est confrontée aujourd'hui à des difficultés majeures tel que la co-infection (TB/VIH) par *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch) et le VIH. En Afrique, la TB-MR ou la tuberculose ultra-résistante (TB-UR) rendent les activités de lutte encore plus complexes et exigeantes dans toutes les régions. Le VIH et la tuberculose, qui accélèrent mutuellement leur progression, forment une association meurtrière. La tuberculose est une cause majeure de mortalité chez les personnes VIH positifs. Elle est responsable d'environ 13% des décès par le sida dans le monde. En Afrique, le VIH est le principal déterminant de la hausse de l'incidence de la tuberculose observée ces dix dernières années (3,4).

La tuberculose multi-résistante (TB- MR), se définit comme une tuberculose résistante à au moins l'isoniazide et la rifampicine. La TB-MR constitue une grande menace pour le contrôle global de la TB (5). Une thérapie inappropriée antituberculeuse et la non compliance aux régimes de traitement par le patient sont les causes principales de la TB-MR (6).

Un diagnostic à temps, un antibiogramme et une initiation d'un traitement approprié sont très importants pour arrêter la chaîne de transmission de la tuberculose et éviter la TB-MR. Les stratégies utilisées dans les pays développés pour diagnostiquer et traiter la tuberculose

comprennent les méthodes manuelles et automatiques de culture de la mycobactérie et l'antibiogramme des antituberculeux. Les pays à ressources limitées ont des difficultés pour mettre en œuvre cette stratégie à cause des financements limités et du manque d'infrastructures (7). Ainsi, de nouvelles méthodes sont en train d'être explorées, spécialement pour le diagnostic rapide de la tuberculose et la détection de la résistance aux médicaments.

Des essais moléculaires simples et rapides, tels que le test GenXpert MTB/RIF® ont été développés. Le GenXpert MTB/RIF est un test qui est utilisé pour diagnostiquer la tuberculose et détecter la résistance à la rifampicine (8,9). Bien que les résultats soient encourageant, ce test ainsi que d'autres méthodes moléculaires de diagnostic rapide ont un coût prohibitif pour être utilisés dans les pays en voie de développement (9).

## **1.2. Enoncé du problème**

Le Mali, un pays de l'Afrique de l'Ouest avec une population d'environ 16 millions de d'habitants (10), est endémique pour la tuberculose. Selon les données de 2015, la prévalence et l'incidence de la tuberculose étaient respectivement de 91/100.000 personnes et 58/100.000 personnes-année (11). Parmi les cas de tuberculose l'antibiogramme est mis en route pour très peu de patients à cause de la disponibilité des ressources (11). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 1% de tous les nouveaux cas et 14% des cas déjà traiter de la TB au Mali sont de TB-MR (12). Cependant, ces taux sont probablement sous-estimés à cause des difficultés de mise en route de l'antibiogramme au Mali. Une étude mené au Mali souligne un faible niveau de résistance primaire aux médicaments à Bamako, et suggère que la souche MTB T1 pourrait être en association avec le développement de la résistance (13). Le diagnostic de la tuberculose en routine dans les centres de santé se fait uniquement par la microscopie du Frottis de crachat. L'examen microscopique des crachats permet d'identifier de manière rapide et fiable les patients atteints de TB pulmonaire si la charge bacillaire est supérieure à 5000 bacilles par ml de crachats. Il est peu probable que l'examen microscopique détecte une TB pulmonaire, si le crachat contient moins de 5000 bacilles par ml (14,15). La culture et l'antibiogramme ne sont pas faite en routine. Très souvent, à cause de ces limites, les sujets reçoivent des régimes inappropriés de traitement de la TB et de la TB-MR.

Ainsi, le développement et la validation d'une autre méthode de culture et antibiogramme sont réellement nécessaires pour arrêter la transmission de la tuberculose.

Le test de sensibilité des mycobactéries aux médicaments antituberculeux par observation au microscopique (MODS) est une technique rapide qui met en route la culture de la mycobactérie et l'antibiogramme en même temps (16). Cette méthode relativement peu coûteuse et simple se base sur le fait que le *Mycobacterium tuberculosis* croît plus rapidement en milieu liquide qu'en milieu solide (17). Un microscope inversé est utilisé pour détecter l'aspect de corde (*cording*) qui est caractéristique du bacille tuberculeux en milieu liquide. Cette propriété du *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) peut être utilisée pour distinguer le MTB de la plupart des autres mycobactéries non tuberculeuses (18). MODS a été recommandé par l'OMS en Mars 2010 pour une utilisation dans les pays à ressources limitées pour le diagnostic et l'antibiogramme au cours de la tuberculose (2,19).

Au Mali, il n'y a pas de données sur MODS dans le diagnostic de la TB et TB-MR. Il est donc important de mettre en route une étude pour évaluer le diagnostic de la tuberculose par la méthode MODS en vue d'améliorer la prise en charge globale de la tuberculose au Mali. C'est la raison pour laquelle la présente étude se propose de répondre aux questions suivantes :

### **1.2.1. Question de recherche**

- Quelle est l'utilité de l'essai MODS dans le diagnostic de la tuberculose?

### **1.2.2. Hypothèse de recherche**

- En répondant à cette question, nous formulons l'hypothèse que l'essai MODS est un moyen rapide et fiable dans le diagnostic de la tuberculose et la détection des résistances simultanément.

## **1.3. Les objectifs de l'étude**

### **1.3.1. Objectif général :**

- ❖ Evaluer l'utilité de l'essai MODS dans le diagnostic et la détection des résistances à *Mycobacterium tuberculosis*.

### **1.3.2. Objectifs spécifiques :**

- ❖ Déterminer la sensibilité et la spécificité de l'essai MODS combinant la culture et l'antibiogramme,

- ❖ Comparer l'essai MODS au test standard (MGIT – AST) pour le diagnostic et de l'antibiogramme des antituberculeux,
- ❖ Déterminer la sensibilité et la spécificité de l'essai MODS chez les patients coinfectés par le VIH et la tuberculose.

## **1.4. Structure d'accueil et d'encadrement**

### **1.4.1. Présentation du centre de recherche et de formation sur le VIH et la tuberculose (CEREFO/SEREFO)**

SEREFO qui signifie témoignage en langue « Bambara » a été attribué au centre pour lutter contre la stigmatisation faite envers les personnes vivant avec le VIH/SIDA. Il est une entité du Centre International d'Excellence en Recherche (ICER), de l'Université des Sciences, des techniques et des Technologies de Bamako (USTTB). ICER est composé de plusieurs départements de recherche qui s'articulent autour de :

- Le MRTC (Malaria Research and Training Center ),
- L'entomologie,
- Le Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la tuberculose (CEREFO/SEREFO).

### **1.4.2. Historique**

Le Programme SEREFO, est une initiative de recherche biomédicale qui a débuté en 2003. Il s'agit d'une collaboration entre les instituts nationaux de la santé des Etats Unis d'Amérique (NIH-NIAID) et l'Université de Bamako, Mali.

Il est logé au sein de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la faculté de Pharmacie.

### **1.4.3. Missions**

La mission du projet SEREFO est de mener des activités de recherche pointue afin d'améliorer la santé de la communauté malienne et internationale en :

- ❖ Conduisant la recherche durable en clinique et en biologie sur les maladies bactériennes et virales avec un accent particulier sur l'immunologie et la biologie moléculaire du VIH, et de *Mycobacterium tuberculosis* et leurs interactions;
- ❖ Développant et soutenant des programmes de formation et de tutorat pour les chercheurs débutants;
- ❖ Favorisant d'autres collaborations scientifiques sur le plan national et international;
- ❖ Fournissant l'appui scientifique aux établissements maliens de recherche en santé publique ;
- ❖ Créant et soutenant une équipe de jeunes chercheurs au SEREFO capables de postuler pour des fonds Nationaux et internationaux de recherche.

#### **1.4.4. Infrastructures et équipements**

Le SEREFO est doté d'un volet laboratoire s'appuyant sur trois principaux laboratoires et d'un volet clinique s'appuyant sur les services de pneumologie et de maladies infectieuses du centre hospitalier universitaire du Point « G », aussi situé à Bamako.

##### **1.4.4.1. Le laboratoire d'Immunologie**

Le laboratoire d'Immunologie est un laboratoire de dernière génération qui soutient des études complexes visant à mieux comprendre le système immunitaire de l'homme et la pathogénie de la maladie.

Ce laboratoire dispose des équipements modernes pour mesurer les taux de CD4, la charge virale du VIH, et les paramètres hématologiques.

En plus de ceux-ci, les cymomètres de flux sophistiqués nous permettent d'initier des tests immunologiques complexes.

##### **1.4.4.2. Laboratoire de Tuberculose**

Le laboratoire de tuberculose de SEREFO est composé d'un laboratoire de Mycobactériologie de niveau de sécurité 3 (BSL3) construit sur des critères du NIH permettant de manipuler en toute sécurité les agents bactériologiques et virologiques infectieux. En 2006, le BSL3 a reçu la certification de l'OMS, représentant le premier laboratoire BSL3 certifié au Mali

En plus du BSL3, nous disposons d'un laboratoire de biologie moléculaire doté de plusieurs appareils de PCR permettant de faire le génotypage des mycobactéries grâce au polygotypage.

#### **1.4.4.3. Laboratoire d'épidémiologie moléculaire du VIH**

La charge virale et le test génotypique de résistance du VIH aux antirétroviraux (ARV) sont effectués par l'unité d'épidémiologie moléculaire du VIH.

#### **1.4.5. Le SEREFO et les technologies de l'information et de la communication**

Les laboratoires de SEREFO sont équipés en ordinateurs connectés à l'Internet via un satellite (V-SAT) qui assure la connexion avec le NIH des Etats Unis. Le monitoring des réfrigérateurs, des congélateurs et des incubateurs se fait selon un système de message électronique et SMS sur les téléphones portables. Deux groupes électrogènes (de 110 KVA) sont installés pour pallier aux éventuelles coupures d'électricité.

#### **1.4.6. Collaboration sur le plan clinique**

Le SEREFO travaille en collaboration avec le Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) du point G, l'Association de Recherche, de Communication et d'Accompagnement a Domicile des personnes vivant avec le VIH et le SIDA (ARCAD/SIDA) et le Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de Conseil pour les personnes vivant avec le VIH (CESAC). Le programme SEREFO travaille également avec les Centres de Santé de Référence (CSRéf) des six communes du district de Bamako. Le programme ne fournit pas de soins de santé primaire. Cependant, les volontaires participants à nos études de recherche bénéficient gratuitement de tous les tests cliniques au cours de nos activités de recherche. Tous nos protocoles cliniques sont approuvés par les comités d'éthiques institutionnelles de la FMPOS et du NIH conférant un caractère crédible et solide aux études menées par les équipes de SEREFO.

#### **1.4.7. Le personnel**

L'équipe SEREFO se compose de chercheurs (médecins, pharmaciens, biologistes et anthropologue) du Mali et des Etats Unis d'Amérique engagés pour l'amélioration des soins et l'avancement de la recherche biomédicale. Voir organigramme (Annexe 3).

#### **1.4.8. Formation**

En tant qu'élément de notre mission de conduire une recherche scientifique soutenue, le programme SEREFO est engagé dans la formation des maliens dans les techniques de laboratoire et les méthodes cliniques de recherche afin de développer la capacité de recherche à l'université de Bamako et au Mali.

#### **1.4.9. Projet de Recherche**

A l'avenir, le programme SEREFO espère élargir ses domaines de recherche en incluant d'autres infections associées au VIH, ayant une importance nationale et internationale.

La science et la santé nécessitent le partage de connaissance et le programme SEREFO espère collaborer avec des scientifiques à l'échelle internationale.

## **2. MATERIELS ET METHODES**

### **2.1. Population d'étude et méthode de collecte**

### **2.2. Type d'étude**

Nous avons réalisé une étude de cohorte observationnelle entre janvier 2010 et octobre 2015 au Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la Tuberculose (CEREFO/SEREFO).

### **2.3. Population d'étude**

La population cible de cette enquête a été tous les malades suspectés de tuberculose résistant ayant reçu ou pas de traitement antituberculeux dans le district de Bamako et environ.

La population source de cette enquête a concerné toutes les personnes de 12 ans et plus qui ont été référées par l'un des six centres de santé de référence de Bamako et le centre de santé de référence de Kati au service de pneumologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) du Point G à Bamako.

Les unités statistiques étaient les personnes de 12 ans et plus reçus au service de pneumologie.



### 2.3.1. Critère d'inclusion

- Etre âgé de 12 ans et plus,
- Signer le consentement libre et éclairé de participation à l'étude,
- Accepter d'être prélevé pour le dépistage du VIH,
- Avoir un taux d'hémoglobine supérieur ou égal à 8 g/dl,
- Donner son accord pour conserver les échantillons et de les utiliser pour des futures recherches,
- Avoir un frottis de crachat positif à la microscopie ; ou avoir des symptômes cliniques et des images radiographiques compatibles avec une tuberculose pulmonaire active,
- Etre disposé à fournir des échantillons de crachat pour l'étude,
- Avoir la capacité à suivre des instructions verbales pour émettre des crachats.

### 2.3.2. Critère de non inclusion

En plus des patients qui ne répondaient pas aux critères d'inclusion, n'ont pas été inclus dans cette étude les patients:

- Présentant une condition qui, selon l'opinion de l'investigateur, met le sujet à un risque,
- Dont les veines étaient inaccessibles pour un prélèvement sanguin,
- Dont la culture était négative,
- D'autres patients ont été exclus de l'étude par les procédures d'analyses des données.
- Les sujets âgés de moins de 12 ans ont été exclus de l'étude à cause de la difficulté à obtenir des échantillons adéquats de crachat pour le diagnostic de la TB et la réalisation des aspirations gastriques demeure difficile dans les centres de référence au sein de cette population

### 2.3.3. Constitution des groupes d'étude

Les sujets d'étude ont été repartis en trois groupes qui sont :

**Groupe A:** Frottis de crachat positif, naïf au traitement, ou aucun traitement antituberculeux durant les 5 dernières années ;

**Groupe B:** Frottis de crachat négatif, naïf au traitement, ou aucun traitement antituberculeux durant les 5 dernières années mais qui présente les symptômes d'imprégnation bacillaire ;

**Groupe C:** Echec du traitement ou tuberculose « Chronique » ou *Multi Drug Resistant* « MDR ». Ce groupe est composé de sujets qui ont fait au moins 5 mois de traitement au cours de l'année passée pour une TB nouvellement diagnostiquée mais qui ont toujours un frottis positif ou qui ont des symptômes persistants compatibles avec l'infection active de la TB.

## 2.4. Techniques de laboratoire

### 2.4.1. Dépistage du VIH

Pour le dépistage du VIH, tous les patients ont été examinés selon l'algorithme suivant :

- D'abord par un test rapide par le Détermine® (Détermine® HIV-1/2, Abbott Laboratoires, Matsudo-Shi, Chiba, Japan).

**Le principe :** Determine HIV-1/2 est test immuno-chromatographique pour la détection des anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 dans le sérum ou le plasma humain . Sa sensibilité est de 100% et sa spécificité est de 99,89%.

- Ensuite, pour tous les patients et quelque soit le résultat du test par le Détermine®, un test ELISA/Genscreen Ultra (Genscreen, HIV-1/2 version 2 Assay, Bio-Rad Laboratories, Marnes – La Coquette, France) a été réalisé.

**Le principe :** Genscreen™ ULTRA Ag -Ac est un dosage immuno-enzymatique basé sur le principe de la technique en sandwich pour la détection de l'antigène du VIH et les divers anticorps associé au VIH-1 et / ou HIV-2 virus dans le sérum ou le plasma humain. C'est un test affichant les meilleures performances au cours de la phase de séroconversion. Sa sensibilité et sa spécificité est de 100%.

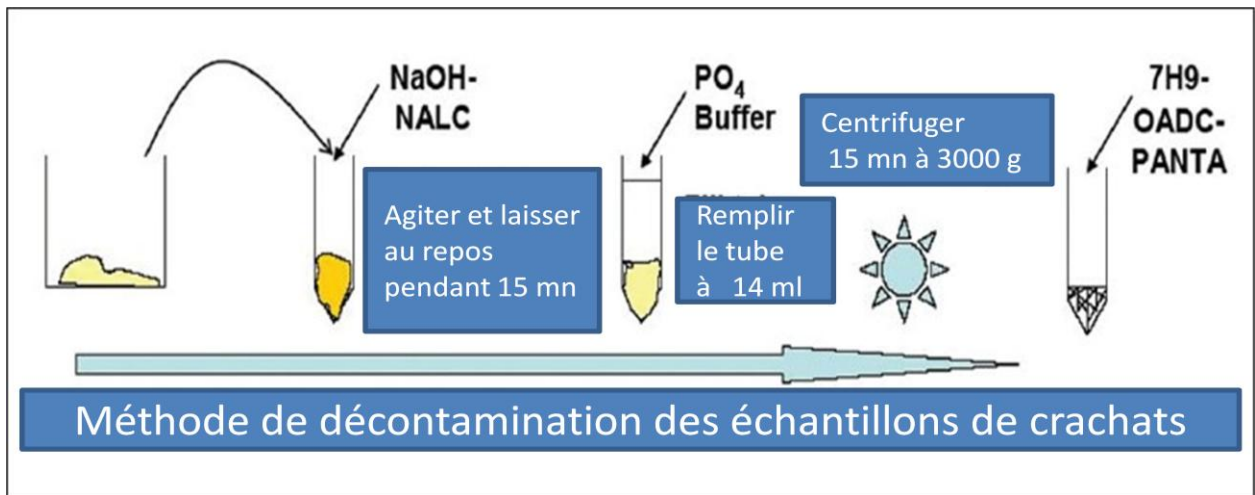
- Enfin, tous les résultats positifs à l'ELISA ont été confirmés par le Western Blot (New Lav Blot I and II, Bio-Rad Laboratories, Marnes – La Coquette, France).

**Le principe :** Il s'agit d'une technique de transfert sur nitrocellulose, après migration électrophorétique en gel de poly-acrylamide, de protéines d'un lysat viral VIH-1 ou VIH-2. Sur la bandelette de WB, différentes protéines constitutives du virus seront reconnues par des anticorps spécifiques anti-VIH1 ou anti-VIH2. Elles forment des bandes situées en des endroits particuliers de la bandelette, révélées par une réaction immuno-enzymatique. Le WB est réalisé le plus souvent sur sérum. Il est considéré comme la méthode de confirmation de référence.

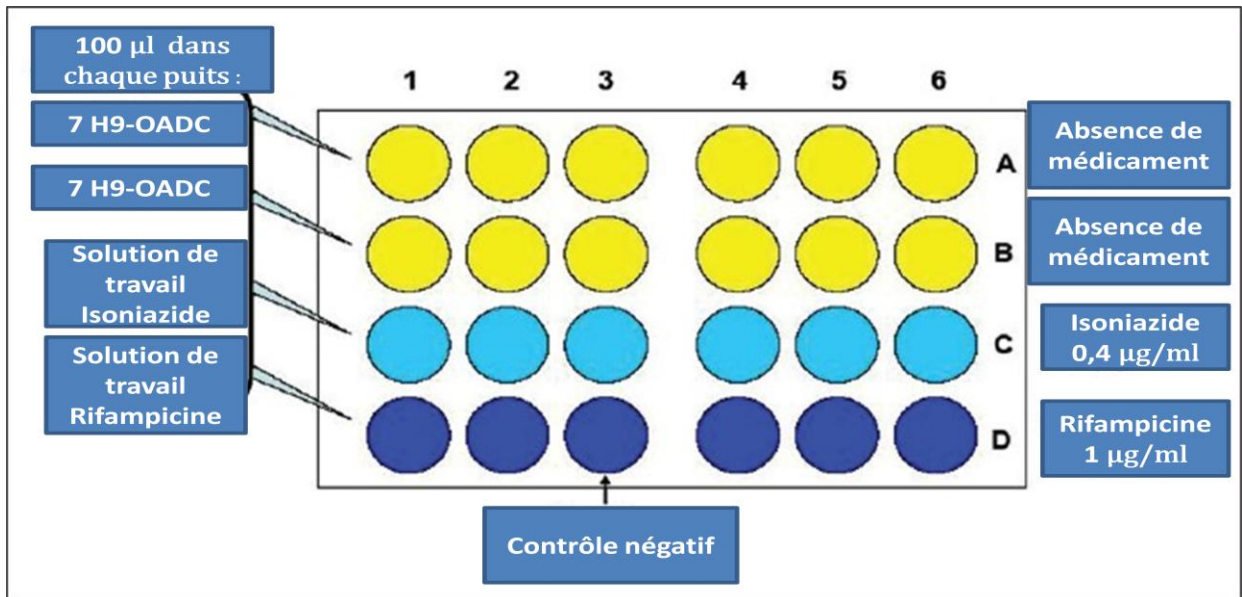
## 2.4.2. Culture et identification des mycobactéries

Les procédures de culture et d'identification des mycobactéries ont été effectuées en suivant les modes opératoires développés par l'équipe du Dr. L. Caviades au Peru (17).

### 2.4.2.1. Préparation et ensemencement de la Plaque de MODS



**Figure 1:** Décontamination des crachats par la méthode de NaLC-NaOH, schéma adapté (20).



**Figure 2:** Ensemencement des puits dans MODS schéma adapté (20).

Après le traitement des échantillons par la méthode de digestion, la décontamination par la méthode de 4% de N-acteyl cystéine (figure 1), on a procédé à l'ensemencement des échantillons dans les plaques. Pour cela on a identifié chaque colonne de la plaque en écrivant le numéro de l'échantillon sur les puits. 500  $\mu$ l de sédiments décontaminés ont été suspendu dans 4,6 ml de bouillon 7H9 complet (échantillon-bouillon mélange). Ceci a été utilisé pour inoculer 24 puits stériles de plaques de culture de tissus (Becton Dickinson, États-Unis) pour les mêmes dosages (figure 2). Pour chaque échantillon, quatre puits de la colonne d'une plaque de culture de tissu ont été utilisés (deux contrôles et deux puits de médicaments contenant soit l'isoniazide ou la rifampicine). Dans chacun des quatre puits, 900  $\mu$ l d'échantillon du bouillon mélange a été ajouté en gardant 1ml d'échantillon bouillon mélange comme "backup". Dans les deux premiers puits, 100  $\mu$ l de bouillon incomplet 7H9 (bouillon sans échantillon) ont été ajoutés. Ces deux puits ont agi en tant que témoins de croissance. Dans le troisième puits, 100  $\mu$ l d'isoniazide (4  $\mu$ g / ml) a été ajouté pour obtenir la concentration finale de 0.4  $\mu$ g / ml. Tandis que dans le quatrième, 100  $\mu$ l de rifampicine (10  $\mu$ g / ml) ont été ajoutés pour obtenir la concentration finale de 1  $\mu$ g / ml. Pour chaque plaque, la troisième colonne a été utilisée comme contrôle négatif contenant uniquement le bouillon incomplet 7H9. Toute croissance des mycobactéries dans cette colonne indiquait une contamination de l'essai. Pour chaque jour d'essai, trois contrôles positifs étaient utilisés (la souche de laboratoire H37Rv utilisée comme contrôle sensible, une souche connue résistante à la rifampicine et une autre connue comme résistante à l'isoniazide. Ces deux dernières souches étaient connues résistantes et utilisées comme témoins pour les antibiotiques utilisés. Ainsi les plaques de culture tissulaires ont été scellées dans des sachets avec un système de fermeture « *zip plastique* » et ont été incubées à 37 ° C/ 7% de CO<sub>2</sub> pour une période totale de 21 jours.

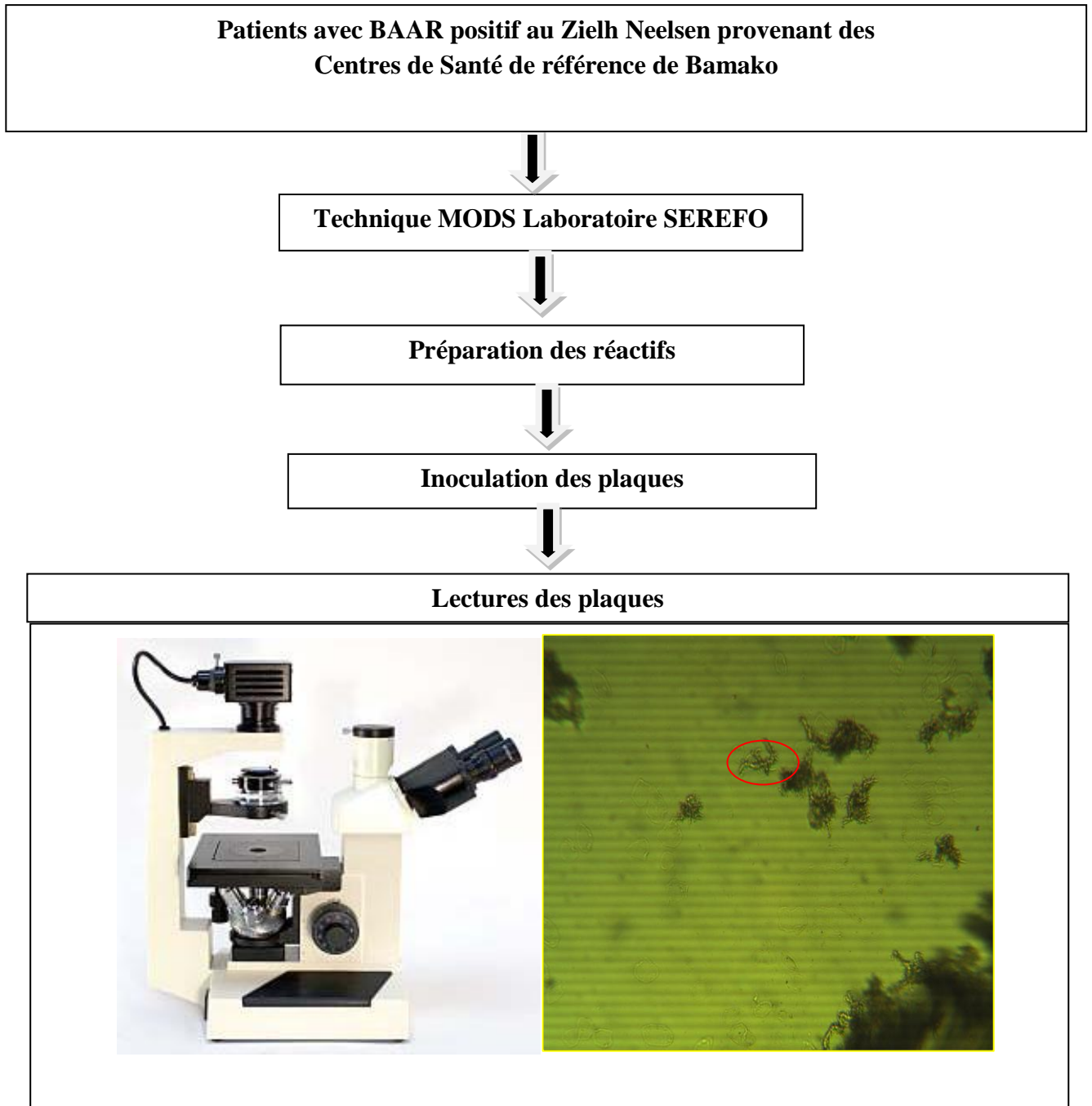
#### **2.4.2.2. Lecture de la plaque MODS**

Les plaques étaient examinées quotidiennement dans les des sachets avec un système de fermeture « *zip plastique* », en utilisant un microscope inversé à partir de 5<sup>ème</sup> jour (Annexe 2). La positivité de la culture de l'échantillon était signalée par la visualisation de la serpentine caractéristique ou cordon emmêlés comme signe de croissance dans les puits ne contenant pas d'antibiotique. La lecture de l'antibiogramme était faite le même jour que la positivité de la culture.

Une contamination bactérienne ou fongique était identifiée par opacification des médias dans les cinq jours suivant l'ensemencement. Dans ce cas l'échantillon de "backup" était décontaminé et remis en culture dans un délai minimal variant de 10 à 21 jours. Les cultures négatives MODS étaient jetées après 21 jours d'incubation sans croissance dans les puits sans antibiotique.

#### **2.4.2.3. Interprétation et la performance de MODS**

La croissance dans des puits témoins et l'absence de croissance dans les puits avec antibiotiques ont été enregistrées comme sensible. A chaque fois si la croissance est détectée à la fois dans le contrôle et le puits contenant les antibiotiques. Ces échantillons seront enregistrés comme résistante à ces antibiotiques (Annexe 2).



**Figure 3:** Schéma de la technique d'essai MODS au laboratoire de tuberculose de SEREFO

### 3. Collecte des données

#### 3.1. Outils de collecte

La collecte des informations a été réalisée au service de pneumo-physiologie du CHU point-G à Bamako à partir d'un questionnaire (Annexe 1). Les informations collectées peuvent être catégorisées en informations sociodémographiques, cliniques et biologiques.

#### 3.2. Méthodes de collecte

Les données ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire rempli à partir des dossiers des malades. Les données ont été saisies à l'aide du logiciel sur Epi-Info version 7.0.9.

#### 3.3. Variables étudiées

Les principales variables d'intérêt au cours de cette étude étaient :

- paramètres sociodémographiques (la profession, la provenance, le sexe, l'âge (il s'agit de l'âge révolu qui a été exprimé en année);
- Les paramètres biologiques (le statut VIH, le nombre de leucocytes, le nombre d'hématie, le taux d'hémoglobine, le taux d'hématocrite, le taux de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, le nombre de la teneur en concentration moyenne en hémoglobine, le taux du volume globulaire moyen, le nombre de plaquette et le taux d'indice de distribution érythrocytaire).
- Les paramètres relatifs au diagnostic de TB au laboratoire:
  - ❖ MODS : (le délai de positivité, le test de sensibilité aux médicaments antituberculeux)

**Principe :** Les tests d'observation microscopique de la sensibilité aux médicaments (MODS) est une méthode de culture artisanale sur milieu liquide qui se base sur l'observation microscopique de la formation des cordes sinueuses caractéristiques de la croissance de *M. tuberculosis* (21)

**Avantage :** MODS sont sa rapidité par comparaison aux méthodes de culture sur milieux solides à l'agar et son faible coût par comparaison avec les systèmes de culture automatisée sur milieu liquide

**Insuffisance :** Le fait de se fier exclusivement à la vitesse de développement et à la morphologie des micro-colonies non colorées peut entraîner une confusion avec les MNT

❖ Culture sur milieu MGIT (*Mycobacteria growth indicator tube*) : (le délai de positivité)

**Principe** : L'échantillon de crachats est centrifugé après avoir été décontaminé pour éliminer d'autre microorganisme. Le sédiment est cultivé sur milieu spécial liquide tube indicateur de Croissance Mycobactérienne, puis mis à couvaion dans un incubateur contenant du gaz carbonique à une température de 37 °C (22).

**Avantage** : la culture prend une place important dans le diagnostic des patients tuberculeux, en raison des performances limités de la microscopie dans les cas de confirmation d'échec thérapeutique et dans la distinction entre le *M tuberculosis* complexe et la mycobactérie non tuberculeuse (MNT).

**Inconvénient** : La culture sur milieux liquides est couteuse.

❖ Antibiogramme ou « *Antimicrobial Susceptibility Testing (AST)* » : (le test de sensibilité aux médicaments antituberculeux)

**Principe** : L'antibiogramme phénotypique détermine si une souche est résistant a un des médicaments antituberculeux en évaluant sa croissance (ou son activité métabolique) en présence de médicaments.

**Avantage et inconvénient** : Pour les traitements antituberculeux, l'antibiogramme est très fiable pour la rifampicine et l'isoniazide mais moins pour le pyrazinamide et l'ethambutol.

#### ❖ Définition des termes

La **sensibilité** : c'est la probabilité pour un sujet malade d'avoir un test positif. Elle mesure donc l'aptitude du test à bien détecter les malades.

La **spécificité** : c'est la probabilité pour un sujet non malade d'avoir un test négatif. Elle mesure donc l'aptitude du test à reconnaître les non malades.

La **valeur prédictive positive (VPP)** est la probabilité qu'un sujet soit effectivement malade en cas de test positif.

La **valeur prédictive négative (VPN)** est la probabilité qu'un sujet soit effectivement non malade en cas de test négatif.

**Le rapport de vraisemblance positif (RV+)** qui est le rapport entre la probabilité de présenter un test positif quand la personne est malade et la probabilité de présenter un test positif quand la personne n'est pas malade.



**Rapport de vraisemblance négatif (RV-)** qui est le rapport entre la probabilité de présenter un test négatif quand la personne est malade et la probabilité de présenter un test négatif quand la personne n'est pas malade.

**Le coefficient de Kappa de Cohen** mesure la reproductibilité d'un test.

Par convention on considère :

Bonne concordance :  $Kappa > 0,6$

Assez bonne concordance :  $0,3 \leq Kappa \leq 0,6$

Mauvaise concordance :  $Kappa < 0,3$

#### 4. Analyses des données

Les tests suivants ont été utilisés :

- Le test de Fischer a été utilisé pour la comparaison des fréquences,
- Le test de Wilcoxon a été utilisé pour la comparaison des moyennes,
- Les résultats sont représentés sous forme de tableaux et de graphiques.

La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative ainsi que leurs intervalles de confiance (IC) à 95%, ont été calculées pour évaluer la performance de l'essai MODS. Les rapports de vraisemblance positive et négative ainsi que le coefficient de Kappa de Cohen ont été calculée pour la technique MODS.

Les délais de positivités ont été comparés entre le MGIT et la technique MODS en utilisant les courbes de Kaplan-Meier. La valeur P inférieure à 0,05 a été utilisée pour indiquer la significativité statistique. Les intervalles de confiance exacts à 95% (IC) ont été calculés sous l'hypothèse binomiale. Les logiciels SPSS version 16.0 et Epi-Info version 7.09 ont été utilisés pour les analyses.

#### 5. Implication dans les travaux

Les activités qui m'ont été confiées dans cette étude étaient :

- Maitriser le recrutement des patients tuberculeux suspects,
- Réceptionner les prélèvements de crachats et de sang,
- Participer au diagnostic bactériologique de la tuberculose par la maîtrise de la microscopie à fluorescence, la culture des mycobactéries,

- Maitriser les techniques de dépistage et la de confirmation du VIH chez les patients tuberculeux.

Dans le cadre du stage de Master 1, les compétences à acquérir étaient :

- Renforcer mes connaissances de base dans le domaine de la tuberculose,
- Etre capable de créer un masque de saisie et de faire l'enregistrement des données recueillies,
- Ecrire et présenter les rapports scientifiques,
- Connaître les différents aspects qui peuvent intervenir dans la résolution d'un problème de santé.

## **6. Considérations éthiques**

Les protocoles de cette étude ont été validés par deux comités d'éthique :

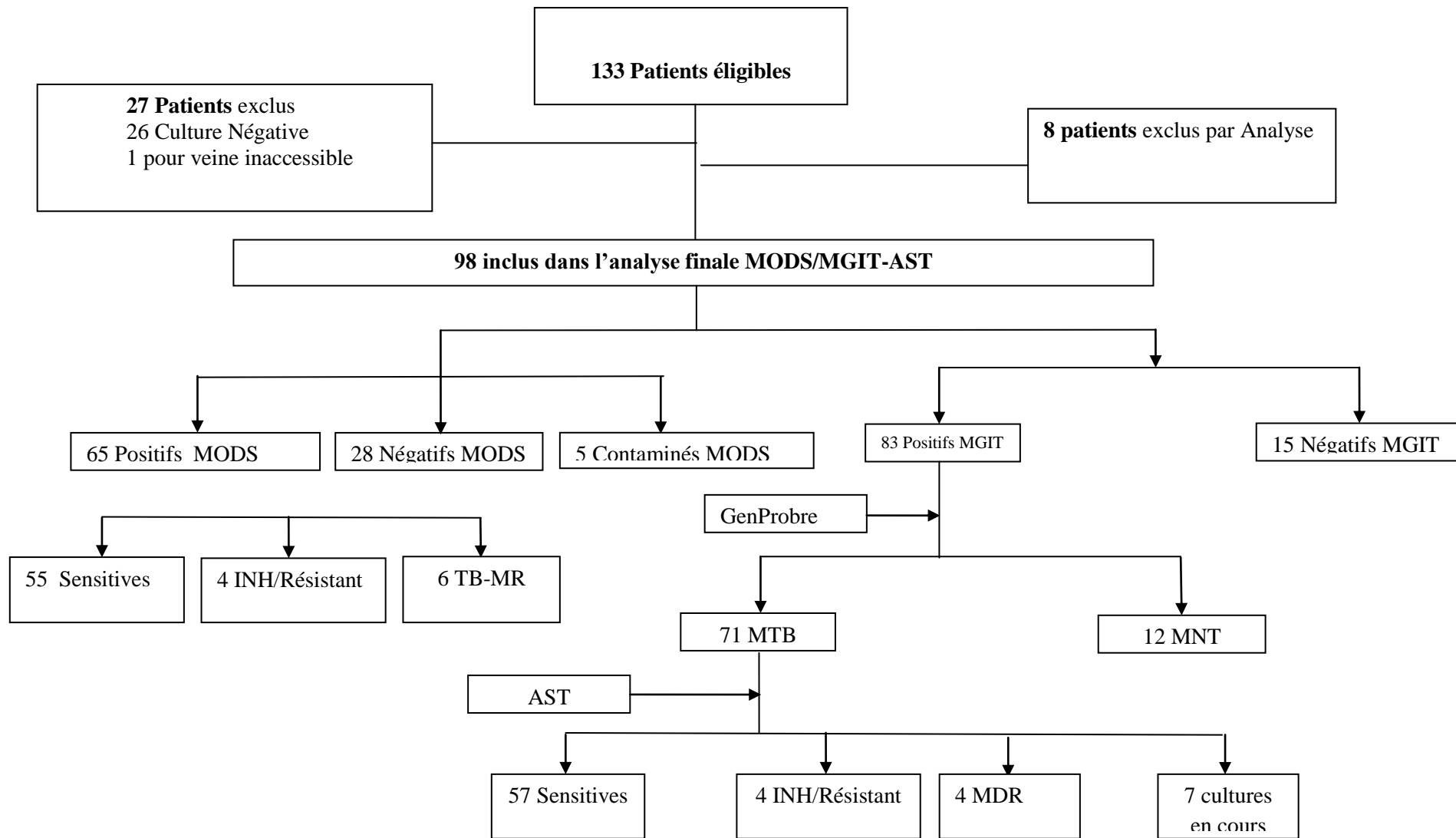
- i/ le comité d'éthique de la FMPOS, Bamako au Mali,
- ii/ et le comité d'éthique de revue institutionnelle des Etats Unis d'Amérique.

Les volontaires désirant participer à l'étude ont tous signé un consentement libre et éclairé de façon autonome avant leur inclusion. Les participants avaient le choix de se retirer de l'étude s'ils le souhaitaient à n'importe quel moment sans que cela n'entraîne aucun inconvénient sur leur suivi et leur traitement par les médecins investigateurs. En signant le consentement, ils acceptaient volontiers que leurs résultats et les échantillons soient utilisés pour d'autres recherches.

La confidentialité a été respectée par l'anonymat des échantillons et l'archivage des dossiers dans une armoire fermée à clé limitant l'accès aux personnels autorisés.

### 3. RESULTATS

#### 3.1. Description du flux des patients d'étude



MDR = Multidrug resistant, TB-MR= Tuberculose multiresistant, AST= antimicrobial susceptibility test, MNT = mycobacterie non tuberculeuse, INH= Isoniazide

**Figure 4: Schéma de sélection des sujets pour l'analyse, étude essai MODS 2010-2015**

Parmi les 133 patients éligibles pour l'étude, 35 patients ont été exclus dont 8 patients par l'analyse. Les échantillons de 98 patients ont été ainsi traités par la technique MODS et le test de référence MGIT-AST-SIRE. Sur les 98 échantillons traités, 65 ont été positifs par la technique MODS, et 9,23% (6/65) ont été diagnostiqués TB- MR (Figure 4). Nous avons constaté que la technique MODS a enregistré cinq contaminations soit 5,10% (5/98)

### 3.2. Population d'étude et paramètres sociodémographiques.

**Tableau I:** Caractéristiques démographiques et cliniques des 98 patients ayant participées à l'essai MODS à Bamako

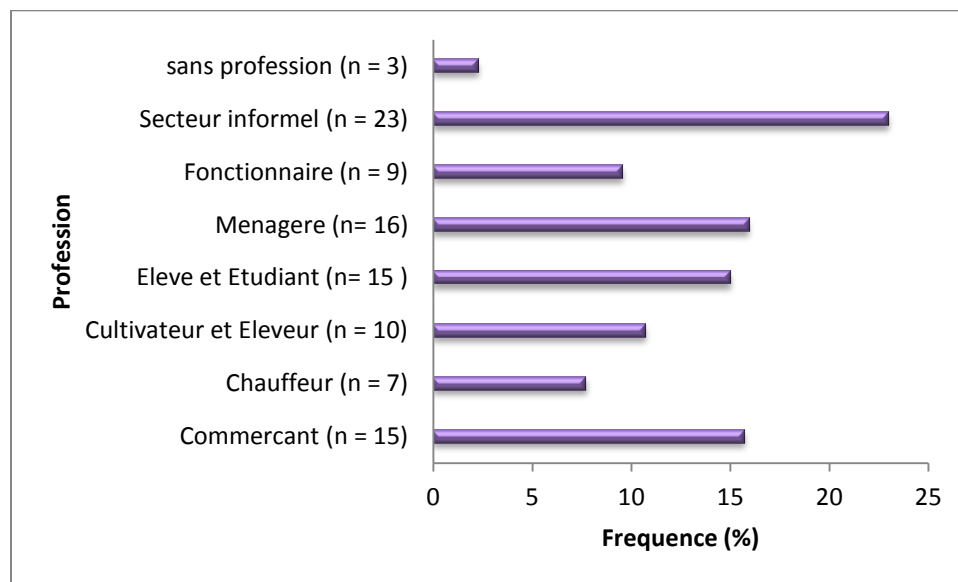
Caractéristique	Effectifs N=98 n(%)	
Age (ans)	14-30	46 (46,94)
	31-45	28 (28,57)
	46-60	18 (18,37)
	>60	6 (6,12)
Provenance	Csref Commune I	2(2,04)
	Csref Commune II	8(8,16)
	Csref Commune III	2(2,04)
	Csref Commune IV	11(11,22)
	Csref Commune V	28(28,57)
	Csref Commune VI	37(37,76)
	*Autres communes	10(10,21)
Profession	Secteur informel	43(43,88)
	Fonctionnaire	13(13,27)
	Ménagère	22(22,45)
	Elève et Etudiant	8(8,16)
	Cultivateur et éleveur	5(5,10)
	Chauffeur	7(7,14)
Sexe	Masculin	65(66,33)
	Féminin	33(33,67)
Statut VIH	Positive	12(12,24)
	Négative	86(87,76)
Résultats microscopiques	Positive à une croix	5(5,10)
	Positive à deux croix	2(2,04)
	Positive à trois croix	81(82,66)

\*Communes de Kati et de Ouelessebougu

Parmi les 98 patients, 66,33 % (65/98) étaient de sexe masculin et 33,67 % (33/98) de sexe féminin. Le sex-ratio masculin/féminin était de 1,96 en faveur du sexe masculin.

Près de 89,79% (88/98) des patients reçus résidaient dans le district de Bamako. La Commune VI de Bamako était la plus représentée avec 37 patients soit 37,76% (Tableau I). L'âge médian des sujets inclus était de 33 ans avec un intervalle interquartile entre (25,5 - 45,5). Le résultat de la microscopie des crachats après par la coloration Auramine et Rhodamine était positif à trois croix dans 82,66% des cas (81/98) et à deux croix dans 5,10% (5/98). Douze pourcent (12%) de patients étaient infectées par le VIH. Dans notre échantillon la tranche d'âge de 14-30 ans était la plus représentée. Au total 12,24% (12/98) des patients étaient par le VIH1.

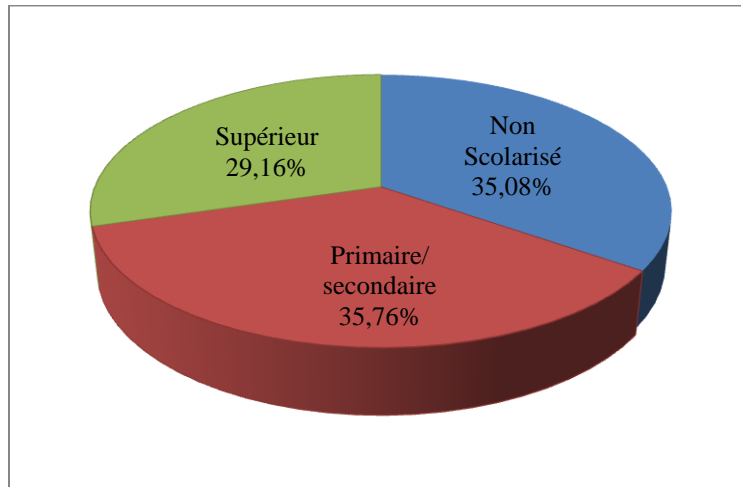
### 3.2.1. Répartition du statut professionnel dans notre population



**Figure 5:** Répartition selon la profession des 98 patients ayant participé à l'étude MODS, à Bamako, entre 2010-2015 à Bamako.

Le secteur informel était la profession la plus représentée avec 23 patients soit 23,01%.

### 3.2.2. Répartition selon le niveau scolaire



**Figure 6 :** Répartition selon le sexe des 98 patients ayant participé à l'étude MODS entre 2010-2015 à Bamako

Le niveau primaire et secondaire était les plus représentés avec respectivement 35,76% (35/98) dans notre étude.

### 3.3. Validité, fiabilité et reproductibilité du test de Diagnostic par MODS

**Tableau II:** Sensibilité, spécificité et les rapports de vraisemblances du test de diagnostic MODS dans la population générale des patients cas suspects de TB.

Groupes	Intervalle de confiance (IC) à 95%			
	Sensibilité %	Spécificité %	RV+	RV-
Groupe A	94,12(84,08-97,98)	85,71(48,69-97,43)	6,58(0,93-46,89)	0,06(0,03-0,14)
Groupe B	40,00 (11,76-76,93)	100 (64,57-100,00)	NA	0,60(0,31-1,15)
Groupe C	100,00 (51,01-100,00)	95,92 (86,29-98,87)	24,50 (9,19-98,96)	0,00(0,00-0,00)
Groupe (A+B+C)	83,33(73,54-89,99)	88,24(65,66-99,71)	7,08(2,64-18,99)	0,18(0,16-0,22)

RV+ = Rapport de vraisemblance positif, RV- = Rapport de vraisemblance négatif

En générales le test de MODS comparé au test de référence (AST-MGIT-SIRE) a donné 87,33% de sensibilité et 88,27% de spécificité. La probabilité qu'un patient soit effectivement malade (tuberculeux) en cas de test positive à MODS est de 97,01%. Chez les patients du groupe A, le test de MODS comparé au gold standard (AST-MGIT-SIRE) a donné 94,12% de sensibilité et 85,71% de spécificité. Parmi les patients du groupe B, la sensibilité a été de 40% et la spécificité 100%. La sensibilité des patients du groupe C a été de 100% et la spécificité de 95,92%.

Dans le groupe A, le rapport de vraisemblance négatif (RV+) était égal à 6,58 et du celui du rapport de vraisemblance négatif (RV-) était égale à 0,068.

**Tableau III:** Les valeurs prédictives, Validité, fiabilité et reproductibilité du test de diagnostic MODS dans la population générale des patients cas suspects de TB.

	Intervalle de confiance (IC) à 95%		
	VPP	VPN	Coefficient de Kappa
Groupe A	97,96 (89,31-99,64)	66,67 (35,42 - 87,94)	0,71 (0,45 - 0,96)
Groupe B	66,67 (20,77-93,85)	70 (39,68 - 89,22)	0,30 (-0,21 - 0,81)
Groupe C	66,67 (30- 90,32)	100 (92,44 - 100)	0,78 (0,51-1,04)
Groupe A+B+C	97,01(89,75-99,18)	53,57(35,81 - 70,47)	0,57 (0,38-0,76)

VPP = Valeur prédictive positive ; VPN= Valeur prédictive négative

La VPP dans la population générale était de 97,01% et la VPN était de 53,57%. Le coefficient de Kappa était de 0,57.

Dans le groupe A, la VPP et la VPN étaient respectivement de 97,96% et de 66,67%. Le coefficient de Kappa de Cohen qui mesure la reproductibilité du test MODS est de 0,71 avec un intervalle de confiance à 95% entre (0,38-0,76) ce qui signifie qu'il y'a une bonne concordance entre le test MODS et le gold standard.

Dans le groupe B, les valeurs prédictives positives et négatives ont été respectivement 66,71% et 70%. Le coefficient de Kappa était de 0,30.

Dans le groupe C, le coefficient de Kappa était de 0,78. La VPP était de 66,67 et la VPP était de 100%.

### 3.4. L'examen microscopique et la technique MODS

**Tableau IV:** Comparaison entre le frottis BARR à l'examen microscopique de crachats et l'essai MODS

	Sensibilité (%) IC à 95%	Spécificité (%) IC à 95%	VR+ IC à 95%	VR- IC à 95%
MODS_Frottis BARR	100,00 (93,47-100)	35,71 (20,71 - 54,17)	1,55 (1,39-1,730)	0(0,000-0,0000)
MGIT_Frottis BARR	95,83(88,45-98,57)	50,00 (26,80 - 73,20)	1,92 (1,45-2,54)	0,0083(0,032- 0,212)

BARR : Bacilles acido-alcalo-résistant

L'examen microscopique permet d'identifier de façon rapide les patients atteints de tuberculose. Cent pourcent (100%) de sensibilités ont été obtenus en comparant l'examen microscopique de crachats et la technique de MODS contre 95,83% pour la technique MGIT. Par contre la spécificité de la lecture au microscope et MGIT est de 50% avec un IC à 95% (26,80 - 73,20), cette spécificité est plus grande que celle de l'examen microscopique de crachats et de la techniques MODS qui est de 35,71 avec un IC à 95% (20,71 - 54,17).

### 3.5. Essai MODS dans le diagnostic des patients co-infectés VIH et tuberculoses.

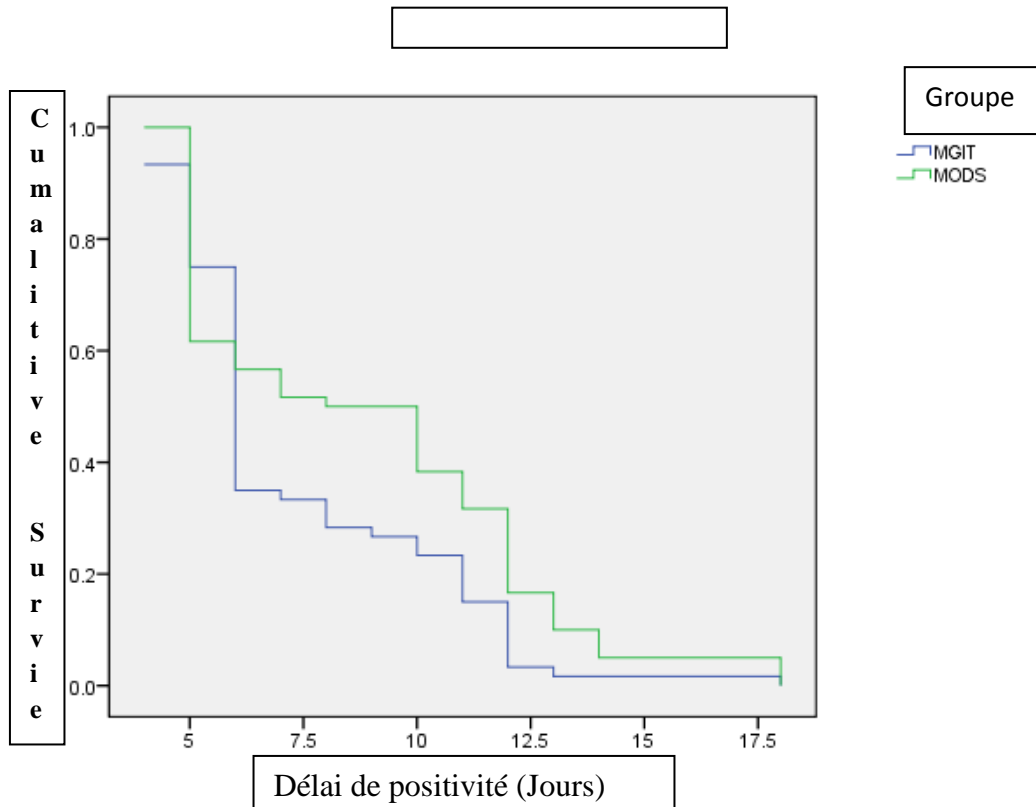
**Tableau V:** Sensibilité, spécificité, les valeurs prédictives par l'essai MODS chez les patients co-infectés

Paramètre	MODS	
	Pourcentage (%)	Intervalle de confiance à 95 %
Sensibilité	50,00 (4/8)	21,52-78,48
Spécificité	100(4/4)	51,01-100
Valeur prédictive Positive(VPP)	100 (4/4)	51,11-100
Valeur prédictive Négative (VPN)	50 (4/8)	21,52-78,48



Dans cette étude MODS la sensibilité était de 50% avec un intervalle de confiance (IC) à 95% (21,52-78,48) et la spécificité était de 100% avec IC à 95% (51,01-100). Les VPP et VPN ont été respectivement de 100% et 50%. Le coefficient Kappa de Cohen était de 0,4, ce qui signifie qu'il y'a une concordance assez bonne entre essai MODS et le test de référence.

### 3.6. Rapidité de MODS dans le diagnostic de la tuberculose



**Figure 7 : Délai de positivité de la technique MODS et de MGIT**

Le délai médian de positivité de la technique MODS était 8 jours avec un intervalle interquartile entre (5-11) jours tandis celui du MGIT était de 6 jours avec un intervalle interquartile entre (5-6) jours. Cette différence est significative ( $p = 0,017$ ). Cependant, les résultats du test de sensibilité aux antituberculeux par la technique MODS sont obtenus en 8 jours pour 35 jours pour la méthode standard du laboratoire.

### 3.7. L'essai MODS comme outils de diagnostic pour la TB-MR

Le test de MODS comparé au test de référence (MIGIT-AST-SIRE) a donné (Tableau II, III) une sensibilité de 100 % et une spécificité de 95,92 % avec une VPP et VPN respectivement de 66,7

% et 100%. Le rapport de vraisemblance positive (RV+) est égal 24,5 et celle de la vraisemblance négative (RV-) est égale à 0. Le coefficient Kappa de Cohen de la technique MODS était de 0,78 avec IC à 95% entre (0,517-1,043).

**Tableau VI** : Comparaison de la fréquence entre l'essai MODS et le test de référence AST/MGIT/SIRE dans le diagnostic de la TB-MR dans le groupe C de l'étude

INH et RIF	MIGIT-AST-SIRE %	MODS	P value
Sensible à l'Isoniazide et à la Rifampicine	87,69 (57/65)	84,62(55/65)	0,6123
Résistant à l'Isoniazide et à la Rifampicine	6,15 (4/65)	9,23 (6/65)	0,5099
Résistant seulement à l'Isoniazide	4,69 (4/65)	6,15 (4/65)	1
<b>TOTAL</b>	100(65/65)	100 65/65)	

INH= Isoniazide; RIF= Rifampicine ; MIGIT-AST-SIRE= test de référence

Dans le groupe C, parmi les échantillons de crachats testés positifs par MODS, 84,62% ont été sensibles à l'isoniazide/rifampicine tandis que 87,69% des échantillons testés par le test standard de référence (la technique AST-MIGIT-SIRE) ont été sensibles à l'isoniazide/rifampicine (Tableau VI). Cette différence entre les deux techniques n'est pas statistiquement significative ( $p = 0,6123$ ), avec un risque alpha égale à 0,05%. Concernant le diagnostic des cas de *MultiDrug Resistant* (MDR), 9,23% ont été diagnostiqué par la technique MODS contre 6,15% par la technique AST. Mais cette différence observée n'est pas statistiquement significative  $p = 0,5099$  avec un risque alpha égal à 0,05%. Les cas de mono-résistance à l'isoniazide par MODS et AST ont été identiques 4,69%.

## 4. DISCUSSION

Nous avons déterminé dans cette étude la spécificité et la sensibilité qui ont été respectivement de 88,73% avec un IC à 95% (73,54-89,99) et 88,24% avec IC à 95% (65,66-96,71) chez les patients ayant un frottis positif et naïf au traitement antituberculeux (groupe A). Ces résultats sont comparables à ceux de RP Lazarus *et al.* en 2012 (20) qui ont trouvé une sensibilité de 94,12% et une spécificité de 89,39 et différent de celui de Zikum *et al.* en 2015 en Chine (23) qui trouve une sensibilité comprise entre 87,78% et 94,4% et une spécificité comprise entre 96,8% et 100%. Le coefficient de Kappa de Cohen dans le groupe A était de 0,71 avec IC à 95% (0,38-0,71) ce qui signifiait qu'il y'a une bonne concordance entre l'essai MODS et le test de référence.

Le délai médian de positivité de la technique MODS a été de 8 jours avec un intervalle interquartile entre 5 et 11 jours tandis que celui du MGIT était de 6 jours avec un intervalle interquartile entre 5 et 6 jours. Cette différence était statistiquement significative ( $p = 0,017$ ). Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Dang Thi *et al.* en 2012 au Vietnam (24) qui obtiennent pour MODS une durée de positivité de 9 jours avec un intervalle interquartile entre 7 et 11 jours et pour MGIT 11 jour avec un intervalle interquartile de (7-13) jours et de Celui de ZiKun et al en 2015 (23) en chine qui trouve pour la technique MODS 8 jours avec un intervalle interquartile (7-14) jours et 11 jours pour la technique standard avec un intervalle interquartile (7-16 jours). Cependant en seulement 8 jours, les résultats aux tests de sensibilité aux antituberculeux par la technique MODS sont obtenus tandis qu'il est de 35 jours pour la méthode standard AST au laboratoire.

Parmi les échantillons de crachats positifs diagnostiqués par la technique MODS, 84.62% ont été sensibles à l'isoniazide/rifampicine tandis que ceux du test standard ont été de 89,06% par la technique MGIT-AST-SIRE. Cette différence entre les deux techniques n'est pas statistiquement significative ( $p = 0,6123$ ), avec un risque alpha égale à 0,05%. Concernant le diagnostic des cas de *Multi-Drug-Resistant* (MDR), 9,23% ont été diagnostiqués par la technique MODS contre 6,15% par la technique AST. Mais cette différence observée n'est pas statistiquement significative  $p=0,5099$ , avec un risque alpha égal à 0,05%. Les cas de mono-résistance à l'isoniazide par MODS et MGIT-AST-SIRE avaient des fréquences identiques avec 4,69%. Dans le groupe C, le test de MODS dans la détection de la tuberculose multi résistant (TB-MR)

comparé au test de référence (MGIT-AST-SIRE) a donné une sensibilité de 100 % et une spécificité de 95,92 % avec une VPP et VPN respectivement de 66,7 % et 100%. Ces résultats sont similaires à ceux de ZiKun *et al* en 2015 en chine (23) qui trouvent pour une sensibilité de 93,5% et une spécificité de 100% pour le site 1, celui de Rasslan *et al.* 2012 en Egypte (25) qui trouvent 95,3% de sensibilité et 95,5% de spécificité et différent de celui Bwanga *et al* en Uganda en 2010 (19) qui trouvent une sensibilité de 71% et une spécificité de 100%. Le coefficient de Kappa de Cohen dans le groupe C était de 0,78 avec IC à 95% (0,517-1,043) ce qui signifiait qu'il y'a une bonne concordance entre l'essai MODS et le test de référence.

La sensibilité et la spécificité chez les patients co-infectés par le VIH et TB ont été respectivement de 50% et de 100%. Ces résultats sont différent de ceux de Dang *et al* en 2010 au Vietnam (24) qui trouve une sensibilité de 87% et une spécificité de 93%.

La technique MODS est une méthode de laboratoire qui est faisable dans n'importe quel environnement de laboratoire avec niveau de sécurité 2 qui est équipé d'un incubateur, d'une centrifugeuse et d'un microscope optique inversé. Cependant la technique de MODS recommande le renforcement des mesures de biosécurité. Il est à noter que les résultats de MODS dépendent de la qualité de l'expectoration et la maîtrise du microscope optique inversé. De nombreuses études et OMS montrent que la technique MODS est un outil rentable et valable pour le diagnostic de la tuberculose dans les pays à ressources limitées (17,26–28).

Notre étude nous a montré finalement que la technique MODS peut être un bon outil rapide et fiable pour le diagnostic de la tuberculose voir même de la tuberculose multirésistant.

### **Forces et limite de l'étude**

Notre étude est l'une des rares études qui évaluer sur la technique MODS pour le diagnostic et l'antibiogramme des antituberculeux au Mali. C'est une technique rapide et fiable dans le diagnostic des patients tuberculeux et surtout dans le diagnostic des TB-MR. Malgré ces résultats encourageant, les limites de cette étude pourraient être :

- Les difficultés rencontrées dans le traitement des échantillons (cas de contamination).
- Le nombre relativement faible des patients co-infectés par le VIH et la TB pour mener des analyses approfondis dans ce sous groupe.
- Un échantillon beaucoup plus large comprenant les malades des différentes régions du Mali pourrait cerner tous les obstacles en vue de déploiement de l'essai MODS au Mali.

## 5. CONCLUSION

Nous avons mené une étude cohorte d'observation au service de pneumologie du CHU de point G et dans les six centres de référence de santé du district de Bamako au Mali pour évaluer l'utilité de la technique de l'essai MODS dans le diagnostic de la tuberculose entre Janvier 2010 et Octobre 2015.

Par ailleurs, la performance de MODS comparé aux méthodes standards de diagnostic de la tuberculose a montré qu'il peut être considéré comme un outil de diagnostic dans la tuberculose dans les pays à ressources limités comme le Mali. L'essai MODS également un outil d'identification rapide des MDR permettant ainsi de :

- Rationaliser les traitements pour les patients,
- Favoriser leur guérison rapide et,
- Réduire la transmission des Bacille de Koch dans nos communautés,
- Méthode simple rapide et abordable, MODS peut conduire à un grand progrès dans la lutte contre la tuberculose au Mali.

**Perspective :** La technique MODS ayant permis de faire le diagnostic et le test de sensibilité sur des antituberculeux, il serait judicieux de planifier son déploiement en périphérique pour mieux rationalisé l'utilisation pour des antituberculeux de la seconde ligne au Mali. Cela aura comme avantage de détecter chez les patients TB-MR et de la tuberculose ultra-résistante (TB-UR) en vue d'une prise en charge adéquate.

## 6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Alexander KA, Laver PN, Michel AL, Williams M, van Helden PD, Warren RM, et al. Novel Mycobacterium tuberculosis complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis*. 2010 Aug;16(8):1296–9.
2. WHO | Tuberculosis [Internet]. Visité 1<sup>er</sup> Août 2015, à l'adresse <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>
3. Tuberculosis now rivals AIDS as leading cause of death: WHO. Reuters [Internet]. Visité 28 Octobre 2015. <http://www.reuters.com/article/2015/10/28/us-health-tuberculosis-global-idUSKCN0SM1Z520151028>
4. OMS | Co-infection tuberculose/VIH [Internet]. WHO. Visité 6 Novembre 2015, à l'adresse <http://www.who.int/tb/challenges/hiv/fr/>
5. WHO | Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) [Internet]. Visité 24 Octobre 2015, à l'adresse <http://www.who.int/tb/challenges/mdr/en/>
6. Chan ED, Iseman MD. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review. *Curr Opin Infect Dis*. 2008;21(6):587–95.
7. Nathanson E, Nunn P, Uplekar M, Floyd K, Jaramillo E, Lönnroth K, et al. MDR tuberculosis-critical steps for prevention and control. *N Engl J Med*. 2010 Sep 9;363(11):1050–8.
8. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med*. 2010 Sep 9;363(11):1005–15.
9. Small PM, Pai M. Tuberculosis diagnosis--time for a game change. *N Engl J Med*. 2010 Sep 9;363(11):1070–1.
10. MALI - statistiques-mondiales.com - Statistiques et cartes [Internet]. Visité 8 Sep 2015 à l'adresse: <zotero://attachment/92/>
11. Global Tuberculosis report 2015 [Internet]. Visité 29 Octobre 2015 à l'adresse [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf?ua=1)
12. Organization WH. World health statistics 2010 [Internet]. World Health Organization; 2010. Visité 1<sup>er</sup> Août 2015 à l'adresse <https://books.google.com/books?>
13. Traore B, Diarra B, Dembele BPP, Somboro AM, Hammond AS, Siddiqui S, et al. Molecular strain typing of Mycobacterium tuberculosis complex in Bamako, Mali. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. 2012 Jul;16(7):911–6.

14. Siddiqi K, Lambert M-L, Walley J. Clinical diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in low-income countries: the current evidence. *Lancet Infect Dis*. 2003 May;3(5):288–96.
15. Steingart KR, Henry M, Ng V, Hopewell PC, Ramsay A, Cunningham J, et al. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2006 Sep;6(9):570–81.
16. Moore DAJ, Evans CAW, Gilman RH, Caviedes L, Coronel J, Vivar A, et al. Microscopic-observation drug-susceptibility assay for the diagnosis of TB. *N Engl J Med*. 2006 Oct 12;355(15):1539–50.
17. Caviedes L, Lee TS, Gilman RH, Sheen P, Spellman E, Lee EH, et al. Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum by microscopic observation of broth cultures. The Tuberculosis Working Group in Peru. *J Clin Microbiol*. 2000 Mar;38(3):1203–8.
18. Moore DAJ, Mendoza D, Gilman RH, Evans CAW, Hollm Delgado M-G, Guerra J, et al. Microscopic observation drug susceptibility assay, a rapid, reliable diagnostic test for multidrug-resistant tuberculosis suitable for use in resource-poor settings. *J Clin Microbiol*. 2004 Oct;42(10):4432–7.
19. Bwanga F, Joloba ML, Haile M, Hoffner S. Evaluation of seven tests for the rapid detection of multidrug-resistant tuberculosis in Uganda. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. 2010 Jul;14(7):890–5.
20. Lazarus RP, Kalaiselvan S, John KR, Michael JS. Evaluation of the microscopic observational drug susceptibility assay for rapid and efficient diagnosis of multi-drug resistant tuberculosis. *Indian J Med Microbiol*. 2012 Mar;30(1):64–8.
21. Van Deun A, Martin A, Palomino JC. Diagnosis of drug-resistant tuberculosis: reliability and rapidity of detection [State of the art series. Drug-resistant tuberculosis. Edited by C-Y. Chiang. Number 3 in the series]. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010 Feb 1;14(2):131–40.
22. WHO | Toman's tuberculosis: case detection, treatment and monitoring: questions and answers (2nd edition) [Internet]. Visité le 9 Novembre 2015. à l'adresse: <http://www.who.int/tb/publications/toman/en/>
23. Huang Z, Qin C, Du J, Luo Q, Wang Y, Zhang W, et al. Evaluation of the microscopic observation drug susceptibility assay for the rapid detection of MDR-TB and XDR-TB in China: a prospective multicentre study. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Feb;70(2):456–62.
24. Dang TMH, Nguyen TNL, Wolbers M, Vo SK, Hoang TTH, Nguyen HD, et al. Evaluation of microscopic observation drug susceptibility assay for diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis in Viet Nam. *BMC Infect Dis*. 2012;12:49.

25. Rasslan O, Hafez SF, Hashem M, Ahmed OI, Faramawy M a. S, Khater WS, et al. Microscopic observation drug susceptibility assay in the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. 2012 Jul;16(7):941–6.
26. World Health Organization. *Global tuberculosis control: WHO report 2011*. Geneva: World Health Organization; 2011.
27. Wang L, Mohammad SH, Chaiyasirinroje B, Li Q, Rienthong S, Rienthong D, et al. Evaluating the Auto-MODS assay, a novel tool for tuberculosis diagnosis for use in resource-limited settings. *J Clin Microbiol*. 2015 Jan;53(1):172–8.
28. Kam KM. Microscopic observation drug susceptibility (MODS): where are we going? *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. 2014 Feb;18(2):127.



## 7. ANNEXES

### Annexe 1. Questionnaire d'enquête

#### **I. INFORMATION SOCIO-DEMOGRAPHIQUE**

Numéro d'identification du patient _____ /
Numéro du dossier hôpital _____ /
Nom : _____ /
Prénom : _____ /
Sexe : Masculin <input type="checkbox"/> Féminin <input type="checkbox"/>
Age : <u>  </u> / <u>  </u> / <u>  </u> ans
Profession : _____ /
Adresse : _____ /
Niveau d'éducation : Non Scolarisé <input type="checkbox"/> Primaire et secondaire <input type="checkbox"/> Supérieur <input type="checkbox"/>

#### **II. INFORMATION CLINIQUE**

##### 1. Interrogatoire

1. Avez-vous la toux ?	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
2. Si oui depuis combien de temps :	2 semaines <input type="checkbox"/>	3 semaines ou plus <input type="checkbox"/>
3. Avez-vous de la sueur nocturne?	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
4. Avez-vous de la fièvre ?	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
5. Avez-vous perdu du poids ces derniers temps?	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
<b>2. Examen Physique :</b>		

##### 2 Signe Vitaux

Température	<u>  </u> / <u>  </u> / <u>  </u> °C
Pouls	<u>  </u> / <u>  </u> / <u>  </u> Battement/mn
Fréquence respiratoire	<u>  </u> / <u>  </u> / <u>  </u> Cycle /mn
Pression diastolique	<u>  </u> / <u>  </u> / <u>  </u> / <u>  </u> mmHg
Pression systolique	<u>  </u> / <u>  </u> / <u>  </u> mmHg

### 3. Symptômes

Symptômes	Non	Oui	Si oui bref description
1. Altération de l'état général	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----
2. Amaigrissement	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----
3. Toux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----
4. Fièvre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----
5. Perte de poids	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----
6. Râles crépitant	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----

### III. INFORMATION BIOLOGIQUE

#### 1. Numération formule sanguine

Leucocytes (GB)	____/____/____/____/____/	$10^3/\mu 1$
Hématies (GR)	____/____/____/____/____/	$10^6/\mu 1$
Hémoglobine (Hb)	____/____/____/____/	g/dl
Hématocrite (HCT)	____/____/____/____/	%
Concentration corpusculaire		
Moyenne en hémoglobine (MCCH)	____/____/____/____/	g/dl
Teneur en concentration		
Moyenne en hémoglobine (TCMH)	____/____/____/____/	pg
Volume globulaire moyen (VGM)	____/____/____/____/	fl
Plaquettes	____/____/____/____/	$10^3/\mu 1$
Indice de distribution érythrocytaire	____/____/____/____/	%

## 2. Test sérologique

Test Determine : Négatif  Positif  indéterminé   
Test ELISA(Genscreen) : Négatif  Positif  indéterminé   
Western Blot (New Lav blot I): Négatif  Positif  indéterminé   
Western Blot (New Lav blot II): Négatif  Positif  indéterminé

## 3. Test Diagnostic Mycobactérie

### 3.1. Microscopie :

Absence de BAAR   
Présence de BAAR: 1 croix  2 croix  3 croix

### 3.2. Culture :

Culture négative pour les mycobactéries   
Culture positive pour les mycobactéries

### 3.3. MODS

Absence de cording   
Présence de cording

### 3.4. Identification :

MTBc   
 MNT

## Annexe 2 : Interprétation des plaques MODS

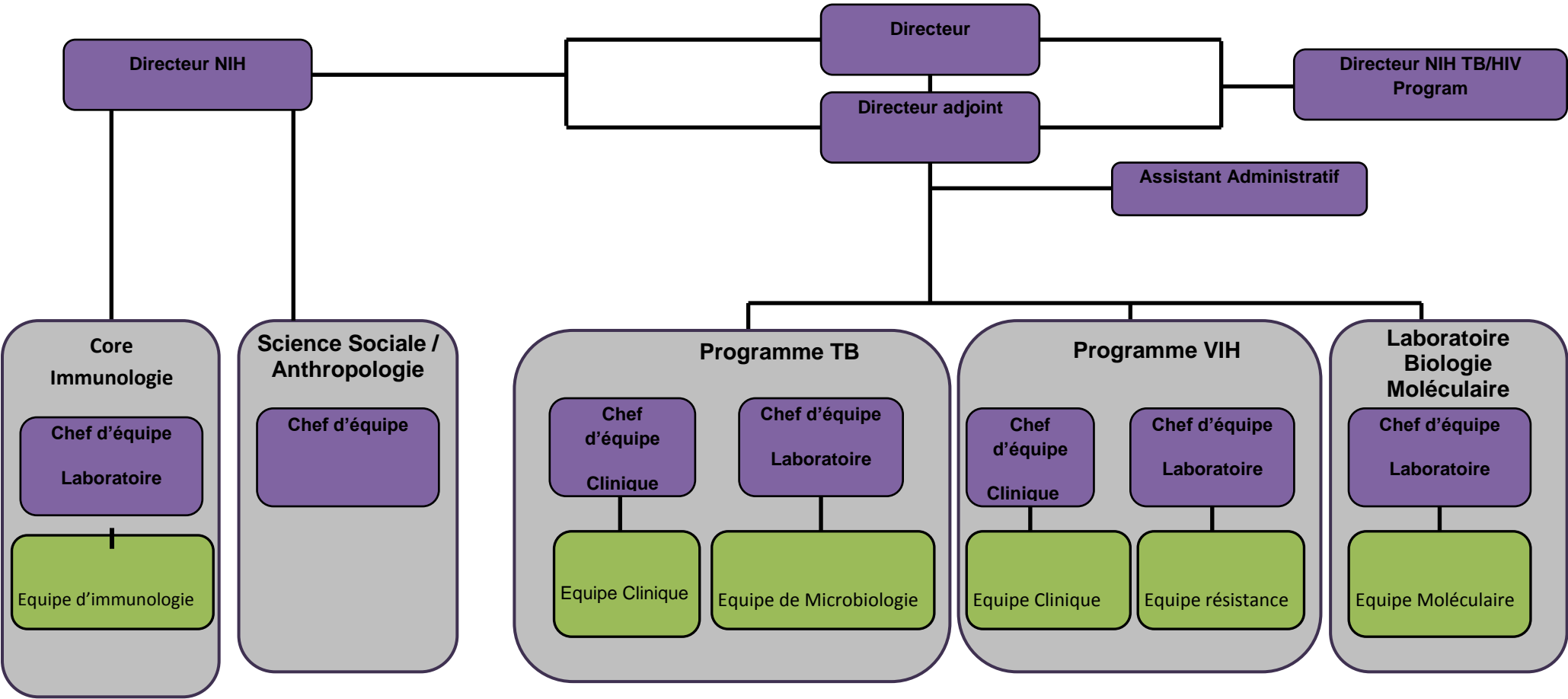
**Tableau I :** Lecture de la Plaque de l'essai MODS

Observation	Interprétation
> 2 Unité formant Colonie (cfu)	Positive
Pas de croissance (0 cfu)	Négative
1 cfu	Indéterminée
Bactérie / prolifération fongique	Contaminée

**Tableau II :** Interprétation des résultats de l'essai MODS

Résultats des puits combinés	Interprétation finale de la Plaque
Deux puits positifs	Positif
Deux puits négatif	Négatif
Chaque puits indéterminé	Indéterminé
Un puits positif, un autre puits négatif	Indéterminé
Un puits positif, un autre puits indéterminé	Indéterminé
Bactérie / prolifération fongique	Contaminé

**Annexe 3. Organigramme du Programme SEREFO**



**Figure 1 :** Organigramme du SEREFO/CEREFO 2013