REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master
En science de la nature et de la vie
Spécialité : Biologie et pathologie cellulaire

Thème :

Etude épidémiologique et clinique de la tuberculose dans la wilaya de Médéa

Présenter par :
ZOULIKHA Chaimaa
NADJRAOUI Yasmine

Soutenue publiquement le : 09 /09 /2018. Devant le jury composé de :
Président :M. NASRI Riadh
Promoteur : ABESS Rachida
Examinateur : DOUAOUI Sanaa

Année universitaire : 2017-2018

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail de mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements.

Avant tout nous remercions le Dieu qui nous a donné le courage et la volonté de pouvoir achever se modeste travail.

Nous remercions notre encadreur, Dr Abes Rachida ,et le Dr.Garnaout le chef service de laboratoire de l'anapath de Médéa qui ont été toujours présente à nos côté pour nous guider, leur critique et leur conseils nous ont permis d'évaluer nos connaissances acquises et aussi de les approfondir.

Nous tenons à remercier aussi les responsables et les travailleurs de S.C.T.M.R de zoubiria , qui nos ont facilités les choses.

Tous ceux qui nous ont aidés de prés et de loin.

Dédicace

A Allah, Tout puissant Qui m'a inspiré, Qui m'a guidé dans le bon chemin. Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.

A mon très cher père ZOULIKHA ABDEL KADER

A Ma très chère Mère GHETTASS ATTIKA

Par vos sacrifices et vos bons soins, vous m'avez donné le courage pour affronter tous les obstacles, et supporter toutes les difficultés.

Nulle dédicace ne pourrait refléter ma profonde reconnaissance.

Je vous dois tout, puisse dieu vous préserver et vous accorder, santé et bonheur.

A mes chers beaux frères : Mohamed Saleh , Tarek , sabra, firouze

J'espère que ce travail sera le témoignage de mon amour profond et mon respect.

A ma très chère sœur: Ben amour chaimaa

ZOULIKHA Chaimaa

Dédicace

A l’hommage de ma mère FEKHAR Nabila qui a toujours partagé

Avec nous le bon et le mauvais

A mon cher papaNedjraoui Noureddine pour son amour et son support continu

A mes chers frères Mohammed .Oussama et ma sœurManel

Mon amour pour vous est si profond

A mon cher mariBenmouloud Farouk et ma belle famille.

A toute ma famille

A tous mes chers amisSihem .Nadia

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles

Je dédie ce travail

NEDJRAOUI Yasmine

TABLE DES MATIERES

o Liste des figures

o Liste des tableaux

o Liste des abréviation

o Introduction générale

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Généralités

I. Aperçu biologique de la tuberculose……..……..03

1. Etude bactériologique ……..……..……03

1.1. Classification ……..……...……..03

1.2. Caractères morphologiques …….. ……...…04

1.3. Caractères culturaux ……..…….....…..06

1.4. Caractères biochimiques ……...……..…....….07

1.5. Identification bactériologique ……...……..…….....…07

2. Etude clinique …….....……....…08

2.1. Tuberculose infection ……..……...…08

2.1.1.la primo –infection tuberculeuse (PIT) ……08

2.2. Tuberculose maladie …….…..…08

2.2.1 La tuberculose pulmonaire …….……...…...09

2.2.2 La tuberculose extra-pulmonaire ……...…..09

3. Physiopathologie et immunité …….……11

3.1. Infection par inhalation – primo-infection ……..…11

3.2. Motifs mycobactériens et récepteurs de l'immunité ……..…….11

3.3 .la formation du granulome …….……..…14

4. Diagnostic bactériologique de la tuberculose ……..… 16

4.1. Examen direct …….……..... 16

4.1.1. Examen microscopique ……... 17

4.1.2. la mise en culture …….. 17

4.2. Examen indirect ……..…… 17

4.2.1. L'intradermo- réaction à la tuberculine (IDR) …….…….. 17

4.2.2. Tests IGRA (Interferon Gamma Release Assay) ……...…….18

4.2.3. Radiographie du thorax ……19

4.2.4. Amplification génique ……..…….19

5. Traitement ……...…….. 20

5.1. Médicaments antituberculeux essentiels ……...…….……..20

5.2. les catégories de traitement ……..……22

II. Épidémiologie de la tuberculose ……..……..24
1. Dans le monde …….…….24
2. En Afrique. Cas de l'Algérie …….…….. 27
2.1. L'incidence ……..……29
2.2. Caractéristiques des cas de tuberculoses ……...……..…….31
a. réparation par âge et sexe ……...……...…….31
b. caractéristique clinique et bactériologique ……...…….32
c. mortalité ……..…….32
3. Historique ……32
4. Facteurs modifiant l'épidémiologie de la tuberculose ……..……..…… 34
4.1. Facteurs socio-économiques …….…. 34
4.2. Traitement antituberculeux …….…….34
4.3. L'infection par le VIH …….…… 34
4.4. Vaccination par le BCG ……..……..35
ETUDE EXPERIMENTALE
I. MATERIEL ……...……..36
1. Lieu et durée d'étude……..……36
2. Matériel biologique …….……36
3. Autre matériel …….……36
4. Documents consultés……36
II . METHODES DE DIAGNOSTIC…….……37
1. Les examens bactériologiques ……...…….37
1.1. Prélèvements d'échantillons…….……37
1.2. Examen direct …….…….37
1.2.1. Préparation du frottis à partir d'un crachat et d'autres produits pathologiques…….38
1.2.2. Fixation du frottis……...……38
1.2.3. Coloration de Ziehl Neelsen à chaud…….……..38
1.2.4. Lecture et interprétation des résultats …….……39
1.3. la mise en culture des produits pathologiques…….……41
1.3.1 .la mise en culture des crachats et prélèvements contaminés…….……41
1.3.2. la mise en culture les prélèvements non contaminées…….43
1.3.3. Détermination de l'aspect des colonies et la vitesse de croissance ……..…….43
2. l'examen anatomo-pathologique……..…….44
2.1. Techniques d'étude des cellules…….……..45
2. 1.1. Etalement cytologique ……...……..45

2.2. Techniques d'étude des tissus……46
2.2.1.Étude macroscopique……..……47
2.2.2.Étude microscopique ……..……48
III. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE
1. Méthodologie d'étude épidémiologique ……...……..49
IV. RESULTATS……..…….…….54
V. DISCUSSION……...…….63
CONCLUSION……..……66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
RESUME
ANNEXES

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique …….. 04

Figure 02 : Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants ……..……...06

Figure 03 : Les différents PRRs impliqués dans la reconnaissance de *M. tuberculosis*.....14

Figure 04 : Schéma de l'infection par les bacilles tuberculeux dans le macrophage…….....16

Figure 05 : Incidence estimée de la tuberculose en 2014, nombre de ca pour 100 000 personne……...……..……..……25

Figure 06 : Prévalence estimée de l'infection par le VIH parmi les nouveaux cas et les rechutes de tuberculose (en %)……...……..….26

Figure07: Pourcentage de nouveaux cas de tuberculose à bacilles multirésistants (%) en 2014…….…….26

Figure 08: Incidence de la tuberculose toutes formes confondues en 2009 selon les Wilayas……..28

Figure 09 : Evolution du nombre des nouveaux cas de tuberculose déclarés en Algérie entre 1982 et 2010…….29

Figure 10 : Evolution de l'incidence de la tuberculose entre 2000 et 2010……..….30

Figure 11 : Incidence de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+) par sexe et tranche d'âge en 2010 en Algérie……..……31

Figure 12 : image photographique des frottis……40

Figure 13: les étapes de la mise en culture d'écouvillon laryngé ou de pus ……..42

Figure 14: les étapes de la mise en culture d'un liquide Ascite ……43

Figure 15 : l' aspect rugueux en « chou-fleur » des colonies après six semaines……..44

Figure 16 : l'étalement d'un suc ganglionnaire sur une lame neuve ……46

Figure 17 : aspect macroscopique d'une pièce d'exérèse de prostate fixée dans le formol siège d'une tuberculose évolutive……47

Figure 18 : Mesure et dissection d'une pièce d'exérèse de prostate fixée dans le formol puis sélection des prélèvements destinés à l'étude…….47

Figure 19 : Coupe histologique montrant une parenchyme testiculaire siège d'un granulome épithélio-giganto-cellulaire avec nécrose caséeuse attestant une tuberculose évolutive**……48**

Figure 20 : Evolution de l'incidence de la tuberculose entre 2012-2017 déclarées dans la wilaya de Médéa…….…..54

Figure 21 : Evolution du nombre de nouveaux cas de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire entre 2012 et 2017 déclarées dans la wilaya de Médéa …….55

Figure 22 : la répartition des nouveaux cas de tuberculose selon le type et le sexe entre 2012 et 2017……..56

Figure 23 : La répartition des nouveaux cas de tuberculose selon le sexe et la forme **……..57**

Figure 24 : La répartition des nouveaux cas de tuberculose selon l'âge…….58

Figure 25 : La répartition des nouveaux cas de tuberculose selon la localisation……...59

Figure 26 : La répartition des cas de tuberculose extra pulmonaire prouvées et non prouvées (la confirmation bactériologique)……...…..60

Figure 27 : La répartition des cas de tuberculose en fonction de résultat du traitement **…….**61

Figure 28: Evolution de l'incidence de la tuberculose déclarés en 2016 et 2017 par daïras..62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau A : La localisation de la tuberculose extra –pulmonaire et les manifestations cliniques ……...……11

Tableau B : Traitement antituberculeux essentiels ……..……..….21

Tableau C : Catégories et régimes de traitement de la tuberculose ……..……..…22

Tableau D: Tuberculose : estimations de l'incidence, de la prévalence et de la mortalité en 2009 dans les différentes régions du monde selon l'OMS ……..……28

Tableau E : Nombre de cas déclarés de la tuberculose de 2005 à 2010 ……..…..….30

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucleique

ARN : acide ribonucleique

BAAR : Bacille Acido-Alcoolo-Résistant

BCG :vaccin Bilié de Calmette et Guérin

CFP-10 : Culture FiltrateProtein 10

CR3 :récepteur au complément de type 3

DC-SIGN : Dendritic Cells- Specific intracellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin

E : Ethambutol

Elisa :enzyme lincked immunosorbent assay

ESAT-6 : Early Secretory Target Protein 6

H: Isoniazide

IDR : intradermo-réaction à la tuberculine

IFN-γ : interféron gamma

INSP :INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE

LCR : Ligase chainreaction

MCP-1 : protéine chimiotactique des monocytes 1

MDR : Souches multi-résistantes

MNT:Mycobactéries non tuberculeuses

MR :le récepteur au mannose

***M. tuberculosis* :**mycobacteruim tuberculosis

NK : Natural killer

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAMPs :Pathogen Associated Molecular Patterns

PCR :polymerase chain reaction

PRRs: Patterns Recognizing Receptors

R : Rifampicine

RAI : risqueannueld'infection

RD1 : Region of Difference 1

S : Streptomycine

S.C.T.M.R : Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires

SP-A : protéine de surface A

SP-D : protéine de surface D

T : Thioacétazone

TAG : Les tests d'amplification génique

TAR :traitement antirétroviral

TB :tuberculose

TB-MR : tuberculose multi-résistante

TCT : test cutanétuberculinique

Tep :tuberculose extra pulmonaire

Tests IGRA : Interferon Gamma Release Assay

TLRs : Toll-Like Receptors

TMA : test Amplified M. tuberculosis direct

TP : tuberculose pulmonaire

URSS : L'Union des républiques socialistes soviétiques

UV : ultra violet

VIH : Virus d'Immunodéficience Humaine

Z : Pyrazinamide

Introduction générale :

La tuberculose est une maladie infectieuse due à *M. TUBERCULOSIS* . Elle affecte habituellement les poumons mais peut toucher d'autres organes. La maladie est devenue rare dans les pays riches mais reste un problème majeur de santé publique dans les pays à revenu faible et moyen ***(Francis et al . ,2014).***

Alors que la réduction du problème posé par la tuberculose semblait accessible à un nombre de plus en plus grand de pays aux approches de l'an 2000, une augmentation du nombre de cas de tuberculose a été enregistrée dans le monde au cours de la dernière décennie ***(NADIA AIT-KHALED et al. ,1999).***

Dans son dernier rapport, l'OMS déclare 6,3 millions de nouveaux cas de tuberculose ont été signalés avec 1,3 million de décès en 2016 ***(OMS, 2017).***

Chaque seconde, une nouvelle personne dans le monde est infectée par le bacille de Koch, avec 1% de la population mondiale nouvellement infectée et près de 9 millions d'individus développant cette maladie ***(Silva & al., 2012).***

La plupart des décès par tuberculose pourraient être évités moyennant un diagnostic précoce et un traitement adapté. Chaque année, des millions de personnes reçoivent un diagnostic de la tuberculose et sont traitées avec succès, ce qui permet d'éviter des millions de décès. Plus globalement, d'autres éléments exercent une influence sur l'épidémie de tuberculose, notamment les niveaux de pauvreté , l'infection à VIH, la sous-nutrition et la consommation de tabac ***(OMS, 2017).***

Ce présent travail vient pour mettre en lumière la maladie de la tuberculose (épidémiologie , transmission et évolution, diagnostic, traitement et prévention) et

également d'avoir un aperçu pratique son ampleur et son évolution au cours de ces dernières années dans la Wilaya de Médéa. Le présent document est scindé en deux parties :

La première est consacrée à un rappel bibliographique dans le but de mieux cerner la maladie de la tuberculose.

Dans la deuxième partie :

- En premier lieu, nous avons orienté notre travail dans le sens de connaitre mieux les déférentes méthodes de diagnostic de cette maladie en faisant appel aux examens bactériologiques et anatomo-pathologique , elle servira à la recherche des bacilles *M. TUBERCULOSIS* dans les produits pathologiques réceptionnés au niveau du laboratoire du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires (S.C.T.M.R.) et au niveau de l'hôpital BOUDIAF Mohamed à Médéa.

-En second lieu, nous nous sommes intéressés à une évaluation épidémiologique en ciblant des malades de Médéa en se basant sur divers critères (âge, sexe, type de tuberculose…). Dans ce cas, une étude rétrospective des cas de la tuberculeuse a été menée en exploitant les fiches de la direction de la santé et de la population de la wilaya de Médéa (DSP).

Quelle sont les aspects épidémiologiques et les aspects évolutifs de la maladie dans notre wilaya ?

Généralités

I. APERÇU BIOCLINIQUE DE LA TUBERCULOSE

1. ETUDE BACTERIOLOGIQUE

La tuberculose est une maladie infectieuse secondaire à la multiplication de bactéries faisant partie du genre *Mycobacterium*. La principale bactérie responsable de l'affection est *M. tuberculosis* . Ce sont des bacilles aérobies stricts ,acido-alcoolo-résistant, à division lente (20heures en moyenne) ***(*NADIA AIT-KHALED *et al . ,1999)***

1.1. Classification

Le genre *Mycobacterium* est le seul genre de la famille des *Mycobacteriaceae* dans l'ordre des *actinomycétales* au quel appartiennent de nombreux genres **(François Denis ,2007*).***

Le genre *Mycobacterium* rassemble plus de 80 espèces qui sont réparties en 3 groupes classés en fonction de leur pouvoir pathogène:

- Complexe Mycobacterium tuberculosis : ce groupe comprend *M. TUBERCULOSIS* , *M. BOVIS , M. AFRICANUM , M. MICROTI* et *M. CANETTI* . Elles peuvent provoquer la "tuberculose" (TB) chez l'homme. Les cas de TB sont dus en grande majorité à *M. TUBERCULOSIS* , les autres organismes étant relativement rares. Leur traitement est similaire (mais M. BOVIS est naturellement résistant au pyrazinamide *et M. AFRICANUM* naturellement résistant à la thioacétazone) ***(*Francis Varaine et *al .,20014).***

Ces trois espèces de bacilles sont des mycobactéries tuberculeuses et constituent le complexe tuberculosis » ***(*NADIA AIT-KHALED et *al .,1999).***

– Mycobacterium leprae est l'agent causal de la lèpre (La lèpre est reconnaissable par les lésions cutanées qu'elle cause des plaques douloureuses de dépigmentation, ou rougeâtres, apparaissent et parfois des excroissances)

– Mycobactéries non tuberculeuses (MNT) : ce groupecomprend toutes les autres mycobactéries potentiellement pathogènes pour l'être humain. Les MNT peuvent parfois provoquer des manifestations cliniques (au niveau des poumons, de la peau, des os ou des ganglions lymphatiques) similaires à celles de la TB. La plupart des MNT existe dans l'environnement. En général, elles ne sont pas transmises de personne à personne et ne sont

pas pathogènes chez les personnes dont le système immunitaire est intact ou le tissu pulmonaire sain **(Francis Varaine , 2014).**

1.2. Caractères morphologiques

Mycobacterium tuberculosis est un fin bacille de 2 à 5 um de long, légèrement incurvé, aux extrémités arrondies, non sporulé, immobile.

C'est une bactérie gram positif mais difficilement colorable par cette méthode. La méthode de Ziehl-Neelsen révèle son acido-alcoolo-résistance et les bacilles tuberculeux apparaissent alors rouges sur fond bleu **(Carole,2005).**

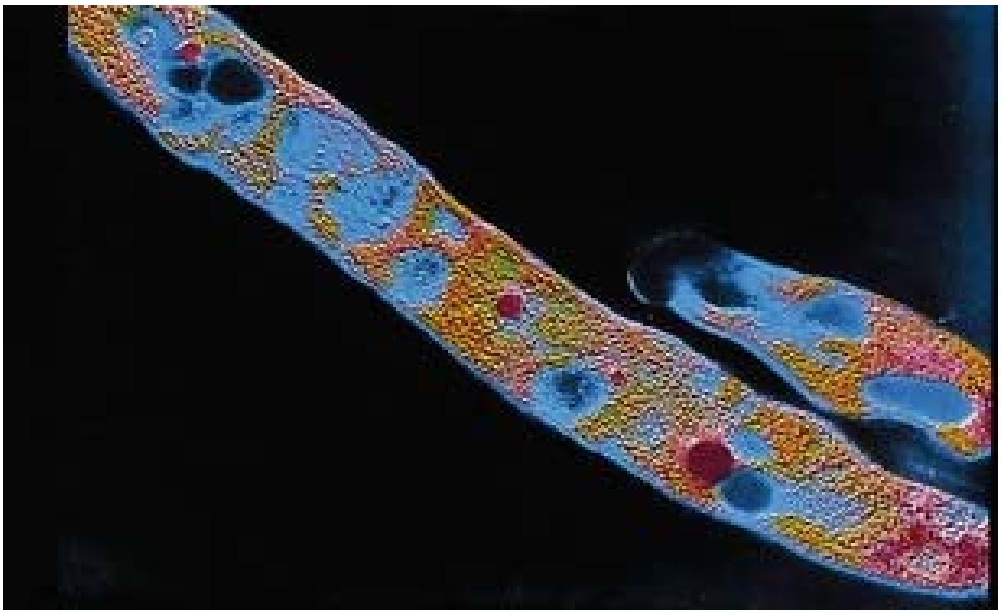


Figure 1: Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique (KOUMBA, 2010).

Certainesmycobactéries apparaissent comme filamenteuses ou en mycélium. De nombreuses espèces produisent des pigments de type caroténoïde, conférant aux colonies une couleur jaune à orange foncée, en l'absence de toute exposition à la lumière.

La définition actuelle du genre Mycobacterium repose sur la présence d'acides mycoliques à structure particulière et à la valeur du contenu en guanine-cytosine de l'ADN **(KOUMBA ,2010).**

L'enveloppe cellulaire des mycobactéries est constituée de trois composants structuraux :

- une membrane plasmique typique, à laquelle peuvent être associés des caroténoïdes donnant la couleur jaune-orange aux mycobactéries photochromogenique comme M. gordonae et M. kansaii . Elle ne joue pas de rôle dans la pathogénicité de la bactérie.

- la paroi :elle est composée de peptidoglycane (motif de base : polymère de N-acétylglucosamine-β 1-4-acide N-glycolyl muramique) relié de manière covalente à un hétéroside, l'arabinogalactane, qui est lui-même estérifié par des acides mycoliques ont une nature cireuse (acides gras ramifiés à très longues chaînes composés de 60 à 90 atomes de carbone). C'est la paroi qui confère aux mycobactéries la résistance à la plupart des antibiotiques et des désinfectants, ainsi qu'une résistance à l'action de bases et d'acides.

- une capsule : un mélange de polysaccharides, protéines et lipides, avec une composition différente entre mycobactéries pathogènes et non-pathogènes . Chez les espèces pathogènes, la présence de certains glycanes dans la capsule est fondamentale pour l'interaction avec le macrophage et pour inhiber la réponse pro-inflammatoire. La capsule représente aussi une barrière passive qui empêche la diffusion de macromolécules à l'intérieur de l'enveloppe bactérienne. Elle secrète des enzymes impliquées dans la détoxification d'intermédiaires d'oxygène réactifs (catalase, peroxydase, superoxyde dismutase) qui sont impliqués dans la résistance de la bactérie aux mécanismes microbicides de l'hôte **(ELENA SEGALA ,2012).**

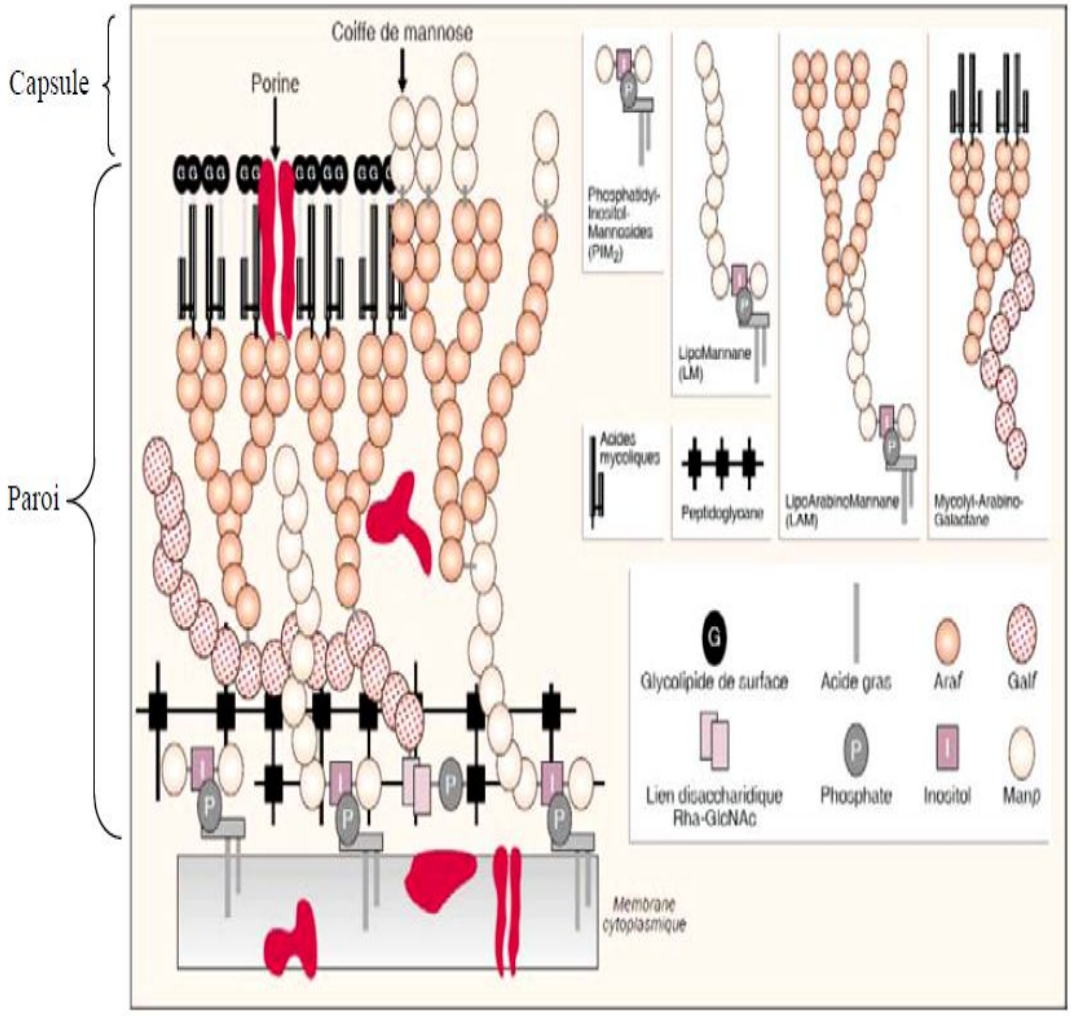


Figure 2 : Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants. Araf : arabinofuranose ; Galf : galactofuranose ; Manp : mannopyranose ; Rha- GlcNAc : Rhamnose-Glucosamine-N-acétyl (SOUIDI.,2014).

1.3. Caractères culturaux

Mycobacterium tuberculosis se cultive à 37°C une certaine croissance se produit à 30-34 ° C. Le pH optimal est de 6,4 à 7,0 en 15 à 30 jours sur milieux enrichis **(Cole S.T et *al* ., 1998)**

Mycobacterium tuberculosis ne pousse pas sur les milieux usuels. Il nécessite des milieux très enrichis. Le plus employé est un milieu à l'œuf, le milieu de Löwenstein-Jensen **(MARCHAL et *al.*,1991) (J.-N. Dauendorffer et *al* .,2001)**

Sur la plupart des milieux solides, les colonies sont rugueuses, soulevées, et épaisses, avec une surface nodulaire ou ridée et un bordmince irrégulier ; qui peut devenir un peu pigmentée (blanc cassé à une couleur chamois pale, ou même jaune) **(Cole S.T et *al* . ,1998)**

1.4. Caractères biochimiques

M. tuberculosis est aérobie strict. Il est catalase positive, nitrate réductase positive. Au cours de sa croissance il synthétise une quantité importante d'acide nicotinique ou niacine qui peut être mise en évidence par une épreuve biochimique, le test de KONNO ou niacine-test. La positivité de cette épreuve est spécifique de M. tuberculosis ***(Cole S.T et all .1998).*** Il est très sensible à la chaleur et à la lumière solaire, aux rayons ultraviolets, à l'eau de javel et au formol. En revanche, il résiste au froid et à la dessiccation **(AIT-KHALED *et al.* ,1991)**

1.5. Identification bactériologique

L'identification de Mycobacterium tuberculosis repose sur l'isolement des bacilles. Les méthodes bactériologiques classiques décrites, évaluées et appliquées de longue date restent les méthodes de référence comportant différentes étapes **(BOUSEBHA., 2006)**

Mise en evidence de l'acido-alcoolo- résistance des bacilles à l'examen microscopique après la coloration de Ziehl Neelsen ou à l'auramine. L'aspect microscopique après coloration de Ziehl-Neelsen permet d'apprécier la forme, la coloration et le regroupement des bacilles. Par exemple, les bacilles de Koch sont bien colorés, petits, incurvés, en amas denses ou en « cordes » **(Ann Biol Clin ,2004)**

L'identification des mycobactéries obtenues en culture pure sur milieu solide repose classiquement sur l'étude des caractères culturaux (temps de croissance, morphologie et pigmentation des colonies) et biochimiques **(Roland Brosch et *al* .,2004) .**

Les caractères culturaux en milieu solide permettent d'orienter le choix des tests d'identification les plus appropriés. L'aspect macroscopique des colonies (morphologie et pigmentation) ainsi que le délai de culture peuvent être très évocateurs de certaines espèces. Ainsi, les colonies de M. tuberculosis apparaissent en 15 à 21 jours sur milieu de Löwenstein-Jensen, et sont élevées, épaisses, irrégulières, rugueuses, « en chou-fleur » (aspect eugonique) de couleur crème à beige chamois **(Ann Biol Clin ,2004)**

2. ETUDE CLINIQUE :

2.1. Tuberculose infection :

2.1.1. La primo-infection tuberculeuse (PIT):

La contamination s'est faite par voie aérienne : inhalation de la microgouttelette contenant des bacilles tuberculeux présents dans les sécrétions respiratoires des patients infectés, au moment où un malade atteint parle, tousse (Le nombre de gouttelettes 3500) ou éternue(1 million), il disperse autour de lui un aérosol fait de gouttelettes de sécrétions bronchiques muco-purulentes, chacune d'entre elles contenant quelques bacilles: ce sont les gouttelettes infectantes**. (AIT-KHALED et *al* . , 1991)**

Après la contamination, M. tuberculosis se multiplie lentement dans l'organisme, le plus souvent dans les alvéoles terminales des poumons (foyer primaire) et dans les ganglions des aires de drainage correspondantes : c'est la primo-infection. Le foyer primaire et l'adénopathie hilaire constituent le complexe primaire.

En 1 à 2 mois, grâce aux lymphocytes et macrophages (immunité cellulaire), le foyer primaire est circonscrit, encapsulé et centré par une zone de nécrose parenchymateuse (nécrose caséeuse). C'est à ce moment qu'apparaît l'immunité tuberculeuse spécifique et que l'on observe le virage de la réaction cutanée à la tuberculine. Ce stade est habituellement asymptomatique ; les réactions d'hypersensibilité sont rares mais possibles **(Francis Varaine *et al* . ,2014)**

2.2. Tuberculose maladie (tuberculose active)

En l'absence de déficit immunitaire connu, environ 10% des patients atteints d'infection tuberculeuse latente développeront une tuberculose maladie, avec un net sur risque au cours des 2 années qui suivent le contage. Le risque est estimé à 5% durant les 12 mois qui suivent le contage puis à 2.5% la deuxième année puis 2.5% le restant de la vie **(VaninaMEYSSONNIER ,2012)**

Avant que l'immunité ne s'installe, les bacilles provenant du complexe primaire peuvent être transportés et disséminés dans l'organisme via le système lymphatique ou la circulation sanguine. Les foyers secondaires contenant des bacilles peuvent se constituer dans les régions pulmonaires et extra-pulmonaires.

Dès que la réponse immunitaire est activée, la plupart de ces foyers guérissent spontanément. Pourtant, des bacilles peuvent rester latents dans les foyers secondaires pendant des mois voire

des années. Cette réactivation ou la progression de foyers primaires ou secondaires entraîne une « tuberculose évolutive **(Francis Varaine *et al* . , 2014)**

2.2.1. Tuberculose pulmonaire :

La tuberculose de réactivation est habituellement caractérisée par une toux lentement progressive sur des semaines ou des mois. Cette toux échappe facilement à l'attention si le malade est tabagique. Dans les cas d'atteinte pulmonaire, l'examen physique apporte peu d'indices. La fièvre est présente chez deux tiers environ des malades. Les anomalies biologiques, par exemple une accélération de la vitesse de sédimentation ou une augmentation du taux de la protéine C-réactive, une leucocytose minime, une lymphopénie ou une anémie peuvent s'observer mais ne sont pas diagnostiques. Le médecin doit penser à la possibilité d'une tuberculose chez les malades qui accusent des symptômes suspects (toux persistante depuis plusieurs semaines, amaigrissement, sudations nocturnes) et qui présentent des facteurs de risque pour une tuberculose ou une condition favorisant la réactivation d'une infection tuberculeuse ancienne.

La majorité des malades atteints de tuberculose présentent des symptômes respiratoires ou généraux, en particulier si la maladie est avancée ou que l'atteinte pulmonaire est étendue (présence de cavernes). Cependant, un certain nombre de malades n'accusent aucune plainte si la maladie est encore à un stade précoce ou si leur sensibilité individuelle à l'infection et à ses conséquences est faible **(Jean-Pierre Zellweger et *al* . ,2012)**

2.2.2.Tuberculose extra pulmonaire :

Outres les localisations de la tuberculose situées en dehors du parenchymepulmonaire sont des tuberculoses extra-pulmonaires. Outre toutes les localisationsextra-thoraciques de la tuberculose aisément classées comme extra-pulmonaires certaines formes à localisation totalement ou partiellement intra-thoraciquedoivent être classées comme extra-pulmonaires **(NADIA AIT-KHALED *et al* .,1999)**

Localisation de la maladie	Manifestations cliniques
Tuberculose ganglionnaire	- une augmentation progressive et peu douloureuse des ganglions cervicaux et sous-mandibulaires**.**
Tuberculose péricardite	- des douleurs thoraciques -un essoufflement -des œdèmes des membres inférieurs et parfois une ascite. -un frottement péricardique -une turgescence jugulaire -une tachycardie
Tuberculose cutanée	-Lésion(s) chronique(s) -indolore(s) -non pathognomoniques -allant d'une petite papule érythémateuse à de grands tuberculomes
Tuberculose pleurale	-Taux sèche - Fièvre, -Difficulté de respirer, -Douleur dans la poitrine -La perte de poids sans cause apparente - Malaise -Pèrte d'appétit (Stéphane madelano, 2014).
Tuberculose péritonéal	se présente le plus souvent sous la forme d'une ascite (liquide dans la cavité abdominale) résultant de la localisation péritonéale de l'infection. La fréquence des ascites chroniques de toutes natures fait de cette forme assez rare de la maladie un problème diagnostique courant en région tropicale. La ponction d'ascite peut aider à établir le diagnostic
Tuberculose urogénitale	-Dysurie -Pollakiurie -Nycturie -douleurs lombaires ou abdominale - hématurie. -sensibilité/œdème des testicules ou épididymite ou hématurie -leucorrhée et métrorragies -La stérilité
Méningite tuberculeuse	-Maux de tête - irritabilité - fièvre et altération de l'état général accompagnent de façon inconstante le début de la maladie, qui est le plus souvent progressif. - Un syndrome méningé (raideur de la nuque, hypotonie chez le nourrisson, photophobie, céphalées) est présent dans la plupart des cas - Des vomissements sont possibles - paralysie oculomotrice :L'atteinte de la troisième paire crânienne est classique

Tuberculose osseuse et articulaire	Arthrite : - une mono-arthrite chronique, -débutant insidieusement, - peu ou pas douloureuse, - destructions articulaires (de la hanche, du genou, du coude et du poignet) Spondylodiscite : (TB du rachis ou Mal de Pott) : -une destruction et une déformation du rachis. -une paralysie. -Une douleur localisée peut précéder de plusieurs mois -l'apparition des premières anomalies radiologiques (destruction d'un disque intervertébral) - Un abcès froid paravertébral peut accompagner les lésions oséo- articulaire. -des signes neurologiques peuvent les compliquer
Miliaire	-une altération profonde de l'état général -une perte de poids marquée - des céphalées - une fièvre élevée en plateau. - Une légère dyspnée -une toux - Une hépato splénomégalie

Tableau A : La localisation de la tuberculose extra –pulmonaire et les manifestations cliniques. (Francis Varaine et *all* ,2014).

3. PHYSIOPATHOLOGIE ET IMMUNITE :

3.1. Infection par inhalation - la primo-infection :

L'agent pathogène de la TB est M. tuberculosis. Un tiers de la population mondiale est porteuse de cette bactérie mais seulement 2 à 23% des personnes infectées développeront la maladie ***(Russell, Cardona et al.. , 2009)***. La TB se transmet par inhalation de bacilles de M. tuberculosis vivants. Lorsqu'un malade atteint d'une TB pulmonaire tousse, il n'émet des microgouttes dans l'atmosphère qui contiennent des bactéries. Ces gouttes peuvent rester dans l'air plusieurs heures. En considérant que la dose pour l'infection est de un à dix bacilles, la transmission de la maladie est donc très facile. Une fois dans l'alvéole pulmonaire, les bactéries sont phagocytées par les macrophages alvéolaires.

3.2. Motifs mycobactériens et récepteurs de l'immunité :

Les mycobactéries se déposent alors dans les poumons où elles vont être reconnues et phagocytées par les macrophages alvéolaires. L'activation de la réponse immunitaire du macrophage par *M. tuberculosis*se fait par interaction entre les deux protagonistes. Cette

interaction met en jeu différents récepteurs présents à la surface du macrophage. Ainsi, l'internalisation des mycobactéries au sein d'un phagosome se fait soit :

- par interaction indirecte après opsonisation. Dans ce cas, le CR3 ainsi que le récepteur du fragment FC des immunoglobulines (FcγR) sont impliqués. *M. tuberculosis*peut aussi être opsonisé par des collectines, molécules qui vont permettre son internalisation**. (*Adapté de Sasindran and Torrelles, 2011).***

- par interaction directe avec les récepteurs membranaires tels que le récepteur au mannose (MR) , les récepteurs scavengers, DC-SIGN ou le site lectine du récepteur au complément de type 3 (CR3) ;

a) La phagocytose indirecte dite opsonique, fait intervenir des opsonines dont les plus étudiées sont les immunoglobulines et les fragments du complément. Ces molécules sont reconnues respectivement par les récepteurs du fragment Fcγ desimmunoglobulines (FcγRs) et le récepteur du complément de type 3 (CR3) . Il existe aussi d'autres molécules opsonisantes telles que les collectines, familles à laquelle appartiennent les protéines du surface tant A & D (SP-A et SP-D) ainsi que les fibronectine, ou encore le mannose-binding lectin.

b) La phagocytose directe ou non opsonique de *M. tuberculosis*consiste en la reconnaissance de Molécules associées au pathogène (PAMPs pour Pathogen Associated Molecular Patterns)localisées au niveau de l'enveloppe mycobactérienne, tels que le peptidoglycane, deslipoprotéines ou autres molécules à la surface de *M. tuberculosis*, avec des PRRs (PatternsRecognizingReceptors). La phagocytose non-opsonique implique divers récepteurs, parmilesquels on retrouve : les récepteurs lectines de types C tels que le récepteur au mannose (MR)(Astarie-Dequeker et al., 1999; Schlesinger, 1993) et DC-SIGN (DendriticCells- Specificintracellularadhesion molecule-3-grabbing non-integrin) (Tailleux et al., 2005), le site lectine duCR3 (Cywes et al., 1996) ainsi que les récepteurs scavengers (Zimmerli et al., 1996) ou encoreDectin-1 (Yadav and Schorey, 2006).

La contribution relative de ces récepteurs dans le devenir et la survie des mycobactéries à l'intérieur de la cellule n'est toujours pas clairement définie. De plus, l'internalisation via le MR ou lesrécepteurs scavengers entraînent un blocage de la maturation du phagosome associée à lapoursuite de la croissance mycobactérienne, alors que les mycobactéries opsonisées etinternalisées via le fragment Fcγ sont éliminées (Kang et al., 2005; Torrelles et al., 2006). Même si ce n'est pas clairement décrit, il paraît donc plausible que l'utilisation par *M.*

*tuberculosis*desdifférentes voies de phagocytose dans la cellule et de leur répercussion sur l'induction de laréponse immunitaire soit une stratégie de survie.

L'interaction de *M. tuberculosis*avec d'autres récepteurs membranaires non responsables del'induction de la phagocytose est possible. Ces récepteurs agissent souvent comme co-récepteursde phagocytose. Ainsi, l'interaction avec les TLRs (Toll-LikeReceptors) induit la sécrétion demédiateurs solubles et active différents mécanismes bactéricides du macrophage infecté,provoquant une différence dans la survie du pathogène au sein de l'hôte ***(Meena and Rajni ,2010).***

Après la phagocytose, il se produit une induction de la production de molécules inflammatoires, recrutant de nouveaux effecteurs cellulaires. Les macrophages sécrètentau cours de l'infection des chimiokines comme : L'interleukine 8 (Il-8 ou CXCL8), MCP-1 (protéine chimiotactique des monocytes 1, aussi appelée CCL2) et RANTES (Regulated And Normal T cellExpressed and Secreted, aussi appelé CCL5. Ces molécules peuvent être induites par l'activation de cascades de signalisation après activation de récepteurs tels que les TLRs (Lee et al., 2009a), mais aussi par la sécrétion d'autres médiateurs solubles (Friedland et al., 1992; Zhang et al., 19. Elles permettent le recrutement des différentes populations de la réponse immunitaire comme par exemple les neutrophiles (Il-8), ou les LTs (MCP-1 et RANTES) Leur rôle dans le recrutement des autres cellule provoquent la migration depuis les vaisseaux sanguins environnants de monocytes, qui vont se différencier en macrophages. Les lymphocytes « natural killer » (NK) présents sur le site de l'infection reconnaissent et éliminent les cellules infectées et activent les fonctions effectrices des macrophages. **(Russell, 2006)**

RANTES serait aussi impliquée dans le contrôle de la croissance de *M. tuberculosis*au sein des macrophages alvéolaires, mais le mécanisme d'action reste à ce jour méconnu **(Saukkonen et *al.* , 2002)**

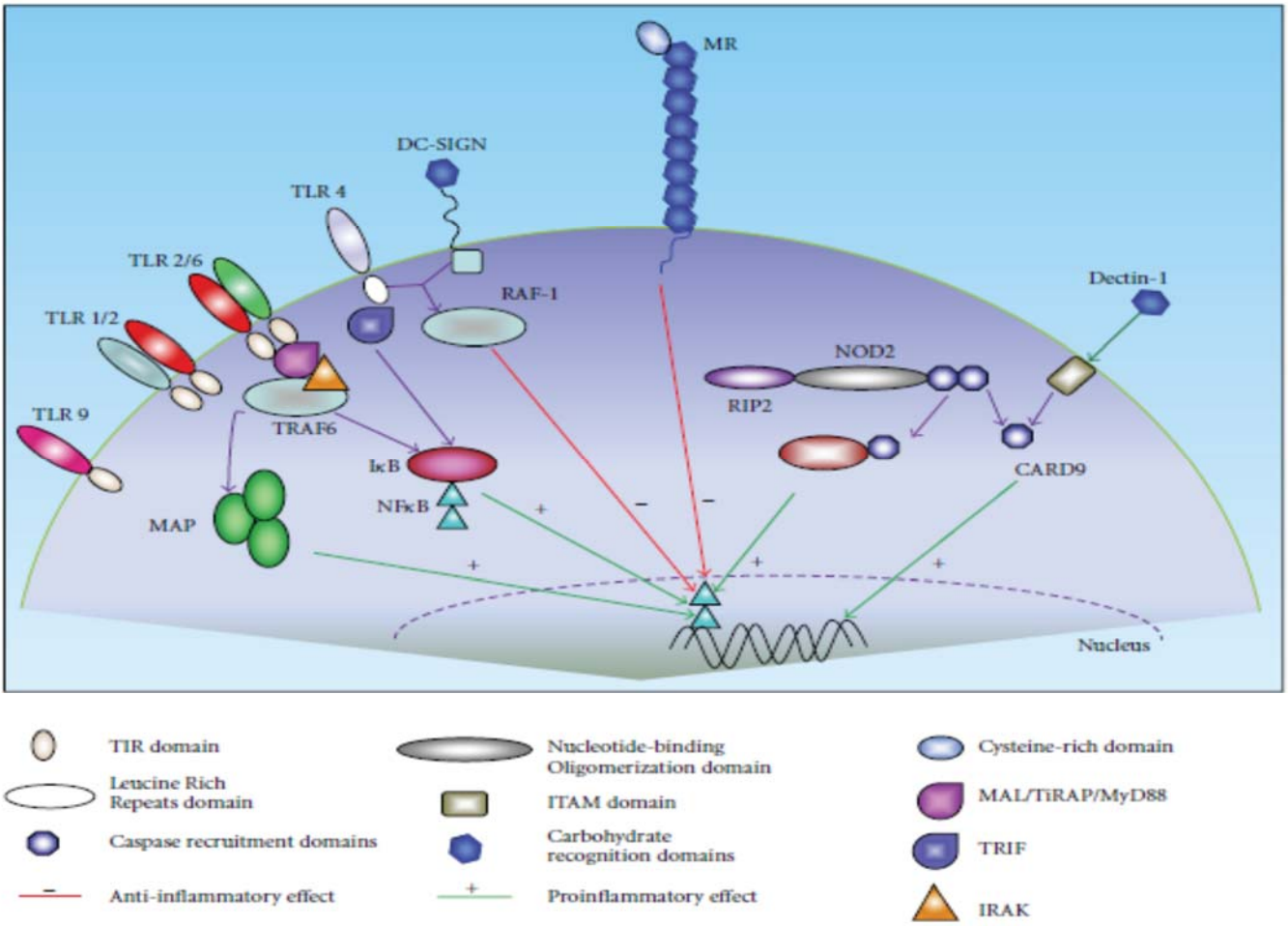


Figure 3 : Les différents PRRs impliqués dans la reconnaissance de M. tuberculosis. Selon le motif moléculaire, différents récepteurs membranaires ou intracellulaires sont mis en jeu pour mener à l'activation du facteur de transcription Nuclear Factor Kappa B (NF κ B) et à l'expression de cytokines et de chimiokines (Kleinnijenhuiset *al*., 2011).

3.3. La formation du granulome :

Les macrophages sont essentiels pour phagocyter les particules toxiques et inflammatoires, les débris cellulaires et les cellules après apoptose. Mais elles sont aussi la première défense contre les microbes pathogènes qui sont éliminer grâce au pH interne des macrophages qui est très acide.

M. tuberculosis fait partie des pathogènes (comme Legionella, Brucella et Erlichia) qui ont développé des stratégies pour survivre dans le macrophage **(Rohde, Yates et *al.* , 2007).**

Il est en effet capable de bloquer la fusion phagolysosomale et l'acidification du phagosome en maintenant le pH vacuolaire à 6.4 et en inhibant partiellement l'activation des macrophages infectés liée à l'action de l'interféron- **(Saunders and Britton , 2007).**

A l'intérieur du macrophage, les bactéries se divisent rapidement avec une croissance exponentielle, ce qui entraîne une réponse pro-inflammatoire durant laquelle le macrophage pénètre l'épithélium et recrute des cellules mononucléaires des vaisseaux sanguins adjacents. Ces monocytes forment le premier granulome. Le macrophage infecté se différencie en plusieurs types de macrophages : les cellules géantes multi nucléaires, les cellules épithélioïdes et les macrophages spumeux (ou foamy). A ce stade, l'infection est confinée et les bactéries ont cessé de se reproduire. Le granulome mature développe une couche fibreuse entourée de lymphocytes qui englobe les macrophages. Quand l'infection progresse, on assiste à une accumulation du caséum dans le centre du granulome conduisant à une nécrose des tissus.

Dans 90% des cas, le granulome se calcifie, et quelques bacilles survivent à l'intérieur dans un état stationnaire ; c'est ce qu'on appelle l'infection TB latente. L'infection est sous le contrôle du système immunitaire et elle peut rester dans cette phase pendant plusieurs années. Par contre, quand l'infection progresse, le caséum, centre nécrotique du granulome, se liquéfie et on assiste à une rupture du granulome et à la libération des bactéries. Les bacilles se multiplient à l'extérieur des cellules dans le caséum liquide et la population bactérienne devient très importante. Des dommages tissulaires provoquent une érosion bronchique et la formation d'une cavité (caverne). L'ouverture de cette cavité permet aux bacilles de disséminer via les voies aériennes dans les autres parties du poumon et dans l'environnement extérieur **(Saunders and Britton 2007; Russell, Cardona et *al.* , 2009).**

La TB peut atteindre aussi d'autres organes. Parmi les localisations extra respiratoires, il faut citer l'atteinte osseuse et la méningite tuberculeuse.

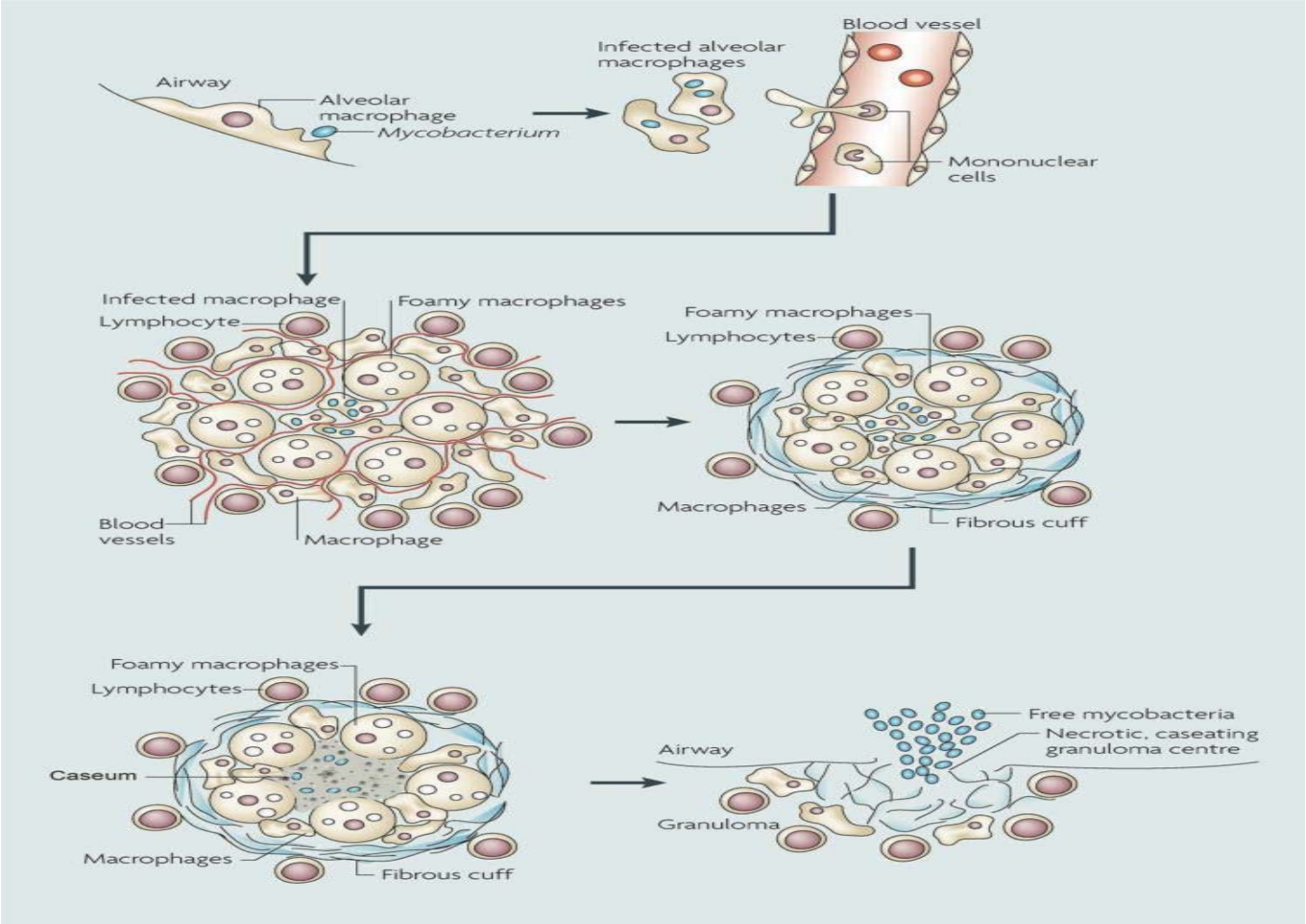


Figure 4 : Schéma de l'infection par les bacilles tuberculeux dans le macrophage (Russell, Cardona et *al*. 2009).

4. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE :

Le diagnostic de tuberculose repose sur des critères bactériologiques (cas confirmés) ou sur des critères cliniques et radiologiques (cas suspects ou non confirmés). Les symptômes et les signes de la tuberculose dépendent de la localisation , de l'extension de la maladie et sont diffèrent en fonction du stade évolutif.

4.1. Examen direct :

La preuve de la maladie tuberculeuse est apportée par la mise en évidence des mycobactéries par examen microscopique de matériel coloré (expectorations, matériel de ponction), et culture (méthodes traditionnelles ou rapides) **(Jean-Pierre Zellwegeret *al* . , 2007).**

4.1.1 Examen microscopique :

Pour mettre en évidence les mycobactéries, on utilise leur propriété d'acido-alcoolo-résistance. Deux méthodes de coloration sont applicables en routine :

la méthode de Ziehl-Neelsen, les frottis sont colorés par la fuchsinephéniquée à chaud.

la méthode fluorescente, où la fuchsine est remplacée par l'auramine,et au microscope à fluorescence sous lumière bleue ou rayonnement UV, lesBAAR apparaissent comme des bâtonnets jaunes-verts brillants sur fond sombre. Les frottis colorés par l'auramine peuvent être examinés avec un objectif à sec de faible grossissement (× 25) **(Jean-Pierre Zellwegeret *al* . , 2007).**

4.1.2. Culture :

La culture est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique et permet l'identification de la mycobactérie isolée ainsi que la mesure de sa sensibilitéaux antibiotiques (RolandBrosch et all .2004) .

Quel que soit le résultat de l'examen microscopique, les échantillons seront ensuite mis en culture, soit sur un milieu traditionnel à base d'oeuf (p. ex. milieu de Löwenstein ou d'Ogawa) ou à base d'agar, soit en milieu liquide, soit encore dans un milieu spécifique permettant le dépistage de la croissance bactérienne par la libération d'un marqueur radioactif ou coloré (technique Bactec et dérivés) **(Jean-Pierre Zellwegeret *al* . , 2007).**

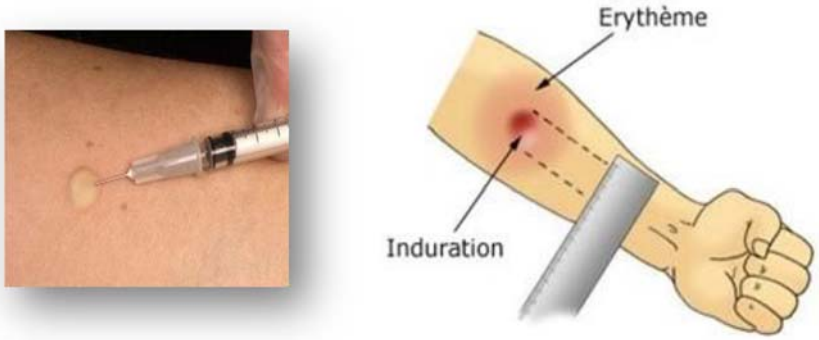
4.2. Examen indirect :

4.2.1. L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) :

L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) permet de mettre en évidence une réaction d'hypersensibilité retardée se traduisant par l'apparition 24 à 72 h après d'une infiltration localisée de la peau. Cette infiltration est due à l'oedème et à l'accumulation des lymphocytes sensibilisés au niveau du point d'injection.

La tuberculine est préparée à partir d'un broyât de *M. tuberculosis*et contient donc des fractions protéiques polyantigéniques **(NADIA AIT-KHALED et *al* . ,1999)**

Elle se fait à l'aide d'une seringue type insuline de 1 ml**,** d'une aiguille à IDR et de 0,1ml de tuberculine. Le résultat est lu par mesure du diamètre transversal de l'induration (en mm).



4.2.2. Tests IGRA (Interferon Gamma Release Assay)

De nouveaux tests palliant en partie les limites du test cutané tuberculinique (TCT) ont été développées ces dernières années et ont rapidement pris de l'importance dans le dépistage de la tuberculose. Ces tests sanguins réalisés in vitro, mesurent la production d'IFN−γ après stimulation des lymphocytes par des antigènes spécifiques de MTB ; ils sont habituellement appelés « tests de production d'IFN-γ » ou « tests IFN-γ ». Au cours d'une infection par des mycobactéries, l'IFN-γ est d'abord produit par les cellules de l'immunité innée, principalement les « natural killers », puis en grande quantité par les lymphocytes T Th1 exprimant des récepteurs spécifiques pour des antigènes de mycobactéries. Ce sont ces lymphocytes T devenus « effecteurs » qui peuvent être réactivés in vitro par des antigènes de mycobactéries et produire des quantités importantes d'IFN-γ·

Seuls les lymphocytes préalablement exposés aux mêmes antigènes vont être stimulés, ce qui assure la spécificité pour MTB. En effet, les antigènes utilisés ([EarlySecretory Target Protein 6 ESAT-6] et Culture FiltrateProtein 10 [CFP-10]) correspondent à des protéines codées dans une région particulière du génome des mycobactéries du « complexe tuberculosis » (MTB, M. bovis, M. africanum, M. microti et M. canetti). Cette région, appelée Region of Difference 1 (RD1) n'est pas partagée par la plupart des mycobactéries environnementales à l'exceptionde M. szulgai, M. kansasii et M. marinum , et surtout, elle est absente des souches atténuées de M. bovis utilisées pour la production de BCG.

Deux tests commerciaux ont été développés à partir de ce principe, avec des technologies un peu différentes. Le T-SPOT. TB (Oxford Immunotec, UK) mesure le nombre de lymphocytes T secrétant de l'IFN-γ en réponse aux antigènes ESAT-6 et CFP-10 par une technique appelée ELISPOT alors que le QuantiFERON-TB Gold (QFT ; Cellestis Ltd, Australie) mesure par Elisa la quantité totale d'IFN-γ produite en réponse à ces même antigènes auxquels est ajouté un antigène supplémentaire des mycobactéries du complexe tuberculosis : le TB 7,7**(Nient, 2011).**

4.2.3. Radiographie du thorax :

La radiographie du thorax est un test sensible mais non spécifique de dépistage de la tuberculose. En effet, le diagnostic de la tuberculose ne peut être posé uniquement sur la base des anomalies radiologiques, car celles-ci peuvent être dues à une maladie autre que la tuberculose. Se fonder uniquement sur la radiographie du thorax pour diagnostiquer la
tuberculose, peut donner lieu à des diagnostics par excès ou par défaut. Cependant, certaines lésions soit par leurs aspects (nodule, infiltrat, caverne, miliaire), soit par leurs sièges (atteintes supérieures et postérieures) sont évocatrices de tuberculose **(MINISTERE DE LA SANTE , 2011).**

4.2.4. Amplification génique :

Des tests d'amplification géniques (TAG) permettent rapidement :

- identifier *M. tuberculosis*et de le différencier des autres

Mycobactéries atypiques ; également détecter un certain nombre de résistances aux antituberculeux.

Il existe plusieurs techniques basées sur l'amplification des acides nucléiques mycobactériens. Ces techniques appliquées directement sur les prélèvements permettent en 24 heures de porter un diagnostic, avec une précision et une sensibilité élevées **(MINISTERE DE LA SANTE, 2011).**

Les tests d'amplification génique (TAG), appliqués au diagnostic de la tuberculose, consistent à amplifier et détecter une séquence nucléique spécifique du complexe M. tuberculosis. Ce sont des tests puissants dont le seuil théorique de sensibilité est d'une molécule d'ADN (ou d'ARN). Ce sont des tests rapides car ils s'affranchissent du tempsde multiplication des bacilles et ne reposent que sur des réactions enzymatiques. Les TAG ont la potentialité d'identifier spécifiquement les bacilles de la tuberculose directement dans les prélèvements à visée diagnostique. La technique d'amplification initialement employée, une réaction artisanale de polymérisation en chaîne (PCR) , a été remplacée par des méthodes standardisées utilisant des réactifs prêts à l'emploi. Les méthodes sont :

- l'Amplification par PCR au sens strict d'une séquence d'ADN codant pour des ARN 16 S des mycobactéries (test Roche AmplicorMycobacteriumtuberculosis) ;

- la Réaction de ligation en chaîne (ligase chainreaction) d'une séquence d'ADN codant pour la protéine spécifique « Antigène B » (LCx, Abbott ou LCR)

• l'Amplification d'une séquence d'ARN ribosomal via un intermédiaire ADN par une technique isothermique basée sur la transcriptase reverse ou TMA (test Amplified M. tuberculosis direct, ou AMTDT, Gen-Probe) (**Roland BROSCH *et al.* , 2017)**

5. TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE:

Le traitement de la tuberculose est basé sur l'application d'une chimiothérapiebasée sur l'association de plusieurs antibiotiques antituberculeux. La durée de cette chimiothérapie a considérablement diminué depuis 1960 ; initialement de 18 à 24 mois, elle est actuellement de 6 à 8 mois et constitue « la chimiothérapie de courte durée ».

5.1. Médicaments antituberculeux essentiels et mode d'action :

Les médicaments antituberculeux essentiels sont au nombre de cinq (Annexe 5) :Isoniazide , Rifampicine, Pyrazinamide, Streptomycine, Ethambutol

Le thioacétazone est classé dans la liste complémentaire des médicaments essentiels.

Aucun d'entre eux n'est suffisamment efficace pour détruire tous les bacilles tuberculeux se trouvant chez un malade ; c'est pourquoi l'association de plusieurs médicaments antituberculeux est indispensable pour obtenir la guérison définitive d'un malade.

Les médicaments antituberculeux agissent sur les différentes populations bacillaires d'un malade. En effet chez un tuberculeux, il existe différentes populations bacillaires :

Les bacilles métaboliquement actifs et en multiplication continue et rapide. Cette population se trouve principalement dans les cavernes pulmonaires.

Les bacilles dont la multiplication est lente situés à l'intérieur des macrophages. Leur multiplication est ralentie par le manque d'oxygène et le pH acide du cytoplasme macrophagique.

Les bacilles quiescents ou persistants dans les tissus à multiplication très lente par poussée. Leur multiplication est stoppée, mais ils restent vivants. Ils sont capables de reprendre leur activité et de se multiplier dès que les défenses immunitaires diminuent.

L'action des médicaments est variable selon leur activité bactéricide et/ou stérilisante sur ces populations bacillaires.

Les deux antituberculeux bactéricides les plus efficaces sont l'isoniazide (H) et la rifampicine (R) qui agissent sur les bacilles en multiplication rapide et continue, mais aussi sur ceux qui sont en multiplication ralentie sur les macrophages. Un avantage supplémentaire de la rifampicine est

de détruire plus rapidement les bacilles en multiplication ralentie, car elle agit à une étape très précoce de la multiplication bacillaire.

Deux autres antituberculeux bactéricides d'efficacité moindre et d'action complémentaire sont le pyrazinamide (Z), qui est actif en milieu acide et détruit ainsi les bacilles intracellulaires et la streptomycine (S) qui n'est active que sur les bacilles se multipliant activement dans le milieu extracellulaire parce qu'elle est incapable de traverser la membrane cellulaire.

Deux antituberculeux sont bactériostatiques et donc beaucoup moins efficaces, l'éthambutolet le thioacétazone. Ils sont utilisés en association avec des bactéricides puissants pour éviter l'apparition de bacilles résistants.

D'autres médicaments sont d'efficacité mineure et ne sont pas utilisés dans la chimiothérapie de courte durée. Ce sont l'éthionamide, la kanamycine et la capréomycine, les quinolones, la cyclosérine et le PAS.

Les seuls médicaments qui détruisent les bacilles persistants et qui ont une action stérilisantesont la rifampicine et le pyrazinamide. Ces médicaments sont toujours employés dans la chimiothérapie de courte durée.

ANTITUBERCULEUX) ESSENTIELS	POSOLOGIE RECOMMANDÉE (MG/KG			
	MODE D'ACTION	**QUOTIDIENNE**	**INTERMITTENTE**	
			3X/SEMAINE	**2XSEMAINE**
Isoniazide (H)	**Bactéricide**	**5 (4–6)**	**10 (8–12)**	**15 (13–17)**
Rifampicine (R)	**Bactéricide**	**10 (8–12)**	**10 (8–12)**	**10 (8–12)**
Pyrazinamide (Z)	**Bactéricide**	**25 (20–30)**	**35 (30–40)**	**50 (40–60)**
Streptomycine (S)	**Bactéricide**	**15 (12–18)**	**15 (12–18)**	**15 (12–18)**
Ethambutol (E)	**Bactériostatique**	**15 (15–20)**	**30 (25–35)**	**45 (40–50)**
Thioacétazone (T	**Bactériostatique**	**2,5**	**non utilisé**	**non utilisé**

Tableau B : Traitement antituberculeux essentiels (NADIA AIT-KHALED *et al* . ,1999)

5.2. les catégories de traitement :

Afin d'établir les priorités d'une politique traitement, l'OMS propose de classer les malades en quatre catégories :

Catégorie	Définition	Régime de traitement
Catégorie I	- Nouveau cas de Tuberculose Pulmonaire à Microscopie positive (TPM+).	* 2mois ERHZ et 4moisde RH
Catégorie II	- Retraitement de TPM+ - Echec - rechute - reprise du traitement aprèsabandon.	*2mois de ERHZ et 4mois de ERH
Catégorie III	- Tuberculose extra pulmonaire	*2mois de RHZ + 4 mois RH *2mois RHZ + 6 mois EH
Catégorie IV	-Echec après retraitement - BK multirésistants	/

Tableau C : Catégories et régimes de traitement de la tuberculose (Guedenone, 2008)

Légende :

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

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

RH : Association de Rifampicine et Isoniazide.

ERH : Association de Ethambutol, Rifampicine et Isoniazide.

RHZ : Association de Rifampicine, Isoniazide et Pyrazinamide (Guedenone, 2008)

c. Résultats du traitement

A l'arrêt du traitement dans un UCTMR, le malade sera classé dans une des catégoriessuivantes :

- **Guéri:** patient qui a deux frottis négatifs successifs dans le crachat et dont le dernier est réalisé à la fin du traitement.
- **Traitement terminé:** patient ayant suivi jusqu'au bout son traitement, mais qui n'a pas bénéficié d'une bacilloscopie à la fin de son traitement.
- **Echec:** patient en traitement dont les frottis sont positifs à cinq mois, ou plus tard au cours du traitement.
- **Décès:** patient décédé pendant le déroulement de la chimiothérapie.
- **Perdu de vue:** patient n'ayant pas pris ses médicaments pendant deux mois consécutifs.
- **Transféré:** patient enregistré dans un UCTMR et qui est adressé à un autre UCTMR pour y poursuivre son traitement **(Guedenon, 2008).**

II. Epidémiologie de la tuberculose :

1. dans le monde :

La tuberculose est la neuvième cause de décès au plan mondial et la principale cause de décès due à un agent infectieux unique, devant le VIH/sida. En 2016, d'après les estimations, il y a eu 1,3 million de décès par tuberculose dans la population VIH-négative (contre 1,7 million en 2000), auxquels se sont s'ajoutés 374 000 décès dans la population VIH-positive.

On estime que 10,4 millions de personnes sont tombées malades de la tuberculose en 2016, dont 90 % d'adultes, 65 % de personnes de sexe masculin, et 10 % de personnes vivant avec le VIH (dont 74 % d'Africains). Parmi elles, 56 % venaient de cinq pays : l'Inde, l'Indonésie, la Chine, les Philippines et le Pakistan **(OMS, 2017)**

La tuberculose pharmaco-résistante est une menace constante. En 2016, il y a eu 600 000 nouveaux cas de résistance à la rifampicine (le médicament de première intention le plus efficace), dont 490 000 cas de tuberculose multi-résistante (TB-MR). Presque la moitié (47 %) d'entre eux a été enregistrée en Inde, en Chine et en Fédération de Russie **(OMS, 2017)**

Au niveau mondial, le taux de mortalité par tuberculose diminue d'environ 3 % par an. L'incidence recule de quelque 2 % par an et 16 % des cas décèdent de la maladie.

En 2016 , 6,3 millions de nouveaux cas de tuberculose ont été signalés (contre 6,1 millions en 2015), soit 61 % de l'incidence estimée (10,4 millions) ; les dernières données sur les issues thérapeutiques montrent qu'au niveau mondial, 83 % des cas de tuberculose furent traités avec succès, soit un taux de guérison semblable à celui des dernières années. On a dénombré 476 774 cas de tuberculose dans la population VIH-positive (46 % de l'incidence estimée), dont 85 % suivaient un traitement antirétroviral (TAR). Au total, 129 689 personnes entamèrent un traitement contre la tuberculose pharmaco-résistante, un chiffre en faible augmentation par rapport aux 125 629 de 2015, mais ne comptant que pour 22 % de l'incidence estimée ; le taux de guérison restait faible, s'établissant à 54 % au niveau mondial.

les dix pays à forte charge de tuberculose comptaient pour 76 % de l'écart total entre incidence et cas notifiés pour la tuberculose en général ; les trois principaux étaient l'Inde (25 %), l'Indonésie (16 %) et le Nigéria (8 %) **(OMS, 2017)**

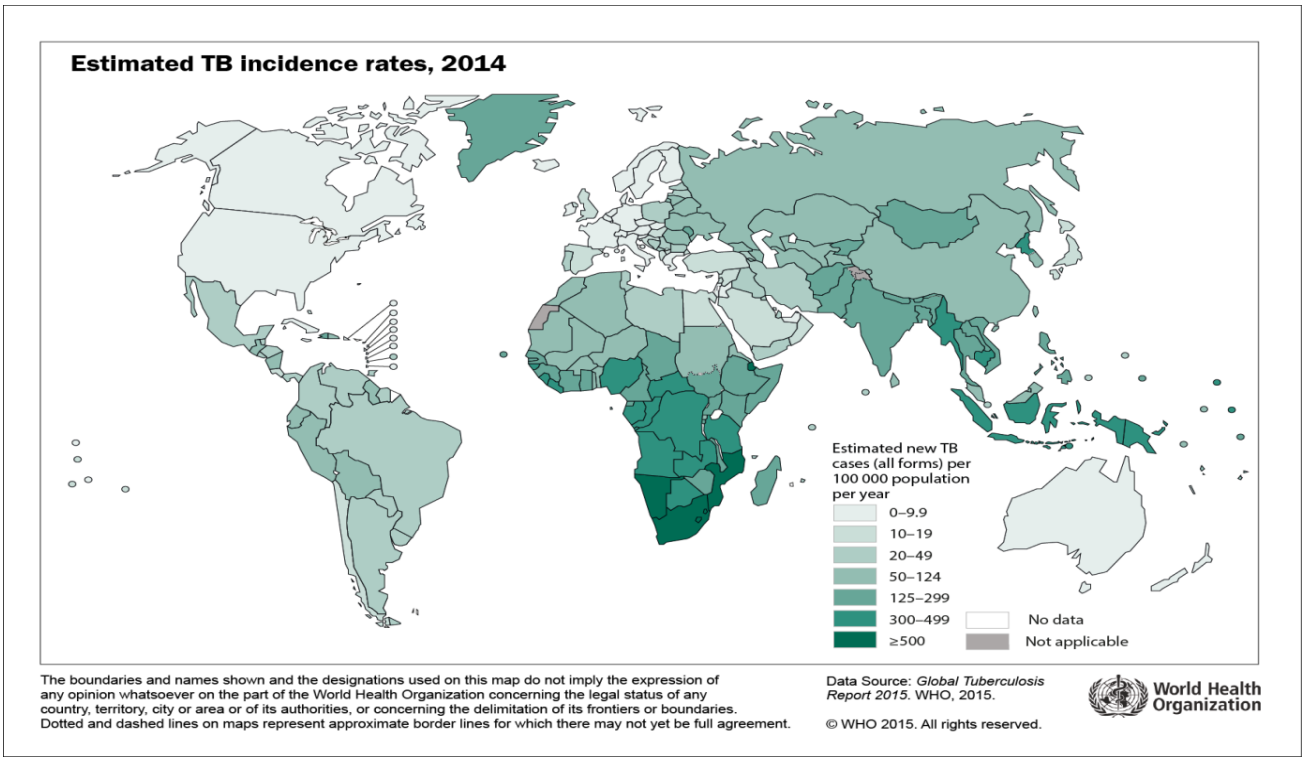


Figure 5 : Incidence estimée de la tuberculose en 2014, nombre de ca pour 100 000 personnes (OMS, 2015)

Parmi les 22 pays les plus touchés, c'est en Asie (Inde, Chine, Indonésie, Pakistan, Philippines, Vietnam, Thaïlande, Myanmar, Cambodge, Afghanistan) que le nombre de nouveaux cas est le plus important puis en Afrique subsaharienne (Nigeria, Afrique du Sud, Éthiopie, RD Congo, Kenya, Tanzanie, Ouganda, Mozambique) en raison notamment de l'impact de la prévalence importante de l'infection à VIH. En 2014, l'OMS estimait la proportion d'infection à VIH parmi le nombre de nouveaux cas de tuberculose (âgés de 15 à 49 ans) à 12 % dont 38% en Afrique, 11% aux Amériques, 9,8% en Europe et à moins de 5% dans les autres régions du monde. La tuberculose a été responsable de 400 000 décès chez des malades infectés par le VIH en 2014 **(OMS ,2011)**

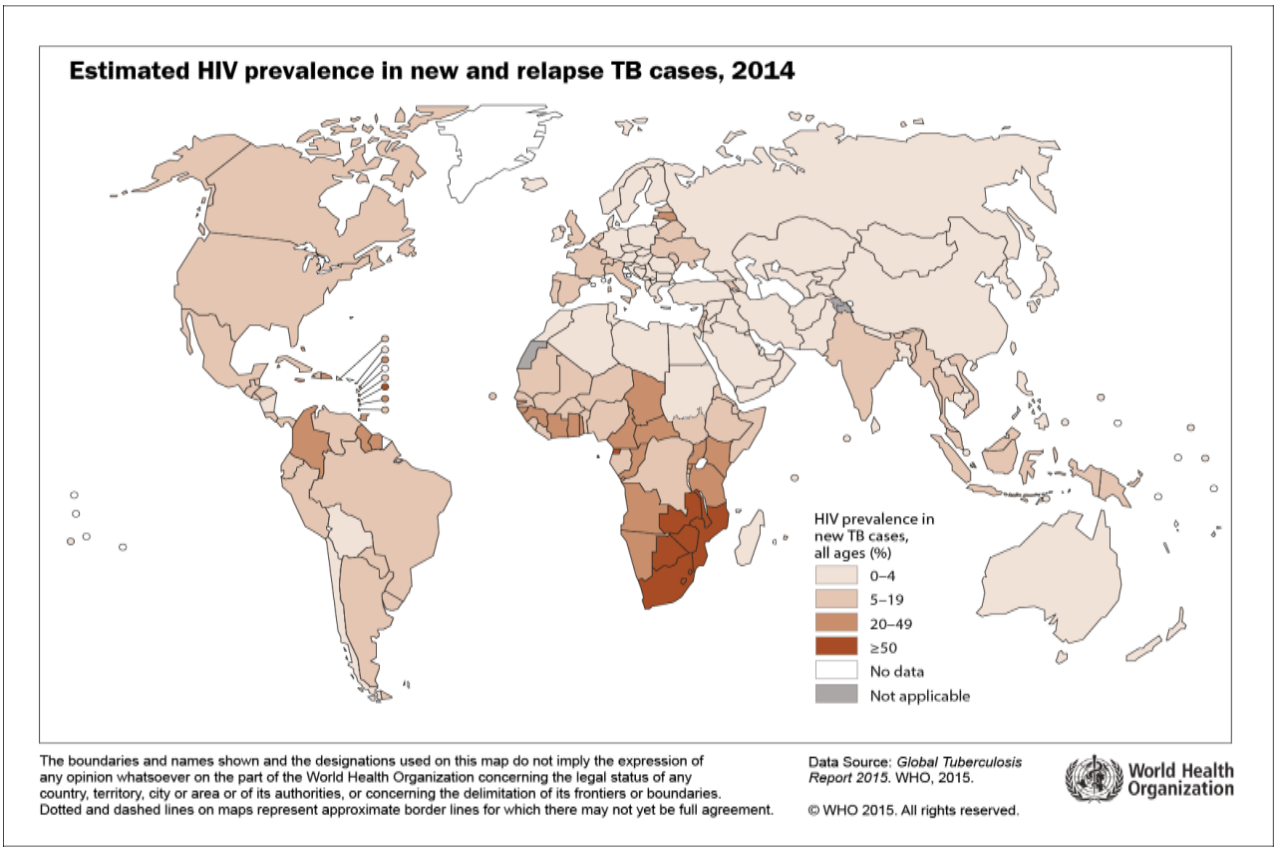


Figure6: Prévalence estimée de l'infection par le VIH parmi les nouveaux cas et les rechutes de tuberculose (en %) en 2014, (OMS 2015)

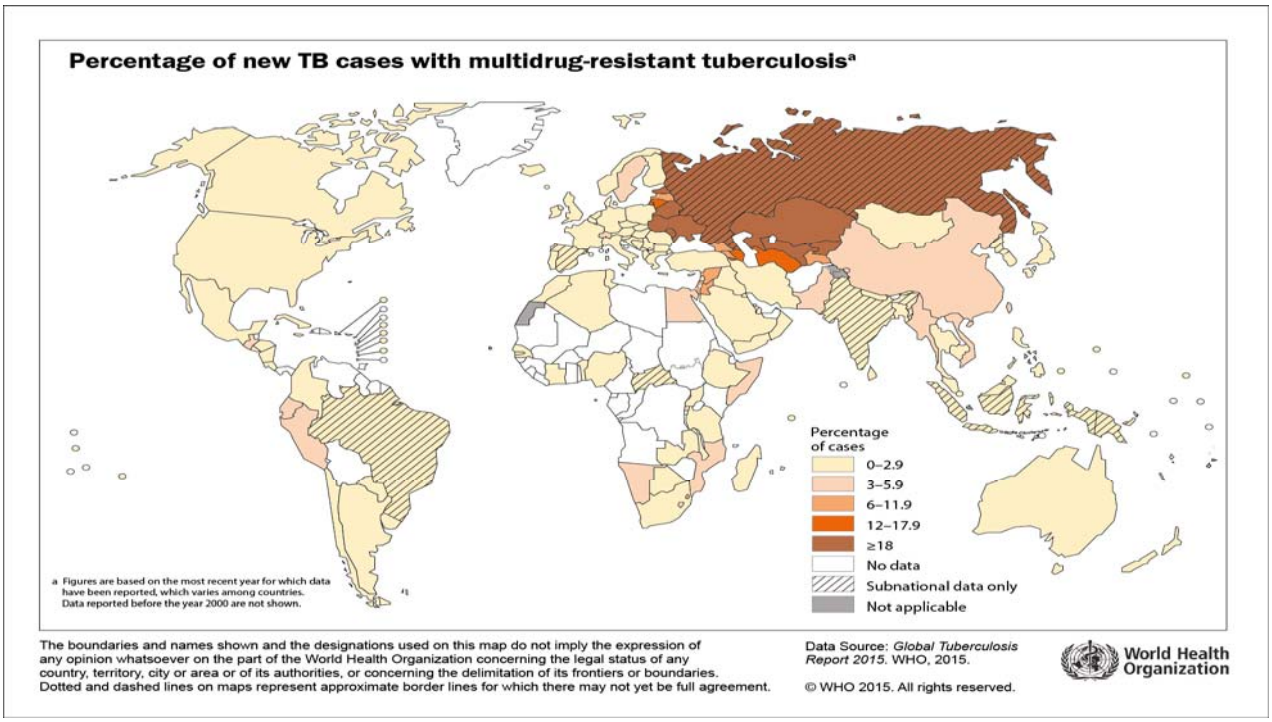


Figure 7 : Pourcentage de nouveaux cas de tuberculose à bacilles multirésistants (%) en 2014 (OMS, 2015)

Les tuberculoses multi-résistantes (résistance à au moins l'isoniazide et à la rifampicine qui sont les deux antituberculeux majeurs), concerneraient, d'après les estimations, en moyenne 3,3% des cas pulmonaires BAAR positifs. Le nombre annuel de nouveaux cas de tuberculose multi-résistante est estimé à environ 300 000 cas avec plus de 190000 décès. Les taux les plus élevés se trouvent dans les pays de l'ex-URSS, en Inde et en Chine. La tuberculose multi-résistante compromet le contrôle de la tuberculose compte-tenu des options thérapeutiques restreintes et de la nécessité de traitements longs et coûteux. Des cas de tuberculoses à bacilles ultra-résistants (MDR + résistant aux fluoro quinolones et au moins un aminoside) surviennent de plus en plus fréquemment dans le monde, réprésentent 9,7% des cas de MDR et touche 105 pays dans le monde **(OMS,2015).**

2. En Afrique. Cas de l'Algérie :

L'augmentation du nombre de tuberculeux a lieu principalement en Afrique, avec plus de 285 cas pour 100 000 habitants en 2014.

La pauvreté du continent africain et l'échange inégal Nord-Sud vont persister aggravant les inégalités et les contradictions sociales au sein de chaque pays.

La croissance démographique aussi : 785 millions d'Africains en 2000 seront 1 300 millions en 2025. Les migrations humaines vont s'amplifier. Les villes continueront d'attirer les ruraux appauvris, les guerres et les conflits locaux continueront à déplacer les populations.

L'épidémie de VIH/SIDA continuera encore pour quelques années à s'étendre et à accroître le nombre de tuberculoses sur le continent.

L'incidence, la prévalence et la mortalité de la tuberculose en 2009 dans les différentes régions du monde et en Afrique sont mentionnés dans le Tableau A **(WHO, 2011).**

	Incidence 1			Prévalence 2		Mortalité (hors VIH)	
	Toutes forms						
REGIONS	Nombre en milliers	%du total Mondial	Pour100 000 habitants	Nombre en milliers	Pour100 000 habitants	Nombre en milliers	**Pour100 000 habitants**
AFRIQUE	2 800	30%	340	3 900	450	430	**50**
AMERIQUE	270	2.9 %	29	350	37	20	**2,1**
MEDITERRANEE ORIENTALE	660	7,1 %	110	1 000	180	99	**18**
EUROPE	420	4,5 %	47	560	63	62	**7**
ASIE DU SUD - EST	3 300	35 %	180	4 900	280	480	**27**
PACIFIQUE OCCIDENTAL	1 900	21 %	110	2 900	160	240	**13**
ENSEMBLE DU MONDE	9 400	100 %	140	14 000	164	1 300	**19**

(1) Incidence: nouveaux cas survenant pendant une périodedéterminée.
(2) Prévalence: nombre de cas existant dans la population à un momentdéterminé.

Tableau D : Tuberculose : estimations de l'incidence, de la prévalence et de la mortalité en 2009 dans les différentes régions du monde selon l'OMS (WHO, 2011)

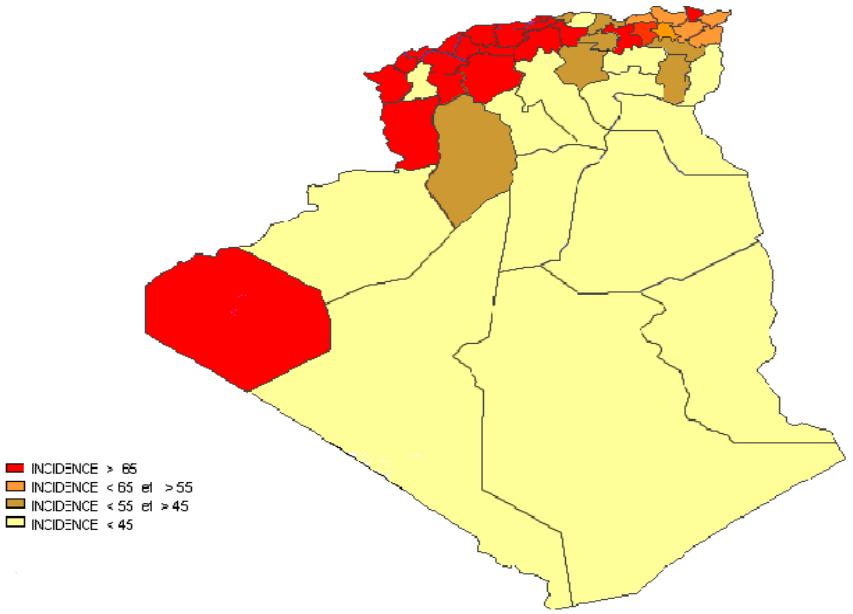


Figure 8 : Incidence de la tuberculose toutes formes confondues en 2009 selon les Wilayas (MINISTERE DE LA SANTE, 2011)

La répartition géographique des cas déclarés de tuberculose toutes formes selon les régions, les wilayate, et les Etablissements Publiques de Santé de Proximité est très inégale. En général, les territoires où la population urbaine est majoritaire ont une incidence déclarée plus élevée que celle des territoires où population rurale est majoritaire. L'incidence déclarée est plus élevée dans la région Ouest du pays que dans les autres régions. La wilaya de Tindouf représente une exception dans les wilayats du sud en raison d'une forte population réfugiée **(MINISTERE DE LA SANTE, 2011).**

2.1. Incidence :

Au cours de la période 1962-2010, l'Algérie, jadis pays à haute prévalence de tuberculose, a rejoint depuis le début des années 1980 le groupe des pays à prévalence modérée. L'on dénombre environ chaque année 20 000 cas de tuberculose toutes formes confondues où l'incidence annuelle de cette tuberculose se situe entre 20 et 99 cas pour 100 000 habitants **(DJENFI et *al.*, 2014 et BOULAHBAL *et al* . , 2004).**

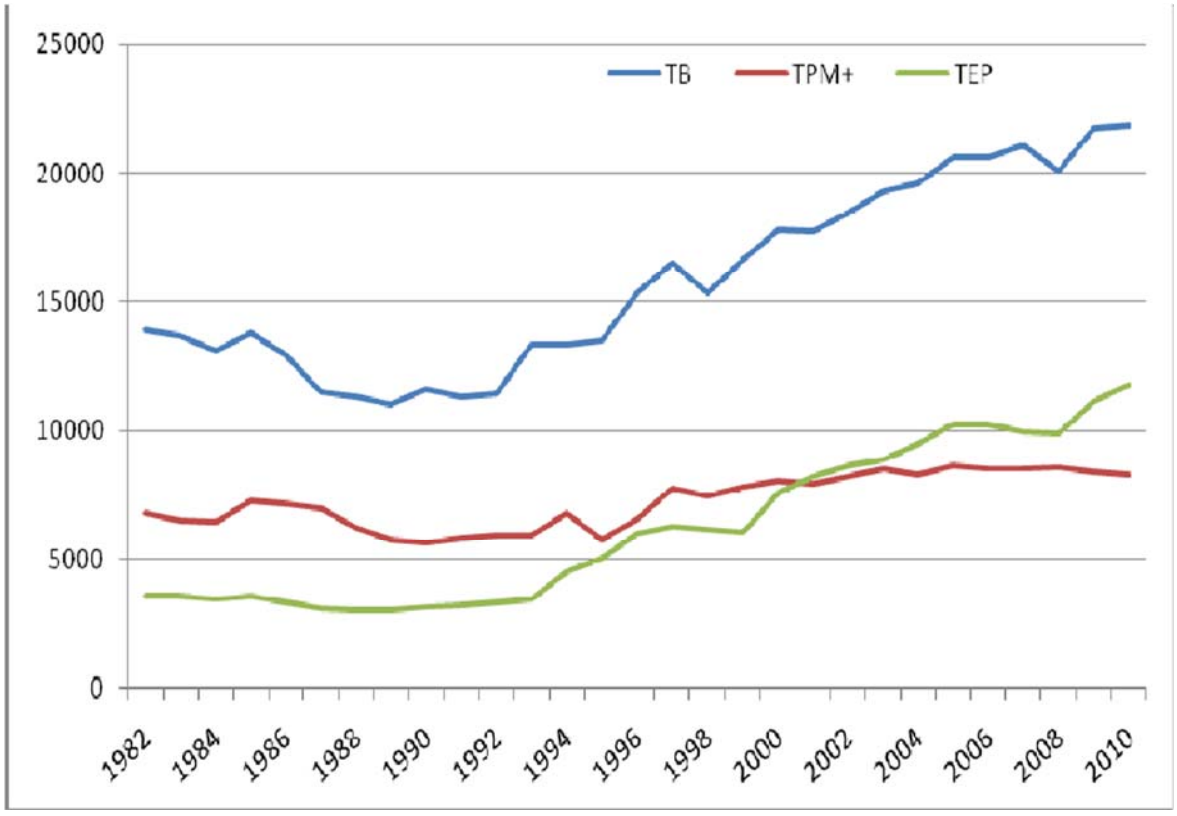


Figure 9 : Evolution du nombre des nouveaux cas de tuberculose déclarés en Algérie entre 1982 et 2010 (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

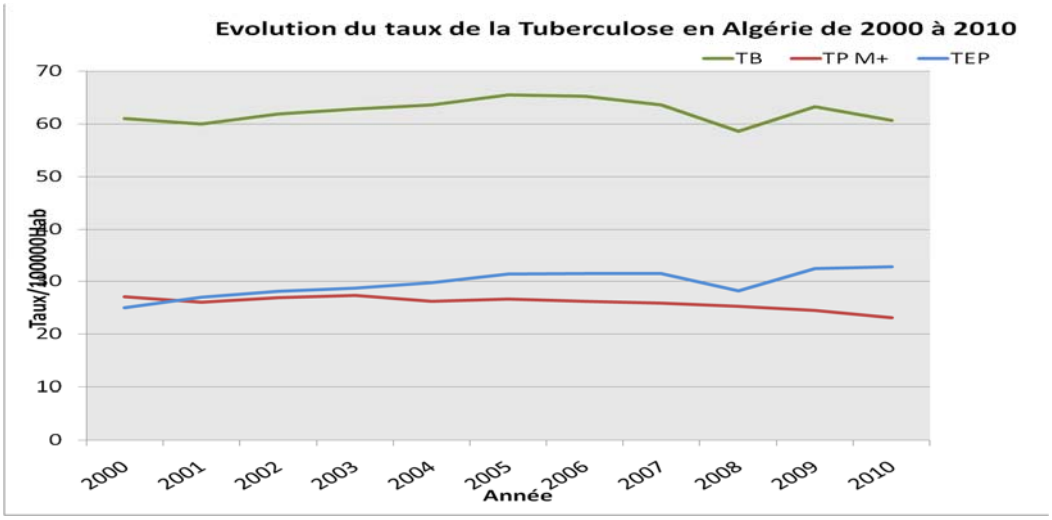


Figure 10 : Evolution de l'incidence de la tuberculose entre 2000 et 2010 (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

De 2000 à 2010 : après la relance des activités du programme antituberculeux et grâce aux séminaires d'information qui ont eu lieu en 2001 et 2002, les données concernant la déclaration des cas sont exhaustives et concordantes.

La tendance observée au cours de la décennie 1991-2001 se confirme : stabilisation de l'incidence des cas de tuberculose pulmonaire contagieuse autour de 26 cas pour 100 000 habitants et persistance d'un niveau élevé de l'incidence déclarée des cas de tuberculose extra pulmonaire (plus souvent présumés que prouvés) **(MINISTERE DE LA SANTE,2011)**

		2005	2006	2007	2008	2009	2010
Nouveaux cas	TPM+	8654	8.538	8510	8643	8402	**8299**
	TP C+ seulement	267	199	178	202	224	**230**
	TPM0	1434	1438	1418	1094	1209	**1213**
	TP M ?	215	190	185	232	258	**327**
	TEP	10079	10219	10209	9902	11118	**11770**
Anciens cas	Rechutes	557	559	480	509	490	**497**
	Echecs	46	26	38	40	28	**40**
	Reprises évolutives	119	94	99	93	94	**142**
Total des cas declares		**21206**	**21261**	**21117**	**20715**	**21823**	**22518**

Tableau E : Nombre de cas déclarés de la tuberculose de 2005 à 2010 (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

- Parmi les nouveaux cas de tuberculose toutes formes confondues, on observe une légère prédominance des cas de tuberculose pulmonaire. Pour les années récentes, 83% des nouveaux cas de tuberculose

pulmonaire sont à microscopie positive, tandis que plus de 15% sont à microscopie négative ou non faite ; la proportion des cas de tuberculose pulmonaire à culture positive seulement est très faible en raison du développement insuffisant du réseau des laboratoires de culture. L'importance numérique des cas de tuberculose extra-pulmonaire se confirme, mais ces cas sont le plus souvent présumés que prouvés, ce qui suggère l'hypothèse d'une surestimation du problème **(MINISTERE DE LA SANTE, 2011).**

- Parmi les cas de tuberculose pulmonaire déjà traités qui ne représentent que 7% de l'ensemble des cas de tuberculose pulmonaire prouvés bactériologiquement, les échecs du primo traitement sont beaucoup plus rares que les rechutes et les reprises évolutives après traitement incomplet***(MINISTERE DE LA SANTE, 2011).***

2.2. Caractéristiques des cas de tuberculoses :

a. répartition par âge et sexe :

La répartition des cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive selon les groupes d'âge fait apparaître deux pics de fréquence : l'un pour le groupe d'âge de 25 à 34 ans et l'autre pour les sujets de 65 ans et plus avec une prédominance masculine sauf avant 14 ans et après 55 ans **(MINISTERE DE LA SANTE, 2011).**

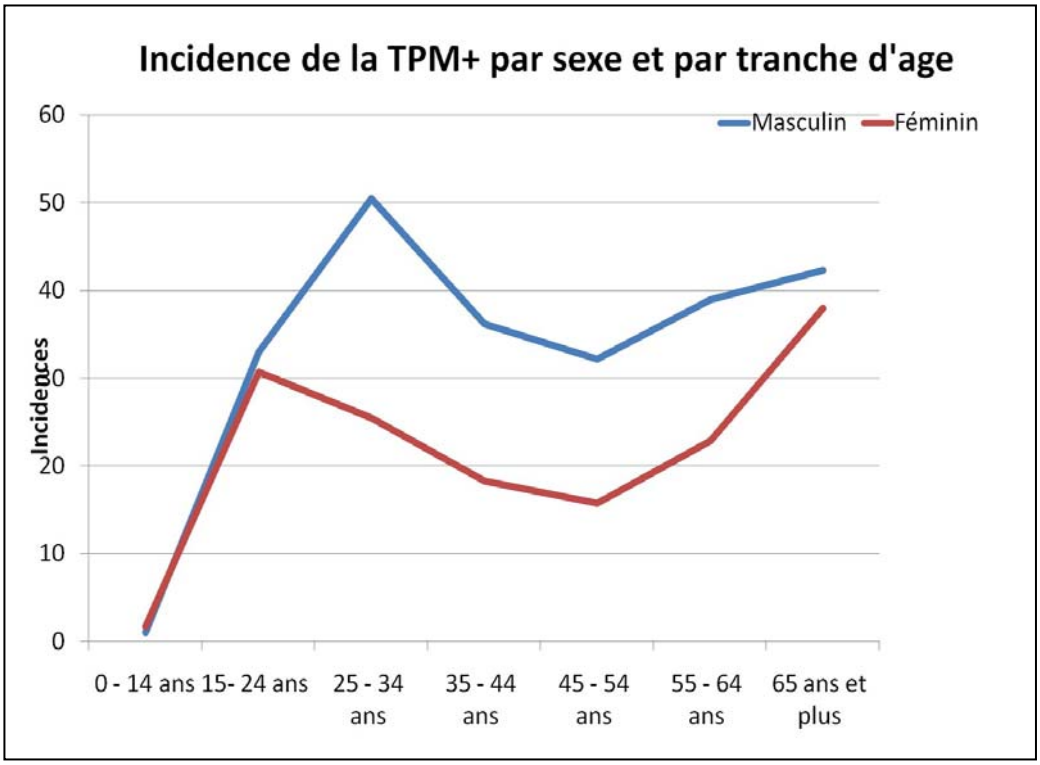


Figure 11: Incidence de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+) par sexe et tranche d'âge en 2010 en Algérie (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

b. caractéristique clinique et bactériologique :

Plus de 22.000 cas de tuberculose, dont la plupart extra pulmonaires, ont été déclarés en Algérie en 2014. Sur les 22.153 cas de tuberculose diagnostiqués en 2014, 8.445 seulement sont pulmonaires contagieux, les 13.708 cas restants, soit 61,9 %, sont extra pulmonaires, il a été relevé que si l'incidence de la tuberculose pulmonaire contagieuse a baissé de 10 cas sur 100.000 habitants depuis 2001, celle de la tuberculose extra pulmonaire a par contre, enregistré une "progression" et a atteint un niveau relativement "élevé".

En 2001, l'incidence pour 100.000 habitants était de 26,2 cas pour la tuberculose pulmonaire, en 2014, elle était de 17, 5 cas . Pour la forme extra pulmonaire, l'incidence pour 100.000 habitants était de 26,9 en 2001, en 2014 elle a atteint 35,4%. Au total, l'incidence en 2014 était de 57,2 pour toutes formes confondues de tuberculose, en 2001, le chiffre était de 60,1 par 100.000 habitants. La baisse presque insignifiante est due à la "persistance d'un niveau relativement élevé" de cas de tuberculose extra pulmonaire **(Sofiane Ali halassa,2015).**

C . mortalité :

La mortalité par tuberculose ne peut pas être rapportée à la population, faute d'une déclaration complète des causes de décès. La létalité est connue pour les cohortes de malades admis au traitement. Elle est de 2% pour les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire et de 4% pour les cas de tuberculose pulmonaire admis en re-traitement ou traitement de deuxième ligne **(MINISTERE DE LA SANTE, 2011)**

3.Historique :

La tuberculose est une maladie infectieuse, et est connue depuis l'Antiquité. Les Grecs nommaient la tuberculose "phtisie" **(Francesca Corti ,2014)** .Peste «blanche», «grande faucheuse», «consomption» autant de termes qui désignent cette maladie infectieuse grave qui a frappé l'humanité dès le néolithique avec le développement de l'agriculture et le regroupement des communautés en villages. On relève des traces de lésions de cette maladie sur des momies égyptiennes (3000 ans avant J.C), et plus tard dans le nouveau monde sur une momie précolombienne du 8 ème siècle. Les grandes épidémies européennes et la dissémination planétaire du microbe ont lieu à partir du 18 ème siècle et du 19 ème siècle. Au cours de cette période, un Européen sur quatre mourait de «peste blanche»

Si les symptômes ont été décrits par HIPPOCRATE en Grèce au Ve siècle avant J.C, plus tard par Jéronimo FRASCATOR en Italie en 1546 et par Percival POTT en 1750 en Angleterre

(atteintes osseuses). Ce n'est qu'au début du XIXe siècle grâce à René LAENNEC que la nature infectieuse et contagieuse de la maladie a semblé évidente. Cela fût confirmer par le médecin militaire Jean-Antoine VILLEMIN en 1865 puis par le vétérinaire Jean-Baptiste CHAUVEAU en 1868.

En 1882, le microbiologiste allemand Robert KOCH résout l'énigme vieille de plusieurs millénaires et démontre que la tuberculose est bien causée par une bactérie baptisée plus tard Mycobacterium tuberculosis.

Huit ans plus tard en 1890, Robert KOCH décrit une substance, un extrait glycériné du bacille tuberculeux, appelée d'abord «lymphe de KOCH» puis tuberculine capable d'empêcher la croissance du microbe en culture et sur l'animal. La tuberculine va être alors utilisée et l'est encore chez l'homme et l'animal par voie percutanée ou intradermique.

En 1908, Albert CALMETTE et Camille GUERIN mettent au point un vaccin contre la tuberculose reposant sur l'injection de bacilles tuberculeux vivants mais de virulence atténuée appelés "Bacilles de Calmette et Guérin" ou « BCG **»(Dr Yves MOREAU *et al).***

En 1944, S.A. WAKSMAN, un microbiologiste américain, découvre le premier antibiotique actif contre le bacille tuberculeux : la streptomycine. D'autres médicaments spécifiques seront découverts dans les 20 années qui suivent : l'isoniazide, l'acide para-aminosalicylique, le pyrazinamide, l'éthambutol et la rifampicine.

La disponibilité d'un traitement efficace a certainement eu un impact très favorable sur l'évolution de la tuberculose. Pourtant, la régression du nombre de cas avait commencé bien avant la découverte des antibiotiques à la suite de l'amélioration des conditions de vie de la population. Ce fait illustre bien le caractère social de cette maladie dont l'apparition et l'évolution sont fortement liées à la pauvreté et à la promiscuité qui en découle très souvent.

En 1993, l'OMS déclare la tuberculose une urgence mondiale. En 2013, Selon les estimations de l'OMS au niveau mondial : 9 millions de personnes ont développé une tuberculose , 1,5 million de personnes en sont décédées, parmi lesquelles 360 000 étaient co-infectées par le VIH , 480 000 personnes ont développé une tuberculose multi-résistante , entre 2000 et 2013, 37 millions de vies ont été sauvées grâce à un diagnostic et un traitement efficaces.

En 2014, après 50 ans sans nouvelle découverte, plusieurs nouveaux médicaments antituberculeux sont apparus sur le marché mondial.

4. Facteurs modifiant l'épidémiologie de la tuberculose :

4.1. Facteurs socio-économiques

La persistance de la tuberculose est attribuable principalement à la pauvreté (95% des tuberculeux du monde vivent dans les pays pauvres) , à la croissance démographique naturelle aggravée par les phénomènes des migratoires et à l'augmentation importante des cas de tuberculose dans les zones d'endémie au V I H(BOULAHBAL et all 2004).

En Algérie l'augmentation du nombre absolu des nouveaux cas déclarés de tuberculose toutes formes : 13.916 en 1982, jusqu'à 20.070 en 2009, est due à un facteur de l'accroissement démographique naturel (la population, qui était de 19,8 millions en 1982, dépasse 35 millions en 2009) **(MINISTERE DE LA SANTE, 2011).**

4.2.Traitement antituberculeux:

Diagnostiquer et débuter un traitement efficace dès le début de la maladie, avant que les patients ne puissent infecter d'autres personnes, est considérée comme la mesure préventive la plus efficace contre la TB. Un traitement efficace réduit en général de façon substantielle (ou élimine) la transmission de la maladie par les patients à frottis positif en moins d'un mois après le début du traitement.

Depuis l'introduction du traitement antituberculeux, une accélération de la réduction du risque annuel d'infection (RAI) a été observée dans de nombreux pays industrialisés. Le risque d'infection a diminué d'environ 50% tous les 5 à 7 ans durant cette période. Cette tendance a été observée dans les pays ayant (ou non) un programme de vaccination par le BCG. Cette réduction du risque d'infection est une conséquence directe des programmes de dépistage, diagnostic et traitement **(Francis et *al* . , 2014).**

4.3. Infection par leVIH :

L'immuno dépression induite par le VIH est un facteur de risque majeur de progression de l'infection tuberculeuse vers une TB évolutive et a un impact important sur l'épidémiologie de la TB . Après infection par M. tuberculosis, le risque de développer une TB évolutive au cours de la vie est d'environ 10%. Toutefois, chez les patients co-infectés par le VIH et M. tuberculosis, ce risque est d'environ 10% par an. Environ 12 à 14% des cas de TB dans le monde sont des patients infectés par le VIH. En Afrique, 82% des cas de TB sont des patients infectés

par le VIH. L'impact du sida sur l'épidémiologie de la TB ne peut que s'amplifier avec l'extension de l'épidémie de sida **(Francis et *al* .,2014).**

4.4. Vaccination par le BCG :

L'effet de la vaccination par le BCG est controversé. Deux notions peuvent être distinguées : l'efficacité du BCG au niveau individuel et l'impact épidémiologique de la vaccination.

- Efficacité du BCG au niveau individuel

Bien que les résultats d'enquêtes contrôlées soient contradictoires (efficacité allant de 0 à 80%) , il est admis que le BCG, s'il est administré avant la primo-infection (en pratique, à la naissance), confère au sujet vacciné une protection de 40 à 70% pendant une période d'environ 10 à 15 ans. La protection contre les formes graves chez l'enfant (TB miliaire et méningite tuberculeuse) est estimée à 80% **(Francis et *all.*2014).**

- Impact épidémiologique de la vaccination

L'analyse des statistiques de quelques pays européens a montré que la vaccination par le BCG réduit le nombre de cas de TB évolutive chez les sujets vaccinés par rapport aux sujets non- vaccinés. Des modèles démontrent que même des vaccins modérément efficaces pourraient avoir un impact significatif sur la réduction des épidémies de TB s'ils étaient couplés avec des taux modérés à élevés de mise sous traitement. Malgré une certaine protection, l'impact de la vaccination par le BCG sur la transmission de la TB et l'épidémie de TB est généralement considéré comme minimal. Des vaccins plus efficaces seraient nécessaires **(Francis et *al., 2014).***

I. MATERIEL

1. Lieu et durée d'étude

Nous avons réalisé notre travail au niveau du laboratoire du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires (S.C.T.M.R.) et l'hôpital BOUDIAF Mohamed à Médéa et au niveau de la direction de santé et de la population de la wilaya de Médéa (DSP)

Notre stage a été effectué durant la période de 3 mois .Notre diagnostic à porté sur 169 examens bactériologiques et anatomo-pathologique des prélèvements tuberculeux alors que notre étude rétrospective à été réaliser sur 5219 fiches de malades tuberculeuxsur une période de 6 ans allant du 01janvier 2012 au 31 décembre 2017.

2. Matériel biologique

- Crachat du patient.
- Suc gastrique.
- Liquide ascite
- Suc ganglionnaire
- Une pièce d'exérèse de prostate

3. Autre matériel

- Microscope optique
- Tampon de coton
- Réactifs de coloration de Ziehl Neelsen
- Réactifs de coloration de Giemsa
- Matérielles du technique histologique
- Réactifs de coloration de HE

4. Documents consultés

- Registre de DSP

II . METHODES DE DIAGNOSTIC

1. Les examens bactériologiques :

1.1. Prélèvements d'échantillons

C'est un prélèvement d'origine pulmonaire et quelques prélèvements extra-pulmonaires. Il s'agit de recueillir les crachats émis spontanément après un effort de toux profond, de préférence le matin au réveil, dans des flacons stériles, à fermeture étanche et à large ouverture afin d'éviter les contaminations des bords extérieurs.

Ces crachoires doivent porter impérativement une étiquette bien collée sur le pot avec le nom ; le prénom du patient ainsi que son numéro de dossier et le centre demandeur .

Les prélèvementspulmonaire sont généralement répétés deux jours de suite.

Les enfants de moins de 12 ans sont habituellement incapables d'expectorer Volontairement, c'est pourquoi des tubages gastriques pour le recueil des sécrétions bronchiques dégluties durant la nuit sont nécessaires .Cet examen nécessite une courte hospitalisation de l'enfant.

1.2. Examen direct :

Le diagnostic de certitude de la tuberculose repose sur la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* dans le prélèvement pathologique. Cet examen direct se base sur l'examen microscopique: la méthode de ZiehlNeelsen à chaud utilisant la fuchsine. La richesse de la paroi des mycobactéries en lipides rend peu efficaces les colorants usuels, obligeant à recourir d'autre techniques. Le but de cette technique est de chercher la propriété fondamentale de ces mycobactéries qui est leur caractère acido-alcoolo-résistant. Cette technique n'est pas spécifique aux bacilles tuberculeux mais à toutes les mycobactéries.

1.2.1. Préparation du frottis à partir d'un crachat et d'autres produits pathologiques :

Le frottis se fait obligatoirement sur une lame neuve, préalablement dégraissée et séchée. Le numéro attribué au malade sur le registre du laboratoire doit être inscrit à une extrémité de la lame.

-A l'aide d'une anse de platine rigide, déjà stérilisée à la flamme et refroidie, un très petit échantillon de crachat purulent ou muqueux est prélevé puis étalé, en faisant des mouvements circulaires sur environ 2 cm de long et 1 cm de large. Le frottis doit être séché à l'air libre. (voir l'annexes 2)

1.2.2. Fixation du frottis

La fixation du frottis se fait à la chaleur par 3 à 4 passages rapides de la lame au dessus de la flamme d'un bec Bunsen. Il s'agit de chercher une opération particulière capable de garder le colorant principal après décoloration, c'est-à-dire la conservation de la couleur rose-rouge de la fuchsine malgré l'action d'un acide fort et de l'éthanol à 95°. Cette propriété est en relation avec la composition particulière de la paroi des mycobactéries qui est riche en lipides : acide mycolique et acides aminés à longue chaîne. Cette richesse en lipides rend difficile la coloration habituelle et fait recourir à cette méthode permettant de mettre en évidence le caractère essentiel des mycobactéries c'est-à-dire : l'acido-alcoolo-résistance.

1.2.3. Coloration de ZiehlNeelsen à chaud

O Coloration

- Les lames numérotées sont placées sur un support en verre ou en métal puis recouvertes par la fuchsine basique phéniquée à 1% filtrée au préalable.

- A l'aide d'un coton monté sur une tige, trempé dans l'alcool et flambé, la flamme est passée sous les lames recouvertes de fuchsine jusqu'à l'émission de vapeurs. Cette opération est répétée trois fois en laissant agir pendant trois minutes tout en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant. La fuchsine est ajoutée si besoin est au fur et à mesure a la fin du temps de coloration, la fuchsine est rejetée et la lame est rincée à l'eau du robinet en évitant de détacher le frottis (voir l'annexe 03)

O **Décoloration**

Après coloration les lames sont recouvertes d'acide sulfurique dilué au quart pendant une durée de trois minutes , puis le colorant est jeté et les lames sont rincées à l'eau du robinet.

-Les lames sont recouvertes avec de l'alcool à 95° pendant 5 minutes puis sont rincées à nouveau. Le frottis est alors légèrement teinté de rose ou incolore (voir l'annexe 4)

O**Contre-coloration**

- Le frottis est recouvert au bleu de méthylène pendant 30 secondes à une minute.

Il est rincé à l'eau du robinet puis séché à l'air libre voir l'annexe 5)

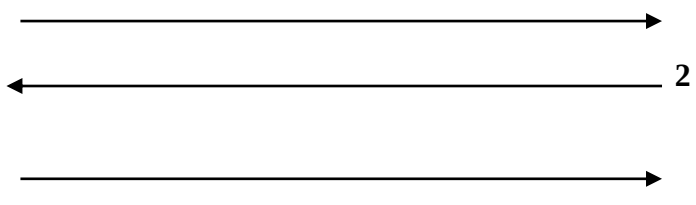
1.2.4. Lecture et interprétation des résultats

- La lecture de la lame se fait au microscope binoculaire à l'immersion avec l'objectif (x 100).

- Une goutte d'huile à immersion est versée sur le frottis sans le toucher pour éviter la contamination. La lame est placée sur la platine du microscope .

- Après la mise au point, la lame est examinée champ par champ suivant sa longueur, de gauche à droite sur au moins cent champs avant de déclarer la négativité d'une lame (examen pendant 15 minutes environ).

- La lecture de la lame se fait en créneau.

Numéro d'identification du malade.	

La lecture en créneau de la lame

Les BAAR apparaissent rouge vif ou en rose sur un fond contre-coloré en bleu. Ils

Sont droits ou légèrement incurvés de 2 à 4 µm de long sur 0,3 à 0,5 µm de large. Ils se présentent comme de fins bâtonnets, isolés ou groupés en amas et se détachant nettement du fond bleu de la préparation .Exemples de frottis négatif et positif pris en photo (voir figure :16)

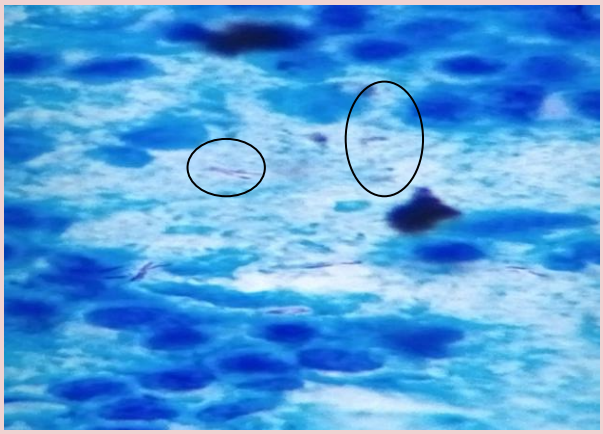
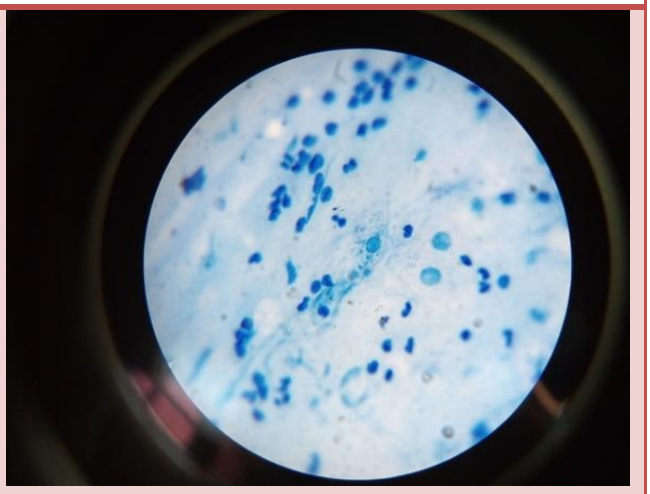
Lame positive (A)	Lame négative (B)
	

Figure 12 : Image photographique des frottis

a. frottis positif : les BAAR apparaissent rouge vif ou en rose sur un fond contre-coloré en bleu

b. frottis négatif : absence des BAAR colorées en rouge vif et l'apparition que la couleur bleu .

L'échelle d'observation à cet examen microscopique en fonction du nombre bacilles observés par champs examinés est établie comme présente dans le tableau (**Tableau n°1 : Notation des résultats)**

Nombre de BAAR	Réponse	Signification
Pas de BAAR au moins dans 100 champs	-	Lame négative
1 à 9 BAAR au moins dans 100 champs	+	Lame douteuse (refaire l'examen)
10 à 99 BAAR pour 100 champs	++	Lame faiblement positive
1 à 9 BAAR par champ	+++	Lame moyennement positive
10 à 99 BAAR par champ	++++	Lame fortement positive
Plus de 100 BAAR par champ	+++++	Lame fortement positive

1.3. la mise en culture des produits pathologiques

1.3.1. la mise en culture des crachats et prélèvements contaminés

La culture à partir d'échantillons cliniques (expectorations, ponction ganglionnaire, les urines ,pus,tubage gastrique et aspiration bronchique..…), permet le diagnostic définitif de la tuberculose . L'isolement des mycobactéries à partir des prélèvements contaminés nécessite la mise en œuvre de procédés de décontamination.

O **la décontamination d'échantillons cliniques**

La méthode utilisée pour la décontamination des échantillons d'expectorations est celle de Pétroff à la soude.

1. L'expectoration est mise dans un tube de centrifugation, auquel sont ajoutés deux volumes d'hydroxyde de SodiumNaOH à 4%.
2. L'agitation des expectorations pondant 15 minutes dans un agitateur de Kahn.
3. le tube est centrifugé à 3000 tour/min pendant 15 minutes. Le surnagent est éliminé et le culot est lavé à l'eau distillée stérile. Le tube est centrifugé une seconde fois pendant 15 minutes à 3000 tr/min, le culot est ensuite mis en suspension dans 2ml d'eau distillée stérile.
4. Les préparations sont ensemencées sur milieux de Lowenstein-Jensen (L-J) (annexe 6/7)

- La mise en culture d'écouvillon laryngé ou de pus :

1.Préparation des réactifs

a. Acide sulfurique (H2SO4) 4%

100 ml d'eau distillée sont rajoutées (avec précaution) à 4 ml d'acide sulfurique pure , la solution autoclavée et conservée à température ambiante .

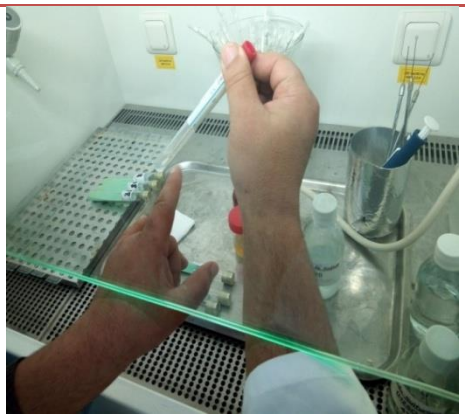
b. Hydroxyde de sodium (NaOH) 6% :

peser 6 g de pastilles de soude sont dissoute dans 100 ml d'eau distillée .la solution autoclavée et conservée à température ambiante .

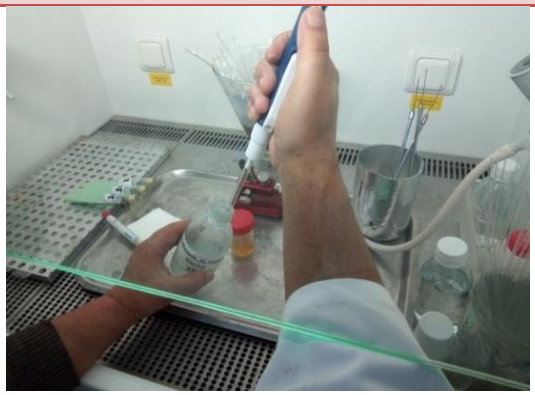
2. Les étapes :



A



B



C



D

Figure 13 : les étapes de la mise en culture d'écouvillon laryngé ou de pus

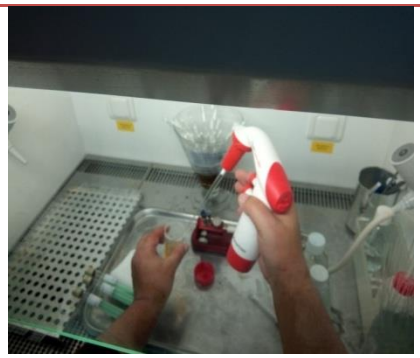
a. Dans le tube contenant l'écouvillon, on met 04 ml de H 2SO4 à 4 %
b. On laisser agir 10 minutes
c. la solution est ensuite neutralisé avec 3.5 ml de NaOH à 6 %
d. on procède la solution à ensemencement en frottant délicatement l'écouvillon sur toute la surface du milieu de L.J

1.3.2. la mise en culture des prélèvements non contaminée

(Liquide céphalo-rachidien , liquide de ponction pleurale , liquide ascite, liquide de ponction péritonéale et liquide de ponction articulaire….)Ces produits sont ensemencés directement sur plusieurs tubes de milieu L-J.

Il est indispensable de travailler très stérilement pour éviter de contaminer les échantillons, d'ensemencer le maximum de volume de l'échantillon, de multiplier les milieux solides et pour augmenter les chances d'isoler les bacilles généralement présents en faible nombre.

O **la mise en culture d'un liquide Ascite** :


A	B	C

Figure 14 : les étapes de la mise en culture d'un liquide Ascite

a. on fait Passer rapidement l'ouverture du tube à la flamme

b. on prélever stérilement une goutte de liquide avec la pipette

c. on dépose la goutte prélevée dans le tube contenant le milieu de culture

les cultures sontensuite incubées dans une étuve à 37°C et examinées quotidiennement durant la première semaine pour vérifier d'éventuelles contaminations puis hebdomadairement pour le reste de la période d'incubation.

1.3.3 .Détermination de l'aspect des colonies et la vitesse de croissance :

Sur milieu de culture solide de Löwenstein-Jensen, les principales caractéristiques macroscopiques étudiées sont la vitesse d'apparition de la colonie, le nombre de colonies, leur aspect rugueux ou lisse, la présence ou non d'une pigmentation.

Ainsi, sur milieu solide, les colonies de *M. tuberculosis* apparaissent en quatre à six semaines, sont d'aspect rugueux dit en « chou-fleur », de couleur crème.

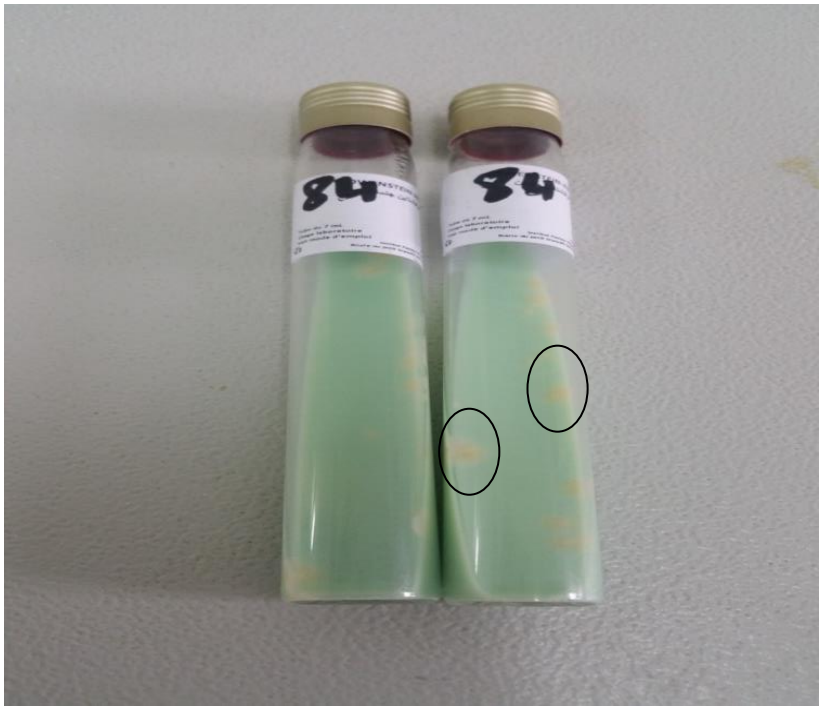


Figure 15 : l' aspect rugueux en « chou-fleur » des colonies après six semaines

2. l'examen anatomo-pathologique :

l'examen anatomo-pathologique est très contributif au diagnostic de la tuberculose vu sa fiabilité, sa rapiditéd'obtention et son apport diagnostique notamment dans lesformes pauci-cellulaires.

Le matériel d'étude anatomo-pathologique peut faire appel soit :

- au produit d'une cytoponction sous contrôle radiologique. Celui-ci permet une orientation étiologique par laprésence possible d'une population inflammatoire richeen lymphocytes, en cellules épithélioïdes ou en cellules géantes multinuclées .

- sur matériel biopsique

- ou plus rarement sur pièce opératoire.

2.1. Techniques d'étude des cellules

2. 1.1. Etalement cytologique :

L'aspiration cytologique à l'aiguille fine (ou ponction-aspiration ganglionnaire) consiste à prélever du suc ganglionnaire dans un ganglion lymphatique. Le matériel obtenu est déposé sur des lames et préparé pour l'examen microscopique.

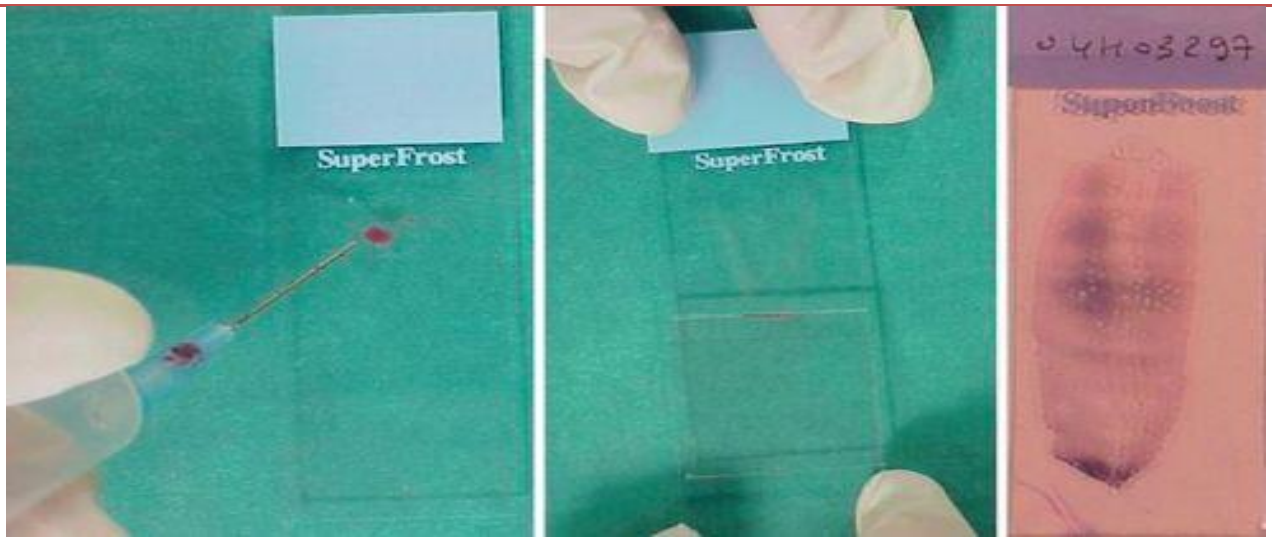
2 lames sont colorées au Giemsa , à la recherche de caséum, granulome, cellules géantes et cellules épithélioïdes ou histiocytes, et 1 ou 2 lames sont colorées selon la méthode de Ziehl-Neelsen, à la recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR).

- **Préparation de la lame :**

La lame doit être identifiée avant l'aspirationet préparée immédiatement après.
– Détacher l'aiguille de la seringue immédiatement après l'aspiration. [Technique de prélèvement(annexe 08)]
– Remplir d'air la seringue (l'aiguille est toujours détachée de la seringue).

Préparer l'étalement :

• Reconnecter l'aiguille à la seringue. Pousser doucement sur le piston pour déposer une petite goutte de matériel sur une extrémité de la lame (si le suc est déposé au centre, l'étalement sera difficile à réaliser).
• Couvrir la préparation d'une autre lame.
• Faire glisser doucement les 2 lames l'une contre l'autre, en directions opposées, de façon à étirer complètement le matériel entre les lames. Ne pas appuyer fortement sur les lames pour ne pas écraser les cellules.
• Laisser sécher les lames à l'air.
• Fixer les frottis au méthanol lorsqu'ils sont complètement secs.
• Réaliser la coloration de Giemsa (annexe 9)



À gauche : projection du produit de ponction à l'aiguille sur une lame.
Au centre : la goutte est étalée, tirée à l'aide d'une autre lame.
À droite : lame d'un étalement cytologique après coloration.

Figure 16: l'étalement d'un suc ganglionnaire sur une lame neuve

- **Lecture de la lame colorée au Giemsa**

Sur chaque lame, un ou plusieurs éléments suivants peuvent être identifiés :

– Foyer central de nécrose caséeuse (caséum) : substance rosée, homogène, dépourvue de cellules.

– Granulome : amas de cellules épithélioïdes, entourées d'une couronne lymphocytaire, avec ou sans nécrose caséeuse.

– Cellules épithélioïdes : cellules allongées, noyau réiniforme à chromatine finement granulaire entouré d'un cytoplasme rosé.

– Cellules géantes : cellules gigantesques et multinucléées.

2.2. Techniques d'étude des tissus

La technique comporte plusieurs étapes : la fixation, l'inclusion en paraffine, la confection de coupes et leur coloration de HE (annexe 10/11)

En ce qui concerne les pièces opératoires, une étape d'analyse macroscopique est indispensable.

2.2.1.Étude macroscopique :

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire : la pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée (figure 24).



Figure 18: Mesure et dissection d'une pièce d'exérèse de prostate fixée dans le formol puis sélection des prélèvements destinés à l'étude.

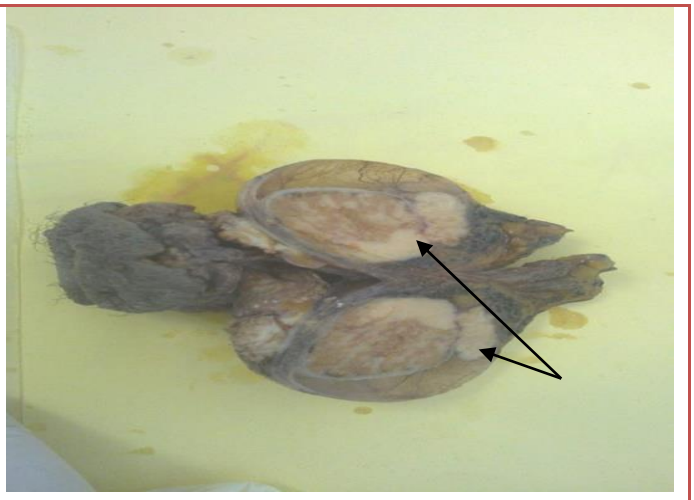
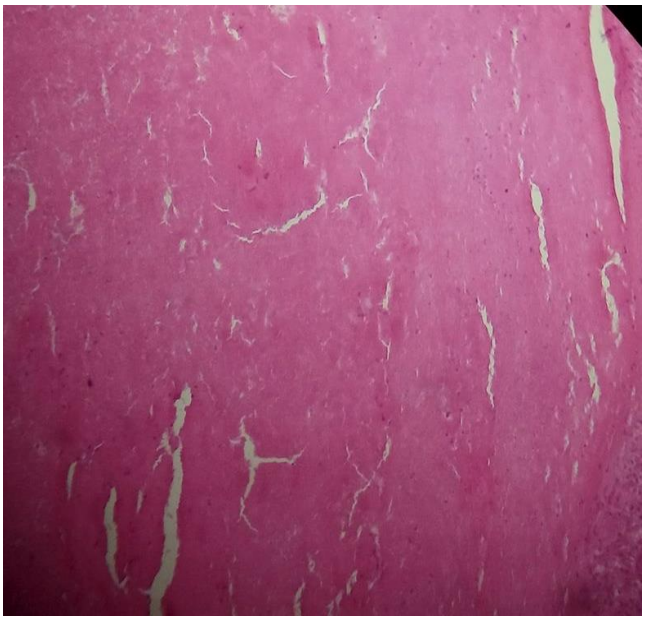


Figure 17: aspect macroscopique d'une pièce d'exérèse d'un testicule fixée dans le formol siège d'une tuberculose évolutive
flèches noires :substance blanchâtres disséminées, molle, comparable à du fromage blanc d'où son nom.

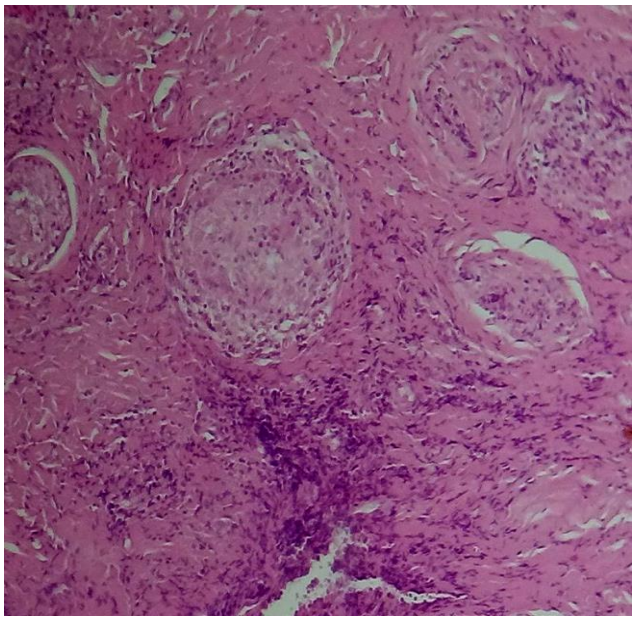
L'examen macroscopique donne des indications pour le pronostic de la maladie (notamment la taille et la localisation dugranulome) et il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique : zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse.

Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce opératoire sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires.

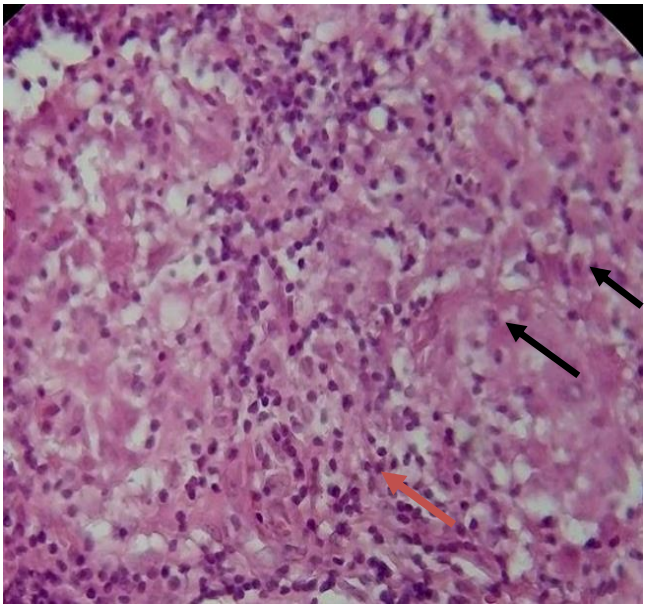
2.2.2.Étude microscopique :



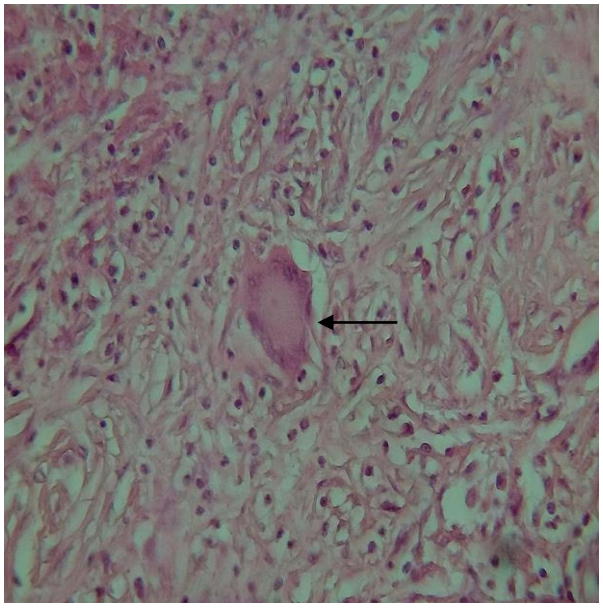
Observation microscopique d'un Nécrose caséeuse (objectif 10)



Observation microscopique d'un follicule épithéliaux-gigonto cellulaire (objectif 10)



Observation microscopique des cellulesépithélioïdes (desFlèche noire) et des lymphocytes (Flèche orange) objectif 40 :



Observation microscopique d'un cellule géante (objectif 40)

Figure 19 :Coupe histologique montrant une parenchyme testiculaire siège d'un granulome épithélio-giganto-cellulaire avec nécrose caséeuse attestant une tuberculose évolutive.

Deux lésions élémentaires sont caractéristiques :

1) La nécrose caséeuse :

substance éosinophile, craquelée, granuleuse ou homogène pouvant être complète ou incomplèteavec persistance de quelques débris nucléaires.

2) le follicule épithéliaux-gigonto cellulaire :comporte (figure 19) :

a - un foyer central de nécrose caséeuse,

b - une bordure palissadique de cellules épithélioïdes et decellules géantes

c - une couronne lymphocytaire périphérique.

III. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

1. Méthodologie d'étude épidémiologique

L'étude est rétrospective sur une période de 6 ans allant du 01janvier 2012 au 31 décembre 2017. Elle concerne les dossiers des patients tuberculeux pris en charge au niveau de direction de la santé et de la population de la wilaya de Médéa (DSP) .

Un total de 5219 fiches de malades tuberculeux a été analysé tout en prenant soin de relever plusieurs critères : l'année du diagnostic, l'âge et le sexe du patient, la commune, le type de tuberculose et sa localisation, catégorie de malade (nouveau ou ancien cas) et enfin le résultat de thérapie administrée. Les données recueillies ont été analysée en confrontant les différents critères. Les graphiques ont été élaborés par le logiciel SPSS .

I. MATERIEL

1. Lieu et durée d'étude

Nous avons réalisé notre travail au niveau du laboratoire du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires (S.C.T.M.R.) et l'hôpital BOUDIAF Mohamed à Médéa et au niveau de la direction de santé et de la population de la wilaya de Médéa (DSP)

Notre stage a été effectué durant la période de 3 mois .Notre diagnostic à porté sur 169 examens bactériologiques et anatomo-pathologique des prélèvements tuberculeux alors que notre étude rétrospective à été réaliser sur 5219 fiches de malades tuberculeuxsur une période de 6 ans allant du 01janvier 2012 au 31 décembre 2017.

2. Matériel biologique

- Crachat du patient.
- Suc gastrique.
- Liquide ascite
- Suc ganglionnaire
- Une pièce d'exérèse de prostate

3. Autre matériel

- Microscope optique
- Tampon de coton
- Réactifs de coloration de Ziehl Neelsen
- Réactifs de coloration de Giemsa
- Matérielles du technique histologique
- Réactifs de coloration de HE

4. Documents consultés

- Registre de DSP

II . METHODES DE DIAGNOSTIC

1. Les examens bactériologiques :

1.1. Prélèvements d'échantillons

C'est un prélèvement d'origine pulmonaire et quelques prélèvements extra-pulmonaires. Il s'agit de recueillir les crachats émis spontanément après un effort de toux profond, de préférence le matin au réveil, dans des flacons stériles, à fermeture étanche et à large ouverture afin d'éviter les contaminations des bords extérieurs.

Ces crachoires doivent porter impérativement une étiquette bien collée sur le pot avec le nom ; le prénom du patient ainsi que son numéro de dossier et le centre demandeur .

Les prélèvementspulmonaire sont généralement répétés deux jours de suite.

Les enfants de moins de 12 ans sont habituellement incapables d'expectorer Volontairement, c'est pourquoi des tubages gastriques pour le recueil des sécrétions bronchiques dégluties durant la nuit sont nécessaires .Cet examen nécessite une courte hospitalisation de l'enfant.

1.2. Examen direct :

Le diagnostic de certitude de la tuberculose repose sur la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* dans le prélèvement pathologique. Cet examen direct se base sur l'examen microscopique: la méthode de ZiehlNeelsen à chaud utilisant la fuchsine. La richesse de la paroi des mycobactéries en lipides rend peu efficaces les colorants usuels, obligeant à recourir d'autre techniques. Le but de cette technique est de chercher la propriété fondamentale de ces mycobactéries qui est leur caractère acido-alcoolo-résistant. Cette technique n'est pas spécifique aux bacilles tuberculeux mais à toutes les mycobactéries.

1.2.1. Préparation du frottis à partir d'un crachat et d'autres produits pathologiques :

Le frottis se fait obligatoirement sur une lame neuve, préalablement dégraissée et séchée. Le numéro attribué au malade sur le registre du laboratoire doit être inscrit à une extrémité de la lame.

-A l'aide d'une anse de platine rigide, déjà stérilisée à la flamme et refroidie, un très petit échantillon de crachat purulent ou muqueux est prélevé puis étalé, en faisant des mouvements circulaires sur environ 2 cm de long et 1 cm de large. Le frottis doit être séché à l'air libre. (voir l'annexes 2)

1.2.2. Fixation du frottis

La fixation du frottis se fait à la chaleur par 3 à 4 passages rapides de la lame au dessus de la flamme d'un bec Bunsen. Il s'agit de chercher une opération particulière capable de garder le colorant principal après décoloration, c'est-à-dire la conservation de la couleur rose-rouge de la fuchsine malgré l'action d'un acide fort et de l'éthanol à 95°. Cette propriété est en relation avec la composition particulière de la paroi des mycobactéries qui est riche en lipides : acide mycolique et acides aminés à longue chaîne. Cette richesse en lipides rend difficile la coloration habituelle et fait recourir à cette méthode permettant de mettre en évidence le caractère essentiel des mycobactéries c'est-à-dire : l'acido-alcoolo-résistance.

1.2.3. Coloration de ZiehlNeelsen à chaud

O Coloration

- Les lames numérotées sont placées sur un support en verre ou en métal puis recouvertes par la fuchsine basique phéniquée à 1% filtrée au préalable.

- A l'aide d'un coton monté sur une tige, trempé dans l'alcool et flambé, la flamme est passée sous les lames recouvertes de fuchsine jusqu'à l'émission de vapeurs. Cette opération est répétée trois fois en laissant agir pendant trois minutes tout en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant. La fuchsine est ajoutée si besoin est au fur et à mesure a la fin du temps de coloration, la fuchsine est rejetée et la lame est rincée à l'eau du robinet en évitant de détacher le frottis (voir l'annexe 03)

O **Décoloration**

Après coloration les lames sont recouvertes d'acide sulfurique dilué au quart pendant une durée de trois minutes , puis le colorant est jeté et les lames sont rincées à l'eau du robinet.

-Les lames sont recouvertes avec de l'alcool à 95° pendant 5 minutes puis sont rincées à nouveau. Le frottis est alors légèrement teinté de rose ou incolore (voir l'annexe 4)

O**Contre-coloration**

- Le frottis est recouvert au bleu de méthylène pendant 30 secondes à une minute.

Il est rincé à l'eau du robinet puis séché à l'air libre voir l'annexe 5)

1.2.4. Lecture et interprétation des résultats

- La lecture de la lame se fait au microscope binoculaire à l'immersion avec l'objectif (x 100).

- Une goutte d'huile à immersion est versée sur le frottis sans le toucher pour éviter la contamination. La lame est placée sur la platine du microscope .

- Après la mise au point, la lame est examinée champ par champ suivant sa longueur, de gauche à droite sur au moins cent champs avant de déclarer la négativité d'une lame (examen pendant 15 minutes environ).

- La lecture de la lame se fait en créneau.

Numéro d'identification du malade.	**1** → ← **2** **3** →

La lecture en créneau de la lame

Les BAAR apparaissent rouge vif ou en rose sur un fond contre-coloré en bleu. Ils

Sont droits ou légèrement incurvés de 2 à 4 µm de long sur 0,3 à 0,5 µm de large. Ils se présentent comme de fins bâtonnets, isolés ou groupés en amas et se détachant nettement du fond bleu de la préparation .Exemples de frottis négatif et positif pris en photo (voir figure :16)

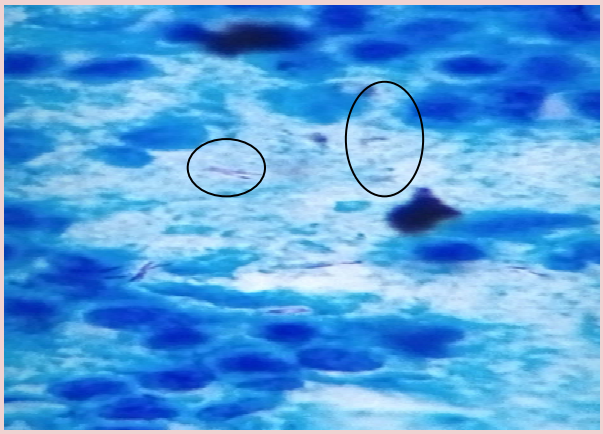
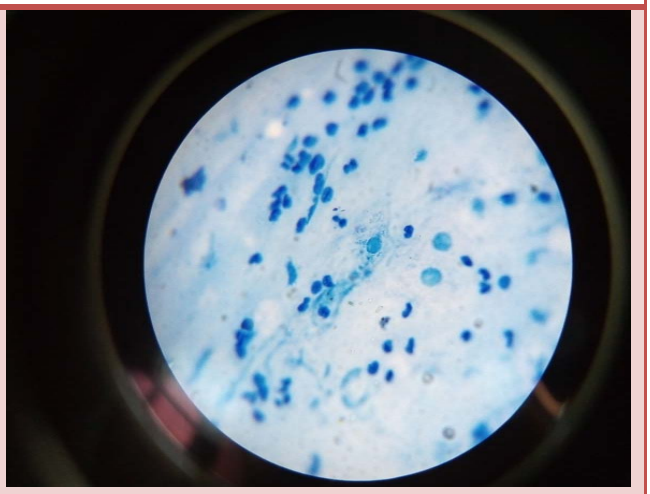
Lame positive (A)	Lame négative (B)
	

Figure 12 : Image photographique des frottis

a. frottis positif : les BAAR apparaissent rouge vif ou en rose sur un fond contre-coloré en bleu

b. frottis négatif : absence des BAAR colorées en rouge vif et l'apparition que la couleur bleu .

L'échelle d'observation à cet examen microscopique en fonction du nombre bacilles observés par champs examinés est établie comme présente dans le tableau (**Tableau n°1 : Notation des résultats)**

Nombre de BAAR	Réponse	Signification
Pas de BAAR au moins dans 100 champs	-	Lame négative
1 à 9 BAAR au moins dans 100 champs	+	Lame douteuse (refaire l'examen)
10 à 99 BAAR pour 100 champs	++	Lame faiblement positive
1 à 9 BAAR par champ	+++	Lame moyennement positive
10 à 99 BAAR par champ	++++	Lame fortement positive
Plus de 100 BAAR par champ	+++++	Lame fortement positive

1.3. la mise en culture des produits pathologiques

1.3.1. la mise en culture des crachats et prélèvements contaminés

La culture à partir d'échantillons cliniques (expectorations, ponction ganglionnaire, les urines ,pus,tubage gastrique et aspiration bronchique.....), permet le diagnostic définitif de la tuberculose . L'isolement des mycobactéries à partir des prélèvements contaminés nécessite la mise en œuvre de procédés de décontamination.

O la décontamination d'échantillons cliniques

La méthode utilisée pour la décontamination des échantillons d'expectorations est celle de Pétroff à la soude.

1. L'expectoration est mise dans un tube de centrifugation, auquel sont ajoutés deux volumes d'hydroxyde de SodiumNaOH à 4%.
2. L'agitation des expectorations pondant 15 minutes dans un agitateur de Kahn.
3. le tube est centrifugé à 3000 tour/min pendant 15 minutes. Le surnagent est éliminé et le culot est lavé à l'eau distillée stérile. Le tube est centrifugé une seconde fois pendant 15 minutes à 3000 tr/min, le culot est ensuite mis en suspension dans 2ml d'eau distillée stérile.
4. Les préparations sont ensemencées sur milieux de Lowenstein-Jensen (L-J) (annexe 6/7)

- La mise en culture d'écouvillon laryngé ou de pus :

1.Préparation des réactifs

a. Acide sulfurique (H2SO4) 4%

100 ml d'eau distillée sont rajoutées (avec précaution) à 4 ml d'acide sulfurique pure , la solution autoclavée et conservée à température ambiante .

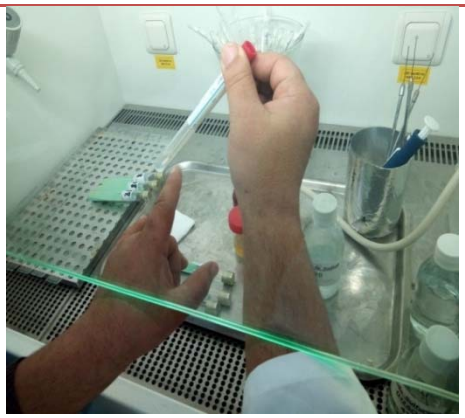
b. Hydroxyde de sodium (NaOH) 6% :

peser 6 g de pastilles de soude sont dissoute dans 100 ml d'eau distillée .la solution autoclavée et conservée à température ambiante .

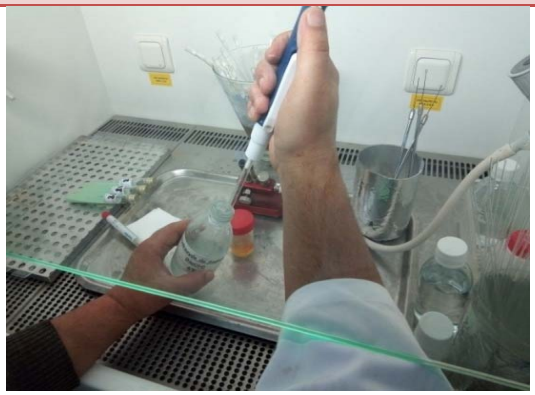
2. Les étapes :



A



B



C



D

Figure 13 : les étapes de la mise en culture d'écouvillon laryngé ou de pus

a. Dans le tube contenant l'écouvillon, on met 04 ml de H 2SO4 à 4 %
b. On laisser agir 10 minutes
c. la solution est ensuite neutralisé avec 3.5 ml de NaOH à 6 %
d. on procède la solution à ensemencement en frottant délicatement l'écouvillon sur toute la surface du milieu de L.J

1.3.2. la mise en culture des prélèvements non contaminée

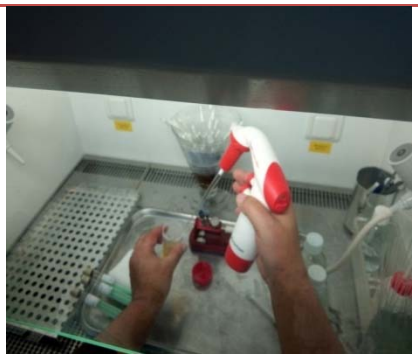
(Liquide céphalo-rachidien , liquide de ponction pleurale , liquide ascite, liquide de ponction péritonéale et liquide de ponction articulaire….)Ces produits sont ensemencés directement sur plusieurs tubes de milieu L-J.

Il est indispensable de travailler très stérilement pour éviter de contaminer les échantillons, d'ensemencer le maximum de volume de l'échantillon, de multiplier les milieux solides et pour augmenter les chances d'isoler les bacilles généralement présents en faible nombre.

O **la mise en culture d'un liquide Ascite** :



A



B



C

Figure 14 : les étapes de la mise en culture d'un liquide Ascite

a. on fait Passer rapidement l'ouverture du tube à la flamme

b. on prélever stérilement une goutte de liquide avec la pipette

c. on dépose la goutte prélevée dans le tube contenant le milieu de culture

les cultures sontensuite incubées dans une étuve à 37°C et examinées quotidiennement durant la première semaine pour vérifier d'éventuelles contaminations puis hebdomadairement pour le reste de la période d'incubation.

1.3.3 .Détermination de l'aspect des colonies et la vitesse de croissance :

Sur milieu de culture solide de Löwenstein-Jensen, les principales caractéristiques macroscopiques étudiées sont la vitesse d'apparition de la colonie, le nombre de colonies, leur aspect rugueux ou lisse, la présence ou non d'une pigmentation.

Ainsi, sur milieu solide, les colonies de *M. tuberculosis* apparaissent en quatre à six semaines, sont d'aspect rugueux dit en « chou-fleur », de couleur crème.



Figure 15 : l' aspect rugueux en « chou-fleur » des colonies après six semaines

2. l'examen anatomo-pathologique :

l'examen anatomo-pathologique est très contributif au diagnostic de la tuberculose vu sa fiabilité, sa rapiditéd'obtention et son apport diagnostique notamment dans lesformes pauci-cellulaires.

Le matériel d'étude anatomo-pathologique peut faire appel soit :

- au produit d'une cytoponction sous contrôle radiologique. Celui-ci permet une orientation étiologique par laprésence possible d'une population inflammatoire richeen lymphocytes, en cellules épithélioïdes ou en cellules géantes multinuclées .

- sur matériel biopsique

- ou plus rarement sur pièce opératoire.

2.1. Techniques d'étude des cellules

2. 1.1. Etalement cytologique :

L'aspiration cytologique à l'aiguille fine (ou ponction-aspiration ganglionnaire) consiste à prélever du suc ganglionnaire dans un ganglion lymphatique. Le matériel obtenu est déposé sur des lames et préparé pour l'examen microscopique.

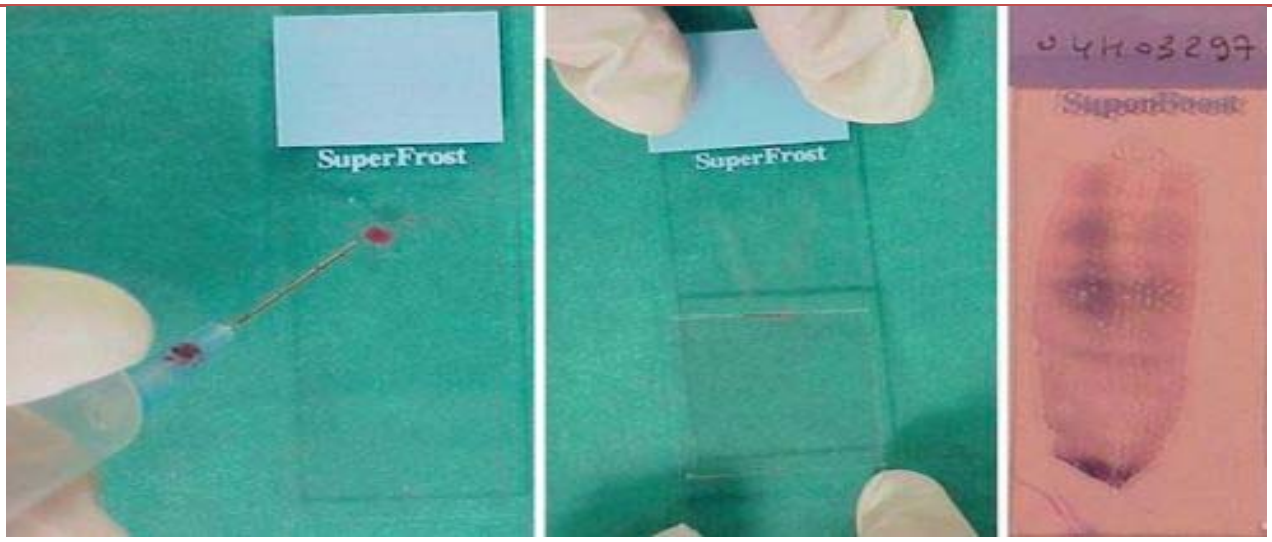
2 lames sont colorées au Giemsa , à la recherche de caséum, granulome, cellules géantes et cellules épithélioïdes ou histiocytes, et 1 ou 2 lames sont colorées selon la méthode de Ziehl-Neelsen, à la recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR).

- **Préparation de la lame :**

La lame doit être identifiée avant l'aspirationet préparée immédiatement après.
– Détacher l'aiguille de la seringue immédiatement après l'aspiration. [Technique de prélèvement(annexe 08)]
– Remplir d'air la seringue (l'aiguille est toujours détachée de la seringue).

Préparer l'étalement :

• Reconnecter l'aiguille à la seringue. Pousser doucement sur le piston pour déposer une petite goutte de matériel sur une extrémité de la lame (si le suc est déposé au centre, l'étalement sera difficile à réaliser).
• Couvrir la préparation d'une autre lame.
• Faire glisser doucement les 2 lames l'une contre l'autre, en directions opposées, de façon à étirer complètement le matériel entre les lames. Ne pas appuyer fortement sur les lames pour ne pas écraser les cellules.
• Laisser sécher les lames à l'air.
• Fixer les frottis au méthanol lorsqu'ils sont complètement secs.
• Réaliser la coloration de Giemsa (annexe 9)



À gauche : projection du produit de ponction à l'aiguille sur une lame.
Au centre : la goutte est étalée, tirée à l'aide d'une autre lame.
À droite : lame d'un étalement cytologique après coloration.

Figure 16: l'étalement d'un suc ganglionnaire sur une lame neuve

- **Lecture de la lame colorée au Giemsa**

Sur chaque lame, un ou plusieurs éléments suivants peuvent être identifiés :

– Foyer central de nécrose caséeuse (caséum) : substance rosée, homogène, dépourvue de cellules.

– Granulome : amas de cellules épithélioïdes, entourées d'une couronne lymphocytaire, avec ou sans nécrose caséeuse.

– Cellules épithélioïdes : cellules allongées, noyau réiniforme à chromatine finement granulaire entouré d'un cytoplasme rosé.

– Cellules géantes : cellules gigantesques et multinucléées.

2.2. Techniques d'étude des tissus

La technique comporte plusieurs étapes : la fixation, l'inclusion en paraffine, la confection de coupes et leur coloration de HE (annexe 10/11)

En ce qui concerne les pièces opératoires, une étape d'analyse macroscopique est indispensable.

2.2.1.Étude macroscopique :

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire : la pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée (figure 24).

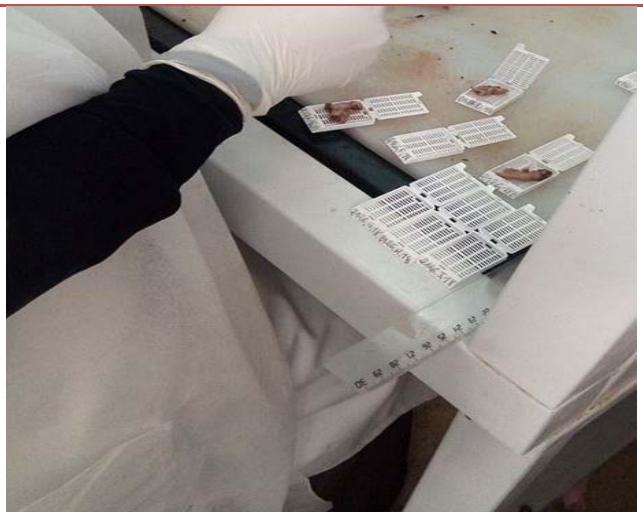


Figure 18: Mesure et dissection d'une pièce d'exérèse de prostate fixée dans le formol puis sélection des prélèvements destinés à l'étude.

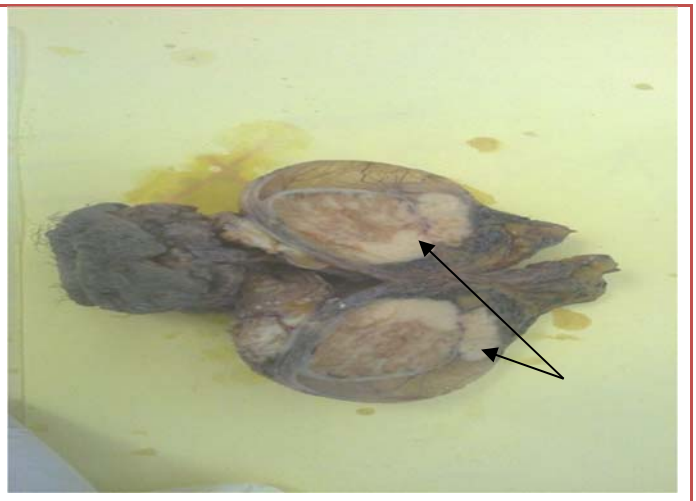
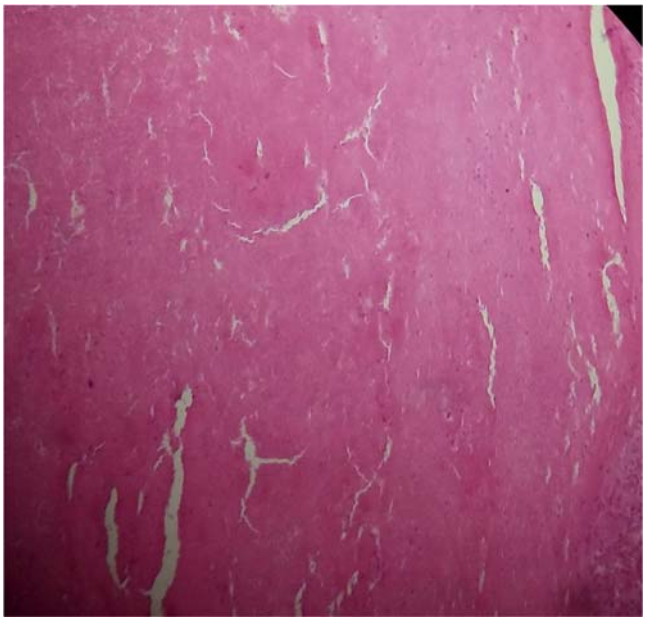


Figure 17: aspect macroscopique d'une pièce d'exérèse d'un testicule fixée dans le formol siège d'une tuberculose évolutive
flèches noires :substance blanchâtres disséminées, molle, comparable à du fromage blanc d'où son nom.

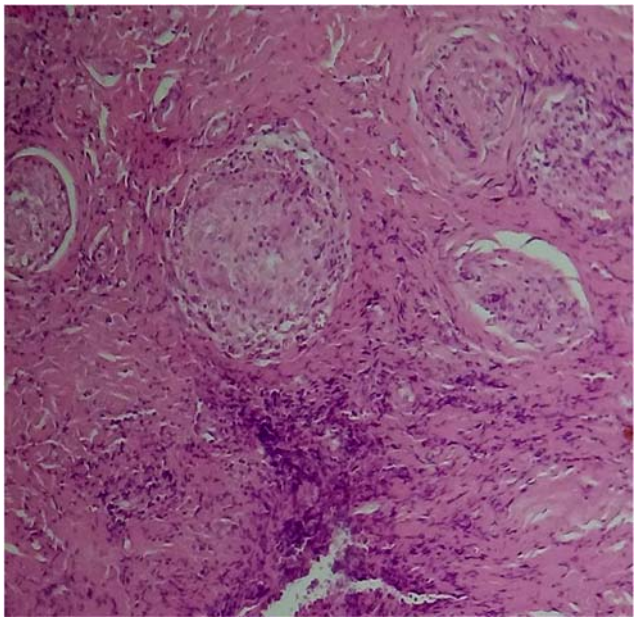
L'examen macroscopique donne des indications pour le pronostic de la maladie (notamment la taille et la localisation dugranulome) et il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique : zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse.

Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce opératoire sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires.

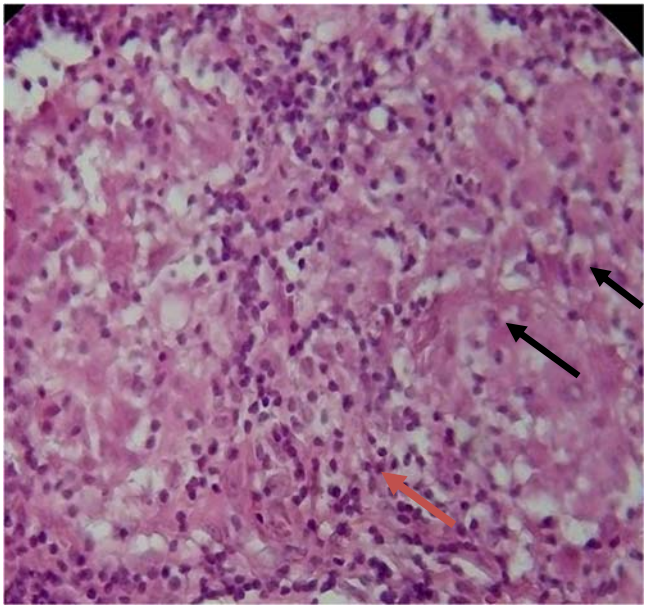
2.2.2.Étude microscopique :



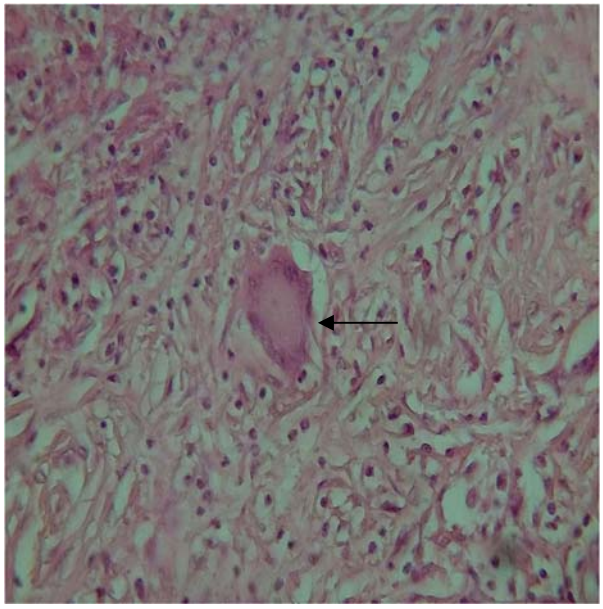
Observation microscopique d'un Nécrose caséeuse (objectif 10)



Observation microscopique d'un follicule épithéliaux-gigonto cellulaire (objectif 10)



Observation microscopique des cellulesépithélioïdes (desFlèche noire) et des lymphocytes (Flèche orange) objectif 40 :



Observation microscopique d'un cellule géante (objectif 40)

Figure 19 :Coupe histologique montrant une parenchyme testiculaire siège d'un granulome épithélio-giganto-cellulaire avec nécrose caséeuse attestant une tuberculose évolutive.

Deux lésions élémentaires sont caractéristiques :

1) La nécrose caséeuse :

substance éosinophile, craquelée, granuleuse ou homogène pouvant être complète ou incomplèteavec persistance de quelques débris nucléaires.

2) le follicule épithéliaux-gigonto cellulaire :comporte (figure 19) :

a - un foyer central de nécrose caséeuse,

b - une bordure palissadique de cellules épithélioïdes et decellules géantes

c - une couronne lymphocytaire périphérique.

III. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

1. Méthodologie d'étude épidémiologique

L'étude est rétrospective sur une période de 6 ans allant du 01janvier 2012 au 31 décembre 2017. Elle concerne les dossiers des patients tuberculeux pris en charge au niveau de direction de la santé et de la population de la wilaya de Médéa (DSP) .

Un total de 5219 fiches de malades tuberculeux a été analysé tout en prenant soin de relever plusieurs critères : l'année du diagnostic, l'âge et le sexe du patient, la commune, le type de tuberculose et sa localisation, catégorie de malade (nouveau ou ancien cas) et enfin le résultat de thérapie administrée. Les données recueillies ont été analysée en confrontant les différents critères. Les graphiques ont été élaborés par le logiciel SPSS .

CONCLUSION :

La tuberculose est une maladie contagieuse du au bacille koch. Sa transmission se fait essentiellement par voie aérienne par l'intermédiaire de fines gouttelettes éliminée dans l'air et porteuses de bacilles. Le diagnostic des différentes formes fait intervenir des critères cliniques, bactériologiques et radiologiques .

Au terme de notre étude réalisée à l'UCTMR de Médéa, l'évolution de la tuberculose au cours des dernières années semble accuser une baisse remarquable entre 2012 et 1015 e une nette augmentation entre 2015 et 2017.

La tuberculose touche globalement autant de femme que d'hommes. Les jeunes âgés de 15 à 34 ans les plus touchés par la maladie étant donné qu'elle est représenté la tranche de la population la plus sociable et active, donc plus exposée au risque de contamination. Les individus âgés de plus de 65 ans sont également très vulnérables face à la maladie.

Les daïras les plus touchées par la tuberculose sont Médéa et Berrouaghia comparativement aux autres daïras du faitqu'elles sont les plus peuplées où la promiscuité favoriserait la propagation de l'agent causalde la maladie

Les thérapies adoptées face aux différentes formes de tuberculose semble assezefficace du fait qu'un taux de sucées dépassant les 65% a été enregistré à l'UMCTR de Médéa.

Malgré l'existence d'un programme de lutte antituberculeux, la tuberculose constitue encore un sérieux problème de santé publique en Algérie.

Le traitement efficace est une condition nécessaire, mais elle est loin d'être suffisante, il ne suffitpas de diagnostiquer et de traiter les malades, mais de s'attaquer à la source.

Il est impératif de renforcer la lutte antituberculeuse par la création d'autres centres de prise encharge de la tuberculose, qui doivent être équipés par des laboratoires performants et enpersonnels spécialisés dans le dépistage, le traitement et le contrôle de la tuberculose.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-AIT-KHALED N. et ENARSON R. (1999)

Tuberculose manuel pour les étudiants en médecine. WHO/CDS/TB/99.272.

-Ann Biol Clin (2004) Article (Identification moléculaire des mycobactéries et détection de la résistance aux antibiotiques)

-Antoine d, che d. . Les cas de tuberculose déclarés en France en 2010

-Astarie-Dequeker, C., N'Diaye, E.N., Le Cabec, V., Rittig, M.G., Prandi, J., and Maridonneau-Parini, I. (1999). The mannose receptor mediates uptake of pathogenic and nonpathogenicmycobacteria and bypasses bactericidal responses in human macrophages. Infection andimmunity*67*, 469-477.

-BOULAHBAL F. et CHAULET P. (2004) La tuberculose en Afrique épidémiologie et mesures de lutte. *Med Trop;*64 : p 224- 228.

-BOUSEBHA A. (2006). Epidémiologie de la tuberculose aux urgences de l'hôpital Avicenne (Bobigny). Thèse de doctorat, Université Paris Val-de-Marne. 59 p.

- Carole DESCHASEAUX . (2005). EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DE LA TUBERCULOSE: ETUDE DES SOUCHES DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS PAR LA TECHNIQUE IS611 O-RFLP. THESE de doctorat en PHARMACIE. UNIVERSITE Henri Poincaré (France).

-Cole S.T. and Brosch R. (1998) Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. Nature Vol : 393. p : 537-544.

-Cywes, C., Godenir, N.L., Hoppe, H.C., Scholle, R.R., Steyn, L.M., Kirsch, R.E., and Ehlers,M.R. (1996). Nonopsonic binding of Mycobacterium tuberculosis to human complementreceptor type 3 expressed in Chinese hamster ovary cells. Infection and immunity*64*, 5373-5383.

- Dr Sofiane ALIHALASSA , Programme National Anti Tuberculeux, (Journée Mondiale de la Tuberculose) 24 mars 2015

-Dr Yves MOREAU - Dr Jean-François SALUZZO LA TUBERCULOSE QUELQUES POINTS D'HISTOIRE

-E. Bouvet ,D. Abiteboul, F. Antoun, Z. Bessa, C. Billy, B. Dautzenberg, B. Decludt, J. Gaudelus,V. Jarlier, S. Lerasle, O. Siruguet, V. VincentPréventionet prise en chargede la tuberculoseen France(2002-2003)

-Elena Segala . (2013) .Caractérisation génétique, biochimique et structurale del'ATPsynthase des mycobactéries, la cible d'un nouvel antituberculeux de la famille des diarylquinolines .thèse de DOCTORAT EN SCIENCE DE . L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE.

-Enarson., D, Wang., J, Disks J. 1989. The incidence of active tuberculosis in a large urban

area. Ed. Am. J. Epidemiol. 1268- 1276

- Francesca Corti / DW.2014 Tuberculose

Disponible à : http://www.hls-dhs-dss.ch/textes/f/F7982.php

- Francis Varaine , Michael L. Rich, *E.2014* (Tuberculose) Guide pratique à l'usage des médecins, infirmiers, techniciens de laboratoire et auxiliaires de santé

-Friedland, J.S., Remick, D.G., Shattock, R., and Griffin, G.E. (1992). Secretion of interleukin-8 following phagocytosis of Mycobacterium tuberculosis by human monocyte cell lines.European journal of immunology *22*, 1373-1378.

-Guedenon., C.I. 2008. Évaluation de l'efficacité du traitement de la tuberculose pulmonaire àbacilloscopie positive chez les patients infectés par le VIH au CNHPP de Cotonou(Benin) a propos de 923 cas. *Thèse doctorat*. Université de Bamako : Faculté demédecine.105p.

-Guthmann JP, Aït Belghiti F, Lévy-Bruhl D. Épidémiologie dela tuberculose en France en 2015. Impact de la suspensionde l'obligationvaccinale BCG sur la tuberculose de l'enfant,2007-2015. Bull EpidémiolHebd. 2017;(7):116-26.

-J. Mazza-Staldera,∗, L. Nicoda, J.-P. Janssens b (2012),La tuberculose extrapulmonaire., revue des maladies respiratoire 2012-elsevier.

-Jean-Pierre Zellweger .2012 .manuel de la tuberculose. 3e édition

Jean-Pierre Zellweger .2007 .manuel de la tuberculose. 2e édition

-Kang, P.B., Azad, A.K., Torrelles, J.B., Kaufman, T.M., Beharka, A., Tibesar, E., DesJardin, L.E., and Schlesinger, L.S. (2005). The human macrophage mannose receptor directs Mycobacterium tuberculosis lipoarabinomannan-mediated phagosome biogenesis. TheJournal of experimentalmedicine*202*, 987-999

-KOUMBA Y.G. (2010) .Synthèse d'analogues cinnamiques : inhibiteurs potentiels contre *Mycobacteriumtuberculosis*.Thèse de doctorat, Université de Toulouse. 277 p.

Lee, H.M., Shin, D.M., Kim, K.K., Lee, J.S., Paik, T.H., and Jo, E.K. (2009). Roles of

reactive oxygen species in CXCL8 and CCL2 expression in response to the 30-kDa antigenof Mycobacterium tuberculosis. Journal of clinicalimmunology*29*, 46-56.

- MARCHAL N., BOURDON J.L. et RICHARD CL. (1991) Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin. Paris. p 358-360.

-Meena, L.S., and Rajni (2010). Survival mechanisms of pathogenic Mycobacterium

tuberculosis H37Rv. The FEBS journal *277*, 2416-2427.

-MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (2011)Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies Guide de la lutte antituberculeuse.3ème Ed.

-Ninet, B. Roux-Lombard, P. Schrenzel, J. Janssens, J. P. (2011). New tests for the diagnosis of tuberculosis. Revue des Maladies Respiratoires 28, 823-833

- OMS.2017 , Rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde 2017

-Rohde, K., R. M. Yates, et al. (2007). "Mycobacterium tuberculosis and the environment within the phagosome ."

- Roland BROSCH et all (2017) Tuberculose : place de la vaccination dans la maîtrise de la

maladie

-Russell, D. G., P. J. Cardona, et al. (2009). "Foamy macrophages and the progression of the human tuberculosis granuloma."

-Sasindran, S.J., and Torrelles, J.B. (2011). Mycobacterium Tuberculosis Infection and

Inflammation: what is Beneficial for the Host and for the Bacterium? Frontiers in microbiology*2*, 2.

-Saukkonen, J.J., Bazydlo, B., Thomas, M., Strieter, R.M., Keane, J., and Kornfeld, H. (2002).Beta-chemokines are induced by Mycobacterium tuberculosis and inhibit its growth. Infection and immunity*70*, 1684-1693.

-Saunders, B. M. and W. J. Britton (2007). "Life and death in the granuloma:immunopathology of tuberculosis."

-Schlesinger, L.S. (1993). Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains ofMycobacterium tuberculosis is mediated by mannose receptors in addition to complementreceptors. J Immunol*150*, 2920-2930.

-Sofiane Alihalassa a indiqué le chargé du programme national de lutte contre la tuberculose,, lors d'une rencontre organisée à l'institut national de la santé publique (INSP).2015

-Tailleux, L., Pham-Thi, N., Bergeron-Lafaurie, A., Herrmann, J.L., Charles, P., Schwartz, O., Scheinmann, P., Lagrange, P.H., de Blic, J., Tazi, A.*, et al.* (2005). DC-SIGN induction inalveolar macrophages defines privileged target host cells for mycobacteria in patientswithtuberculosis. PLoS medicine *2*, e381.Silva., C.J, Delfim., F,Torres., M. 2012.Optimal control strategies for tuberculosis treatment: a case study in Angola. *Numerical Algebra, Control and Optimization.* 17p.

-Torrelles, J.B., Azad, A.K., and Schlesinger, L.S. (2006). Fine discrimination in the

recognition of individual species of phosphatidyl-myo-inositol mannosides from

Mycobacterium tuberculosis by C-type lectin pattern recognition receptors. J Immunol*177*, 1805-1816

-Yadav, M., and Schorey, J.S. (2006). The beta-glucan receptor dectin-1 functions togetherwith TLR2 to mediate macrophage activation by mycobacteria. Blood *108*, 3168-3175.

-Zimmerli, S., Edwards, S., and Ernst, J.D. (1996). Selective receptor blockade during

phagocytosis does not alter the survival and growth of Mycobacterium tuberculosis in humanmacrophages. American journal of respiratorycell and molecularbiology*15*, 760-770.

RESUME :

La tuberculose est une maladie infectieuse et contagieuse, causée par bacille de Koch

qui peut attaquer les poumons et d'autres organes de l'organisme . Sa transmission se fait essentiellement par voie aérienne , elle demeure encore un problème de santé publique dans le monde et en particulier en Algérie. Elle est encore responsable de 2 à 3 millions de décès par an parmi le milliard de personnes infectées.

Le diagnostic des différentes formes fait intervenir des critères cliniques, bactériologiques et radiologiques. Le traitement de la tuberculose dure six mois et fait l'objet d'une association de plusieurs médicaments (poly-chimiothérapie).

Nous avons effectué une étude rétrospective portant sur 5219cas de tuberculosecolligés au cours des années de 2012 à 2017 au niveau de direction de la santé et de la population de la wilaya de Médéa (DSP) .

On révèle que la wilaya de Médéa a enregistré un nombre plus élevé des cas de tuberculose 5219 cas et on a noté que la forme extra-pulmonaire est la forme la prédominante (4211 cas) par apport a la forme pulmonaire (1008 cas) .

Les résultats de suivi de la répartition de la tuberculose selon la résidence , montre un taux élevé dans la ville de Médéa avec une incidence de 198 cas pour 100 000 habitants puisBerrouaghia avec une incidence de 192 cas pour 100 000 en 2017. les tranches d'âge les plus affectées sont celle des adultes , on constate que le sexe féminin est le plus touché .

Les techniques traditionnelles de microscopie et de culture ainsi que les examen anatomo-pathologique restent indispensables du diagnostic de certitude de cette maladie. Toutefois, il serait plus utile d'introduire de nouveaux outils (moléculaire) dans la pratique clinique de routine afin d'optimiser la lutte contre la tuberculose en diminuant le délai du diagnostic, allant même jusqu'à la détection rapide de la résistance aux antituberculeux.

SUMMARY

Tuberculosis is an infective disease caused by baciles of Koch attack the lungs and other organs .It is mainly transmitted though airway . We find it as a public problem in the world and particularly in Algeria . It is also responsible for the death of 2 to 3 million in year between 1 billion infected persons .

The diagnosis of different forms involves clinical criteria , bacteriological et radiological . the treatment of tuberculosis lasts six month and is the object of the association of many medicines (poly-chemical therapy)

We performed a retrospective study on 5219 cases of tuberculosis during the years 2012 to 2017 at the Health management level of the population of the wilaya of Médéa .

We reveal that the wilaya of Médéa has marked a big number of tuberculosis cases and we noticed the extra pulmonary form is the predominant form (4211 case) in comparison with the pulmonary form (1008 case).

The results of the follow up of distribution according to the residence show a high rate in the city of Médéa with an impact of 198case for 100 000 inhabitants and Berrouaghia with an imact of 192 case of 100 00 inhabitants in 2017. The affected ages on the adults we realized the feminine sex is more affected .

The traditional techniques of microscopy and culture as well as the anatomo-pathologic exams stay indispensables for the diagnostic of certainty of this illness .

However , it would be more useful to use new tools (molecular) in the clinical practice routine to get the fight agent tuberculosis by reducing the time of the diagnosis even going to detect quickly the resistance of anti tuberculosis .

الملخص :

السل مرض معدي تسببه عصيات كوخ و التي تصيب الرئتين و بعض الأعضاء الأخرى من الجسم كما أن انتقال العدوى تكون عن طريق الهواء . لازال السل يشكل مشكلة كبيرة سواء على الصعيد العالمي أوفي الجزائر . فهو المسؤول عن وفاة ما يقارب 2 إلى 3 مليون شخص من بين ملايين الأشخاص المصابين بمرض السل .

تشخيص السل يتضمن مختلف المعايير السريرية منها و الجرثومية و الاشعاعية , بينما علاجه يكون في مدة ستة أشهر لأن الأمر يتعلق بأخذ مجموعة من الأدوية .

قمنا بدراسة 5219 ملف لمرضى السل التي جمعت خلال 6 سنوات ابتداءا من 2012 إلى غاية 2017على مستوى مديرية الصحة و السكان لولاية المدية .

و من خلال هذه الدراسة توصلنا إلى أن ولاية المدية سجلت عدد كبير من حالات السل التي بلغ عددها (5219 حالة) خلال هذه الفترة من بينها 1008 حالة السل الرئوي و 4211 حالة سل خارج الرئة , كما أظهرت نتائج توزع حالات السل على مختلف دوائر الولاية أن ولاية المدية تحتوي على أكبر عدد من المصابين بنسبة 198 جديدة حالة لكل 100000نسمة تليها دائرة البرواقية بنسبة 192حالة جديدة لكل 100000نسمة و ذلك عام 2017 . الفئة العمرية الأكثر إصابة بهذا المرض هم الشباب البالغين مع هيمنة الإناث .

التقنيات التقليدية المستعملة في تشخيص مرض السل لا غنى عنها لحد الساعة إلا أنه من الأجدر توفير التقنيات الجزيئية للتشخيص الحديث و ذلك من أجل مكافحة السل بالتشخيص المبكر للمرض من خلال هذه التقنيات الحديثة .

Annexes 1

Annexe a : Réactifs de ZiehlNeelsen

- Fuchsine phéniquée de Ziehl

Fuchsine basique ……..……..… 10g

Phénole aqueux ……. 55 ml

Alcool à 95% ……..……..… 100 ml

Eau distillée ……..…….. 1000 ml

- Bleu de méthylène phéniqué

Bleu de méthylène…..... 20 g

Alcool éthylique à 95 %…… 100 ml

Phénol aqueux…….……..…… 22 ml

Eau distillée…… 1000 ml

- Phénol aqueux ou acide phéniqué aqueux

Phénol cristallisé…….…… 1 kg

Eau distillée…… 100 ml

Annexe b : Milieu de Löwenstein – Jensen

Phosphate monopotassique (0,4%)…… 2,4 g

Sulfate de magnésium (0,4%)……. 0,24 g

Citrate de magnésium (0,1%) …… 0,6 g

Asparagine (0,6%)……. 3,6 g

Glycérine bidistillée (2%)…… 12 ml

Eau distillée……. 1640 ml

Fécule de pomme de terre …….. 30 g

OEuf entier…… 1000 ml

Vert de malachite……. 0,4 g

Annexes 2 : les étapes de préparations du frottis



A



B



C



D

Figure 12: les étapes de préparations du frottis

a. stérilisation de l'anse de platine
b. prélèvement d'un très petit échantillon de crachat
c. étalement de crachat sur une lame neuve
d. séchage du frottis à l'air libre

Annexes 3 : les étapes de coloration de Ziehl Neelsen



A



B

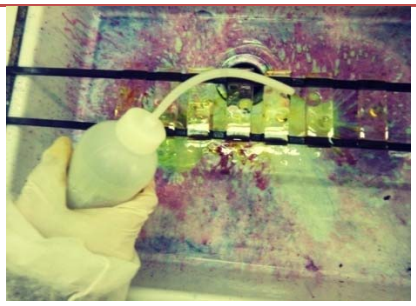


C

Figure 13: les étapes de coloration

a. Recouvrir les lames de Fuchsine basique phéniquée à 1%
b. passage de la tige flambé sous les lames recouvertes de fuchsine
c. rinçage des lames à l'eau du robinet

Annexes 4 : les étapes de décoloration de Ziehl Neelsen



A



B



C



D

Figure 14 : les étapes de décoloration

a .Recouvrir les lames de l'acide sulfurique (H2SO4) à 4%

b. rinçage des lames à l'eau du robinet

c. Les lames sont recouvertes avec de l'alcool à 95°

d.rinçage des lames à nouveau

Annexes 5 : les étapes de Contre-coloration de Ziehl Neelsen



A



B



C

Figure 15: les étapes de Contre-coloration

a. Recouvrir les lames l'une après l'autre avec la solution de bleu de méthylène

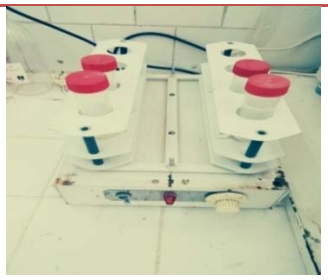
b. rinçage du lames à l'eau du robinet

c. séchage du frottis à l'air libre

Annexes 6 : les étapes de décontaminations d'échantillons cliniques



A



B





C

Figure 17 : les étapes de décontaminations d'échantillons cliniques

a. l'ajout de 2 volume de NAOH à 4% sur les expectorations

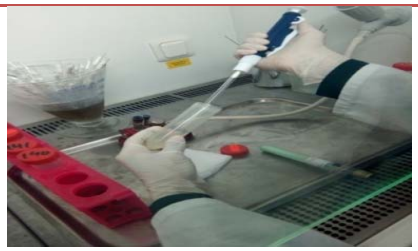
b. L'agitation des expectorations pondant 15 minutes

c. centrifugation des tubes pondant 15 minutes

Annexes 7 : les étapes d'ensemencements des échantillons



A



B



C



D

Figure 18 : les étapes d' ensemencements des échantillons

a. Casser l'extrémité d'une pipette Pasteur et la passer rapidement à la flamme

b. Déboucher le tube et prélever stérilement une goutte de liquide avec la pipette Pasteur.

c. Ouvrir le tube de bouillon nutritif et déposer la goutte prélevée dans le tube

d. Passer rapidement l'ouverture du tube à la flamme avant de le refermer

Annexes 8

Aspiration cytologique à l'aiguille fine

Technique de prélèvement

– Désinfecter le site de ponction.
– Adapter l'aiguille à la seringue ; introduire profondément l'aiguille dans le ganglion.
– Après avoir fait pénétrer l'aiguille dans la masse du ganglion, tirer le piston de la seringue pour maintenir une pression négative.
– Aspirer rapidement, en imprimant à l'aiguille des mouvements de va-et-vient pour permettre au suc ganglionnaire de pénétrer l'aiguille.
– Arrêter d'aspirer lorsque du sang et du suc apparaissent dans l'embout de l'aiguille. Essayer d'aspirer suffisamment de suc, la spécificité et la sensibilité du diagnostic sont influencées par le volume de suc aspiré.
– Relâcher la pression négative avant de retirer l'aiguille du ganglion. Ne pas aspirer en retirant l'aiguille, pour ne pas disperser le prélèvement dans le corps de la seringue ni le mélanger à du sang périphérique en traversant la peau.

Annexes 9

coloration de MGG (May-Grünwald-Giemsa) :

- Déposer 10 à 15 gouttes de May-Grünwald sur l'étalement pendant 3 mn (Pour la Fixation) .
- Déposer 10 à 15 gouttes d'eau et mélanger par rotation de la lame pendant 1 mn
- Égoutter
- Recouvrir de Giemsa dilué 20 mn (pour la coloration) .
- Égoutter
- Laver à l'eau neutre.
- Sécher au papier .

Annexes 10

Tableau récapitulatif des différentes étapes des techniques histologiques

Etapes	Produits	Nombre de bains	Temps	Température
Fixation	Formole	/ /	24 h	Ambiante
Rinçage	L'eau courante	5 bains	2 mints/bain	Ambiante
Déshydratation	Alcool à degré Croissant 70° 90° 100°	 2 bains 2 bains 3 bains	 10 min/bain 10 min/bain 15 min/bain	Ambiante
Imprégnation	Paraffine pure	2bains	2h/bain	Etuve à 60°C
Confection des blocs	Paraffine pure	/	/	Ambiante
Coupes et étalement				
Déparaffinage	Xylène	1bain	30min	Ambiante
Réhydratation	Alcool décroissant: 100° 95° 70° Eau distillée	 1 bain 1 bain 1 bain 1 bain	 2 min 2min 2min 2min	Ambiante
Coloration:	Hématoxyline Eosine	/	/	Ambiante
Déshydratation	Alcool à degré croissant 70° 90° 100°	 1 bain 1 bain 1 bain	Quelques secondes	Ambiante
Montage entre lame/lamelle à l'aide de l'eukitt				

Annexes 11

Coloration HE :

- Déparaffinage :

Xylène……30min

- Hydratation des coupes par l'alcool

Lavage……..2min

Hématoxyline……..3min

Lavage……2min

Eosine…….quelques secondes

Lavage……2min

- Déshydratation :

Alcool70% ……..2min

Alcool96% ……..2min

Alcool100%.....2min

Éclaircissement et montage (entre lame/lamelle à l'aide de l'eukitt).