REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES -MEDEA



FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

SPECIALITE : **IMMUNOLOGIE ET MALADIES INFECTIEUSES**

THEME :

LA PREVALENCE DE LA TUBERCULOSE HUMAINE DANS LA REGION DE MEDEA

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en

Science de la nature et de la vie

Session : Juin 2018

Présentée par :

- ZENAINI Widad et ZOUANI Zahia

Devant le Jury composé de :

Khalouia A	Univ- MEDEA	Président
Bachen M.S	Univ- MEDEA	Examinateur
Khames .M	Univ- MEDEA	Examinateur
BENNADJI. M.A	Univ- MEDEA	Promoteur

2017-2018

Remerciements

Louange à Dieu le tout puissant de nous avoir permis de réaliser dans des bonnes conditions ce modeste travail .

Nous tenons à exprimer notre profond respect à notre promoteur MS ***BENNADJI Mohamed el Amine****, pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser ce travail, pour son encadrement et pour ses précieux conseils, ses orientations scientifiques, assurés pendant l'expérimentation et la rédaction de cette thèse d'exercice de fin d'études.*

Nous tenons également à présenter toute notre gratitude et nos remerciements ***aux membres de jury*** *qui ont consacré leur temps précieux pour juger notre travail.*

Notre profond respect et nos remerciements s'adressent également à l'ensemble des membres de service de contrôle de la tuberculose et des maladies respiratoires d'EPSP ZOUBAYRIA (Médéa), en particulier le chef service ***Ms Ali et*** *la technicienne de laboratoire* ***Mm Amina*** *qui nous ont aimablement et chaleureusement accueillis au sein de leur équipe.*

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à qui nous a ouvert les portes de son laboratoire d'EPSP ZOUBAYRIA et mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour mener à bien ce travail.

Enfin nos remerciements vont à tous ceux qui nous ont aidés de prés ou de loin à fin de réaliser ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma très chère mère :

Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.
Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher père :

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.
Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation, je prie Dieu le tout puissant de vous garder au près de nous et de vous donner la santé et la force pour terminer jusqu'au bout.

A ma très chère grand-mère maternelle :

Vous avez été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis inch'allah.

A mes frères et sœurs : Zhor, Mohamed Nadjib, Hind et Salah el dine:

qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité en témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

A toutes mes amies avec qui j'ai des souvenirs très agréables: A ma binôme ***Zahia****, ma copine intime* ***Amina****.*

A tous mes ***camarades de promotion****: en souvenir de toutes ces années passées ensemble, je vous souhaite brillante carrière professionnelle.*

Widad

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes chers parents

En hommage à tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi. Je vous remercie pour tous les précieux conseils que vous m'avez donnés. Grace à votre présence constante à mes côtés, j'ai pu forger ma personnalité, pousser mes ambitions encore plus loin, et encore merci d'avoir fait de moi ce que je suis Aujourd'hui.

Aucune dédicace, ne saurait exprimer réellement mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude. Que le Tout Puissant vous donne longue vie et vous protège pour moi.

Veuillez trouver dans ce travail le fruit de vos sacrifices, et j'espère être à la hauteur de vos espérances et votre fierté.

A mes frères, et à mes adorables sœurs : merci pour m'avoir conseillé et soutenu durant ce cursus.

A mes amies Sans exception pour les efforts afin de m'assurer une bonne formation.

A ma chère amie et binôme, Widad

Zahia

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Nombre de cas déclarés de la tuberculose de 2005 à 2010…….	22
Tableau 2	Interprétation de l'intradermoréaction à la tuberculine……..	29
Tableau 3	code de lecture des frottis colorés par la méthode de Ziehl-Neelsen recommandée par l'Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires……..	42
Tableau 4	Répartition et résultats microscopique des échantillons pulmonaires…….	46
Tableau 5	Répartition et résultats des cultures des échantillons extra- pulmonaires…….	46
Tableau 6	Répartition des échantillons recueillis selon leur nature……	49
Tableau 7	Résultats de l'examen microscopique après coloration de Ziehl-Neelsen des échantillons pulmonaires (crachat) obtenus par mois ……..	50
Tableau 8	Résultats des cultures des échantillons pulmonaires sur le milieu Lowenstein Jensen……..	52
Tableau 9	Résultats des cultures des échantillons extra- pulmonaires sur le milieu Lowenstein Jensen ……	53
Tableau 10	les résultats de la bacilloscopie et de la culture des produits pathologiques pulmonaires durant les trois mois……..	55

Liste des figures

Figure :	Titre	Page
Figure 1	Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique……	4
Figure 2	Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants……	7
Figure 3	Schéma représentatif des principales localisations de la tuberculose Extrapulmonaire……..	11
Figure 4	Adénopathie cervicale volumineuse…….	11
Figure 5	Organisation du granulome primaire……	12
Figure 6-a	Coupe histologique d'un granulome avec au centre un dépôt anhiste correspondant à la nécrose caséeuse…….	12
Figure 6-b	Aspect macroscopique du tissu pulmonaire avec plusieurs foyers de nécrose caséeuse (lésions blanchâtres disséminées)……	12
Figure 7	Radiographie de poumon……	17
Figure 8	Bactec……..	24
Figure 9	Technique d'interprétation d'une intradermoréaction à la tuberculine……..	28
Figure 10	Milieu de culture Lowenstein-Jensen…….	35
Figure 11	prélèvements de crachats …….	35
Figure 12	Liquide d'ascite et le Liquide pleurale……	37

Figure 13	Pus prélevé par ponction dans une seringue……	37
Figure 14	Etapes de préparation des frottis……..	39
Figure 15	Etapes de coloration des frottis avec Ziehl…….	40
Figure 16	Etape de décoloration des frottis……..	40
Figure 17	Contre coloration des frottis par bleu de méthylène……	41
Figure 18	Etapes de traitement et la mise en culture de crachat……..	43
Figure 19	Mise en culture d'échantillons de pus sur le milieu de Lowenstein-Jensen (L-J)…….	44
Figure 20	L'aspect rugueux « chou-fleur » des M. tuberculosis sur le milieu de culture L-J……..	45
Figure 21	Evolution des cas de tuberculose dans la région de Médéa (2013-2017)……	47
Figure 22	Répartition de la tuberculose pulmonaire en fonction du sexe et de l'âge pendant la période (2013-2017)……...	48
Figure 23	Répartition de la tuberculose extra pulmonaire selon le sexe et l'âge pendant la période (2013-2017)……..	48
Figure 24	nombre de cas TPM+/TPM-……	50
Figure 25	Observation microscopique de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) après la coloration de Ziehl Neelsen……..	51
Figure 26	Répartition des cas selon le mois (Février, Mars et Avril)…….	51
Figure 27	Représentation des résultats des cultures des échantillons pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois……..	53
Figure 28	Représentation des résultats des cultures des échantillons extra-pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois…….	54
Figure 29	Répartition des patients à BAAR microscopique positif selon le sexe	56

Figure 30	Répartition des patients à cultures positives des échantillons pulmonaire selon le sexe……	56
Figure31	Répartition des patients à cultures positives des échantillons extrapulmonaire selon le sexe……..	57

Table des matiéres

INTRODUCTION…… 1

PARTIE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Chapitre I : Caractères bactériologique de *Mycobacterium tuberculosis*…… 3

I.1.L'infection tuberculeuse …… 3

I.2.Le complexe tuberculeux…… 3

I.2.1.propriétés générales de Mycobacterium tuberculosis…… ……..4

A-Structure……4

B-Croissance……6

C-Virulence…… … 7

I.2.2. Mode de transmission……..8

Chapitre II : La tuberculose maladie……10

II.1. Physiopathologie……..10

A-Formation du granulome……10

B-Evolution de la nécrose caséeuse……13

II.2.Les formes cliniques de tuberculose……14

II.2.1-Primo-infection tuberculeuse……14

A- La primo-infection latente ou dormante……..... 14

B- La primo-infection patente…… 15

II.2.2.Tuberculose maladie (tuberculose active)……15

II.2.3.Tuberculose pulmonaire……16

II.2.4 .Tuberculose miliaire……17

II.2.5.La tuberculose extra pulmonaire……..... .18

A- Tuberculose ganglionnaire…… 18

B- Tuberculose osseuse……19

C- Atteinte tuberculeuse des séreuses……..19

D- Tuberculose neuroméningée……20

E- Tuberculose urogénitale…… ….20

F- Tuberculose digestive……..... 21

II.2.6. La prévalence de la tuberculose en Algérie…… 21

Chapitre III : Diagnostic et Traitement de la tuberculose……...23

III.1.Diagnostic bactériologique d'une tuberculose……23
III.1.1.Méthodes conventionnelles…….....23
A.Examen microscopique……. 23
B.La culture…….. 23

III.1.2.Systèmes automatisés de détection de la croissance mycobactérienne…….. 24
III.1.3.Diagnostic moléculaire…….. 25
A- Détection de M. tuberculosis directement dans les échantillons cliniques…..... 25
B- Identification des espèces mycobactérienne en culture…….. 25

III.1.4.La spectrométrie de masse type MALDI-TOF…… 27
III.1.5.Intradermo-réaction (ID)……27
III.2. Traitement de la tuberculose……29
III.2.1.Traitement prophylactique…… 29
III.2.2- Traitement curatif…… 30
III.3. Résistance du complexe tuberculeux aux antibiotiques antituberculeux…… 31
III.3.1. Résistance naturelle……31
III.3.2-Résistance acquise…… 32

PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

I- objectifs……33
II. Matériels et Méthodes……... 33
II.1.Matériels biologique…….. 33
II.1.1. Échantillon……33
II.2. Matériels de laboratoire……34
II.2.1.Instruments et appareillages……34
II.2.2.Réactifs et colorants ……..34
II.2.3. Milieu de culture ……..35
II.3. Méthodes…… 35
II.3.1.prélèvements……35
II.3.1.1.Les échantillons prélevés de sites non stériles…….. 35
-Les crachats…… 35

-Tubage gastrique……36
- Urine……36
- Prélèvements sous fibroscopie bronchique…… 36
II.3.1.2.Les échantillons prélevés de sites stériles…… 36
- Liquides d'épanchements……36
- Les abcès ……..37
II.3.2. Les examens bactériologiques …… 38
II.3.2.1.Examen microscopique direct de crachat……38
A- Préparation des frottis……38
B- Coloration du frottis : (Méthodes de coloration de Ziehl-Nielsen)…….39
II.3.2.2.Mise en culture……42
II.3.2.2.1. Mise en culture des échantillons contaminés…….. 42
A- Traitement d'échantillon de crachat ……42
B- Traitement d'échantillons de l'urine, tubage gastrique et LAB …… 43
II.3.2.2.2. Mise en culture des échantillons non contaminés ……44

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III. Résultats…… 46
III.1-Résultats de l'étude rétrospective ……. 46
III.1.1- Evolution de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire dans la région de Médéa……..47
III.1.2-Répartition de la tuberculose pulmonaire en fonction du sexe et de l'âge……47
III.1.3-Répartition de la tuberculose extra pulmonaire selon le sexe et l'âge……. 48
III.2- Résultats de l'étude prospective……...49
III.3- résultats bactériologiques……50
III.3.1- Recherche des BAAR par l'examen microscopique des frottis……..50
III.3.1.1.Répartition des cas de tuberculose selon le mois…….....51
III.3.2. Recherche des colonies de M. tuberculosis après mise en culture……..52
III.3.2.1.Représentation des résultats des cultures des échantillons pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois……..52
III.3.2.2- Représentation des résultats des cultures des échantillons extrapulmonaire sur milieu

Lowenstein-Jensen durant les trois mois……53

III.3.2.3.Répartition de la tuberculose selon la nature des échantillons…….54

III.3.2.4. Répartition des résultats en fonction de la bacilloscopie et la culture…….55

III.3.2.5.Répartition des patients à BAAR microscopique et culture positif des échantillons pulmonaires et extrapulmonaire selon le sexe…….55

Discussion…… 58

Conclusion……. 74

Recommandations……..…….75

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

ADN: Deoxyribonucleic acid

ARN: Ribonucleic acid

BAAR : des Bacilles Acido-Alcoolo-Résistant

BCG : Bacille Calmette-Guérin

CD : Cellules dendritiques

CRP : C. reactive protein

DPP : dérivé protéique purifié

ED: examen direct

EMB : l'éthambutol

IDR : intradermo-réaction ou test de Mantoux

IFNγ : Interféron γ

IL12 : Interleukine 12

INH : Isoniazide

Kb : Kilobases

LAB : liquide d'aspiration bronchique

LCR : liquide céphalo rachidienne

LT CD4+ : Les lymphocytes T CD4

LTCD8+: Les lymphocytes T CD8

OMS : organisation mondiale de la santé

PCR: polymerase chain reaction

Pb : paire de base

PZA: pyrazinamide

RIF: rifampicine

TB: la tuberculose

TB-MR : la tuberculose multirésistante

TEP: la tuberculose extra pulmonaire

TB-UR : La tuberculose ultrarésistante

TNF: Tumor necrosis factor

TP: la tuberculoses pulmonaire

TPM+ : tuberculose pulmonaire à microscope positive

TPM- : tuberculose pulmonaire à microscope négative

UV : ultra violet

VIH : le virus de l'immunodéficience humaine

Résumé :

L'objectif principal de notre étude est l'évaluation du profil épidémiologique de la tuberculose dans la région de Médéa, Secondairement, étudier la caractérisation des patients tuberculeux à travers une étude réalisée sur 261 cas.

Au cours de notre travaille au sein de laboratoire d'EPSP ZOUBAYRIA au service de contrôle de la tuberculose et des maladies respiratoires (Médéa), nous avons fait deux études : Une étude rétrospective, portant sur 5080 cas suspectés d'être atteints de tuberculose pulmonaire et extrapulmonaire colligés au cours de l'année allant (2013au 2017) pour la mise en évidence de la prévalence de la tuberculose dans la région Médéa, et une étude prospective bactériologique pendant trois mois, sur 261 patients suspectés d'être atteints de tuberculose pulmonaire et extrapulmonaire pour la recherche de M. *tuberculosis* (bacille de Koch) dans les produits pathologiques par des techniques conventionnelles du diagnostic bactériologique d'une tuberculose et évaluer le nombre de nouveau cas de tuberculose pulmonaire et extrapulmonaire dans la région de Médéa.

La recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants s'effectué par microscopie après coloration de Ziehl-Neelsen, et la mise en culture sur milieu Lowenstein-Jensen constituent les méthodes de référence qu'on a employée pour le diagnostic microbiologique.

L'étude rétrospective à montré :

- La tuberculose pulmonaire est plus fréquente soit une prévalence 89.29%, par contre une prévalence de 10.7% de la tuberculose extrapulmonaire.
- Une prédominance chez le sexe féminine.

L'étude que nous avons menée sur la période de 1 Février au 30 Avril 2018 nous a permis de mettre en évidence de 18 cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positif soit (8.03%), 14 cas de tuberculose pulmonaire à culture positif soit (11.02 %) et 8 cas de tuberculose extra pulmonaire (6.29%). Toutefois la prédominance est observée chez les Hommes que chez les Femmes.

Mots clés : Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, bacille de Koch, prévalence, Médéa.

Summary:

The main objective of our study is the evaluation of the epidemiological profile of tuberculosis in the Medea region. Secondarily, to study the characterization of tuberculosis patients through a study carried out on 261 cases.

During our work in the laboratory of EPSP ZOUBAYRIA at the tuberculosis and respiratory diseases control service (Medea), we did two studies:
A retrospective study of 5080 cases suspected of having pulmonary and extra pulmonary tuberculosis collected during the year (2013-2017) for the detection of the prevalence of tuberculosis in the Medea region, and a prospective study bacteriological test for three months on 261 patients suspected of having pulmonary and extra pulmonary tuberculosis for the detection of M. tuberculosis (Koch's bacillus) in pathological products by conventional techniques of bacteriological diagnosis of tuberculosis and to evaluate the number of new case of pulmonary and extra pulmonary tuberculosis in the region of Medea.

The search for acid-fast bacilli is carried out by microscopy after Ziehl-Neelsen staining, and the cultivation on Lowenstein-Jensen medium constitute the reference methods used for microbiological diagnosis.

The retrospective study showed:
- Pulmonary tuberculosis is more common, with a prevalence of 89.29%, compared with a prevalence of 10.7% of extra pulmonary tuberculosis.
- A predominance in the female sex.

The study that we conducted on the period from February 1 to April 30, 2018 allowed us to highlight 18 cases of microscopically positive pulmonary tuberculosis either (8.03%), 14 cases of culture-positive pulmonary tuberculosis or (11.02 %) and 8 cases of extra-pulmonary tuberculosis (6.29%). However, the predominance is observed among men than among women.

Key words: Tuberculosis, Mycobacterium tuberculosis, Koch bacillus, prevalence, Medea.

خلاصة الدراسة :

الهدف الرئيسي من دراستنا هو تقييم الوضع الوبائي لمرض السل في منطقة المدية، ودراسة خصائص مرضى السل من خلال دراسة أجريت على 261 مريضا.

خلال عملنا في مختبر EPSP ZOUBAYRIA في مصلحة مكافحة مرض السل والجهاز التنفسي(Medea) ، قمنا بدراستين:

- دراسة إسترجاعية لـ 5080 حالة مشتبه بهم أنهم يعانون من مرض السل الرئوي وخارج الرئة، تم جمعها خلال الفترة ما بين (2013-2017) للكشف عن مدى انتشار السل في منطقة المدية.
- دراسة استطلاعية بكتريولوجية لمدة ثلاثة أشهر على 261 مريضا يشتبه في أنهم يعانون من مرض السل الرئوي وخارج الرئة للبحث عن .M السل (bacille de Koch) في العينات المرضية بتقنيات تقليدية للتشخيص البكتريولوجي للسل ولتقدير عدد الحالات الجديدة من مرض السل الرئوي وغير الرئوي في منطقة المدية.

أظهرت الدراسة الإسترجاعية أن :

-السل الرئوي أكثر شيوعا بنسبة 89.29٪، مقابل 10.7٪ من السل خارج الرئة.

-الأغلبية مست الجنس الأنثوي.

وقد سمحت لنا الدراسة الاستطلاعية التي أجريناها خلال الفترة من 1 فبراير إلى 30 أبريل 2018 بالكشف على 18 حالة من مرض السل الرئوي (8.03٪) و 8 حالات من مرض السل خارج الرئة (6.29 ٪) حيث لوحظ أن أغلب الحالات رجال.

الكلمات المفتاحية: السل ، عصية كوخ ، انتشار ، المدية.

Introduction

La tuberculose a fait et continue à faire des dégâts considérables dans le monde entier, maladie contagieuse et réputée comme étant la maladie des pauvres par excellence. Elle est responsable chaque année du plus grand nombre de décès dans le monde (près de 1,5 millions par an), plus que le paludisme, le choléra, la diphtérie et tant d'autres maladies infectieuses réunies **(Poulet, 1994; Dolin *et al*., 1994).**

L'organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que le tiers de l'humanité (entre 1,7 à 2 milliards de personnes), est infecté par le bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*), frappant principalement la tranche d'âge 15-50 ans, c'est-à-dire la période la plus productive de la vie des individus, ce qui explique l'incidence de la maladie du point de vue économique. De loin, la forme pulmonaire est la plus fréquente et pose un problème de santé publique. En diminution constante dans les pays riches, elle a reconnu un regain d'intérêt dans les pays pauvres du fait de la survenue de la pandémie du VIH, des conditions socio-économiques précaires et la résistance aux antituberculeux. Les formes extra-pulmonaires autrefois considérées comme très rares, sont revenues à l'ordre du jour avec une fréquence qui augmente d'année en année **(Who Global Tuberculosis Report 2015).**

En Algérie l'incidence de la tuberculose en 2016 est estimée à 56 cas pour 100000 habitants et 23 889 cas de tuberculoses toutes formes confondues ont été notifiés dont 35.6% (7964 cas) de tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+). Actuellement l'Algérie se place en incidence "moyenne" sur le plan mondial quant à la propagation de cette infection **(Who Global Tuberculosis Report 2015).**

À la lumière de ces informations nous avons étudié cette pathologie infectieuse, voir son diagnostic microbiologique, et son profil épidémiologique.

La première partie de ce travail est consacrée à un rappel bibliographique succinct sur l'agent causal de la maladie et ses caractéristiques où nous mettons en exergue le diagnostic bactériologique conventionnel de l'identification du bacille de Koch, les nouveaux outils (moléculaires) impliqués dans ce qui est appelé : diagnostic microbiologique « moderne » de

la tuberculose maladie, son schéma prophylactique et thérapeutique, ainsi que la survenue de résistances aux antibiotiques. Quant à la seconde partie, elle exposera notre méthodologie de travail et les résultats obtenus qui ont été confrontés aux données de la littérature.

Les objectifs de notre travail consistent à : En premier lieu, Une étude rétrospective, portant sur 4710 patients suspectés d'être atteints de tuberculose pulmonaire (TP) et 370 patients suspectés d'être atteints de la tuberculose extrapulmonaire (TEP) colligés au cours de l'année (2013 au 2017) pour la mis en évidence de la prévalence de la tuberculose dans la région de Médéa qui permis de mieux comprendre la situation endémique de la tuberculose dans cette région étudiées.

En second lieu, réaliser une étude prospective sur une durée de trois mois (Février, Mars et Avril 2018) afin d'estimer la prévalence de la maladie sur le total des patients suspectés d'être atteints de tuberculose durant cette période, rechercher Mycobacterium tuberculosis *(M. tuberculosis*) dans les produits pathologiques réceptionnés au niveau de laboratoire de EPSP ZOUBAYRIA au service de contrôle de la tuberculose et des maladies respiratoires (Médéa), en faisant appel aux méthodes conventionnelles du diagnostic bactériologique d'une tuberculose maladie.

Chapitre I

Caractères bactériologique de *Mycobacterium tuberculosis*

I.1.L'infection tuberculeuse :

La tuberculose est une maladie infectieuse contagieuse à prédominance respiratoire, causée par le Mycobacterium tuberculosis, aussi appelé bacille de Koch, il s'attaque habituellement aux poumons, mais parfois aussi à d'autres parties du corps, comme les reins, les ganglions et les os **(Burrill J *et al*., 2007).** C'est une maladie chronique souvent associée à une certaine forme de déficit immunitaire latente, comme la malnutrition ou d'un virus de l'immunodéficience humaine (VIH) appelé également le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) ou sous la forme d'une tuberculose active. Elle peut être observée chez les adultes et les enfants, selon l'âge à l'infection **(Bezuidenhout J.et Schneider J.W., 2009)**. Il s'agit d'une maladie dont le principal réservoir et l'agent de transmission est l'homme.

La tuberculose reste dans le top 10 des priorités de santé dans de nombreux pays en développement, avec plus de 1,3 millions nouveaux cas par an ainsi que l'apparition et la propagation rapide des souches de M. tuberculosis multirésistantes et ultrarésistantes dans ces pays **(El khéchine A., 2011).**

I.2. Le complexe tuberculeux :

La famille des *Mycobacteriaceae* contient le genre type *Mycobacterium*. Au moment de l'écriture de la dernière édition du Bergey's Manual of Systematique Bacteriology (2012), il y avait 129 espèces et sous-espèces avec des noms valablement publié et classés dans le genre.

L'espèce type du genre est *Mycobacterium tuberculosis*, souche H37RV, ATCC 27299 et dont le génome est maintenant complètement séquencé. Le complexe tuberculeux comprend sept espèces du genre Mycobacterium, de la famille *Mycobacteriaceae*, et de l'ordre des *Actinomycetales*, qui sont les causes de la tuberculose humaine et de zoonose. **(Fitzgerald D.W., 2010).**

L'espèce *M. tuberculosis* provoque la grande majorité de la tuberculose humaine. *Mycobacterium bovis* cause la tuberculose chez les bovins et se propage aux humains par contact avec l'animal et la consommation de lait non pasteurisé. **(Fitzgerald D.W., 2010).**

Mycobacterium africanum et M. Canetti sont les responsables d'une forme rare de tuberculose en Afrique **(Fitzgerald D.W., 2010).**

Mycobacterium caprae, un autre agent pathogène bovin, *M. microti*, un agent pathogène pour les rongeurs, et M. *pinnipedii*, un pathogène pour les phoques, ont été signalés à causer la tuberculose zoonotique chez l'homme **(Fitzgerald D.W., 2010).**

I.2.1.Propriétés générales de Mycobacterium tuberculosis :

A. Structure :

Le Bergey's manual of systématique Bacteriology (2012) a consacré tout le volume cinq (V) au phylum Actinobacteria où figurent les propriétés essentielles de l'espèce Mycobacterium tuberculosis. Il s'agit de bâtonnets (0,3-0,6 × 1-4 μm) fortement acido alcoolo-résistants, droits ou légèrement incurvés, immobiles, ne formant pas de spores, qui se présentent seuls et occasionnellement filiformes.

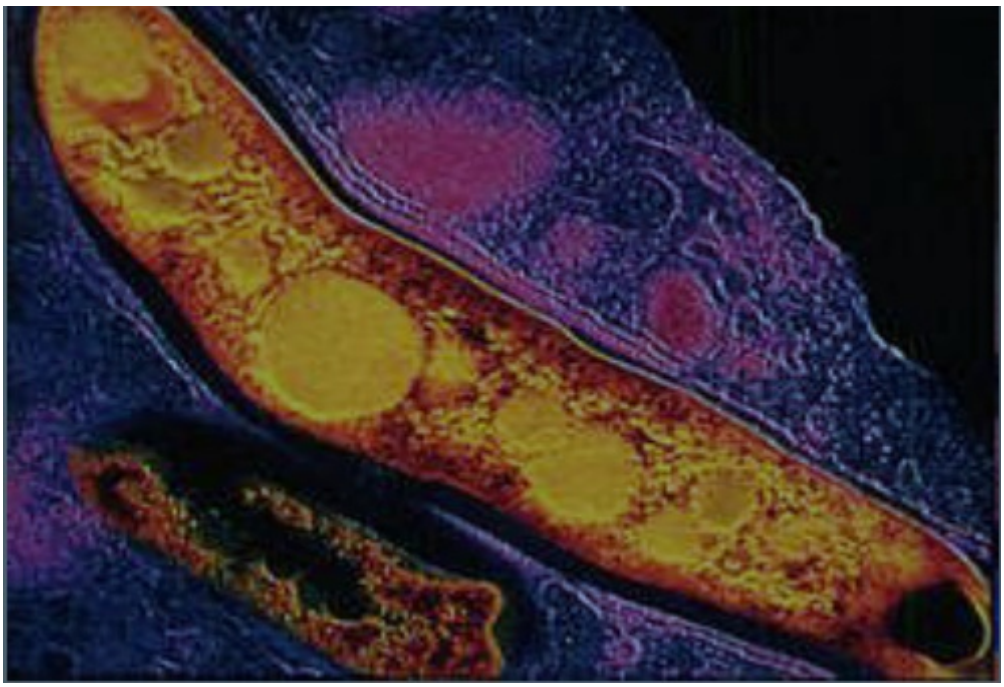


Figure 1: Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique **(KOUMBA, 2010).**

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.

Les colorations peuvent être uniformes ou irrégulières, montrant souvent des formes groupés ou perlés. Sur la plupart des milieux solides, les colonies sont rugueuses, soulevées, et épaisses, avec une surface nodulaire ou ridée et un bord mince irrégulier ; qui peut devenir un peu pigmentée (blanc cassé à une couleur chamois pale, ou même jaune).

La température optimale pour la croissance est de 37 °C, une certaine croissance se produit à 30-34 ° C. Le pH optimal est de 6,4 à 7,0. **(Cole S.T. and Brosch R., 1998).**

Le génome comprend 4 411 529 paires de bases (Pb), contient environ 4 000 gènes, et a un contenu très élevé en guanine + cytosine (GC % : 65,6). Cela représente la deuxième plus grande séquence bactérienne d'un génome actuellement disponibles (après celle de Escherichia coli) **(Cole S.T. and Brosch R., 1998).**

Le génome est riche en ADN répétitif, en particulier des séquences d'insertion et de gènes de ménage dupliquées. La teneur en G + C est relativement constante tout au long du génome qui indique que les îlots de pathogénicité transférés horizontalement sont probablement absents **(Cole S.T. and Brosch R., 1998).**

L'opéron ribosomique (rrn) unique de M. tuberculosis est situé exceptionnellement tel qu'il apparait à environ 1500 kilobases (kb) de la présumé oriC ; cette disposition peut être liée à la croissance lente de M. tuberculosis **(Cole S.T. and Brosch R., 1998).**

De la séquence du génome, il est clair que le bacille tuberculeux a le potentiel de synthétiser tous les acides aminés essentiels, des vitamines et d'enzymes cofacteurs, bien que certaines des voies impliquées peuvent différer de ceux trouvés dans d'autres bactéries. M. tuberculosis peut métaboliser une variété d'hydrates de carbone, des hydrocarbures, des alcools, des cétones et des acides carboxyliques. Il ressort de l'inspection du génome qui, en plus de nombreuses fonctions impliquées dans le métabolisme des lipides, les enzymes nécessaires à la glycolyse, la voie des pentoses phosphates et le cycle du glyoxylate sont tous présents **(Cole S.T. and Brosch R., 1998).**

La microscopie électronique révèle une paroi assez épaisse, et de grands mésosomes lamellaires sont fréquents. Des granules de glycogène et organes de polymétaphosphates sont également considérés. Ces corps d'inclusion contribuent à la coloration fréquemment perlée, irrégulière du bacille tuberculeux **(Wolinsky E et *al.* 1990).**

B. Croissance :

Contrairement à la plupart des autres bactéries pathogènes, qui sont aérobies facultatives ou anaérobies, le bacille tuberculeux est un aérobie strict. Il peut se développer dans des milieux synthétiques simples, avec du glycérol ou d'autres composés comme seule source de carbone et de sels d'ammonium comme source d'azote ; ainsi que des acides aminés mélanges sont généralement ajoutés pour promouvoir l'initiation de la croissance et de l'améliorer **(Wolinsky E et *al.* 1990).**

Dans des milieux liquides synthétiques ordinaires, les bacilles croissent en touffes adhérentes qui forment une pellicule de surface. (Cette propriété ressemblant aux moisissures est responsable du nom Mycobacterium qui signifie Myco : de mukès un champignon et ; bacterium : bactérie Mycobacterium : un champignon en petits bâtonnets **(Wolinsky E et *al.* 1990).**

Les mycobactéries montrent généralement une préférence marquée pour les lipides nutritionnels ; le jaune d'oeuf a été un constituant important des milieux riches utilisé pour le diagnostic des cultures. Ainsi, bien que le bacille tuberculeux soit très sensible à l'inhibition par des acides gras à chaîne longue, il est stimulé par eux à des concentrations très faibles. Une concentration satisfaisante est maintenue en ajoutant au milieu de l'albumine sérique, qui se lie aux acides gras ayant une affinité suffisante pour maintenir une faible concentration **(Wolinsky E et *al.* 1990).**

Les mycobactéries produisent des chélateurs de fer (mycobactines), dont la concurrence avec les chélateurs de l'hôte (transferines) peut jouer un rôle dans la pathogenèse et la résistance **(Wolinsky E et *al.* 1990).**

La croissance des bacilles tuberculeux dans les milieux de culture est typiquement lente, le plus court temps de dédoublement observé, dans les milieux riches, est d'environ 12 heures. Les mycobactéries saprophytes croissent plus rapidement, mais pas aussi rapidement que la plupart des autres bactéries (qui ont un temps de dédoublement aussi court que 20 minutes) **(Wolinsky E et *al.* 1990).**

En fonction de leur vitesse de croissance, les mycobactéries sont séparées en deux groupes (mycobactéries à croissance lente et les mycobactéries à croissance rapide). La présence d'une seule copie du gène codant l'ARN ribosomique 16S (croissance lente) ou deux copies (croissance rapide) est corrélée à la vitesse de croissance. La croissance et le métabolisme lents des mycobactéries concourent certainement à leur capacité de s'adapter aux conditions environnementales **(Denis F et *al.* 2011).**

C. Virulence :

La paroi mycobactérienne présente une architecture caractéristique et particulièrement complexe (figure 2). Son squelette est composé de trois éléments majeurs associés de manière covalente : le peptidoglycane, l'arabino-galactane et les acides mycoliques. Ces derniers sont de longues chaînes d'acides gras (de 60 à 90 atomes de carbone) insérées parallèlement les unes par rapport aux autres et formant un arrangement compact perpendiculaire au plan de la membrane plasmique. Ainsi, ils constituent une enveloppe lipidique très peu perméable aux composés hydrophiles et en particulier à bon nombre d'antibiotiques **(Berche P *et al*. 1988).**

Les acides mycoliques, sont en effet associés covalentiellement au peptidoglycane par l'intermédiaire de polysaccharides (arabino-galactane). La teneur de la paroi en lipides est encore accrue par la présence de molécules de dimycolate de tréhalose et de sulfatides, qui sont exposées à la surface de la bactérie. Le dimycolate de tréhalose est responsable de la croissance en amas ou en corde des mycobactéries virulentes cultivées en milieu liquide **(Berche P *et al*. 1988).**

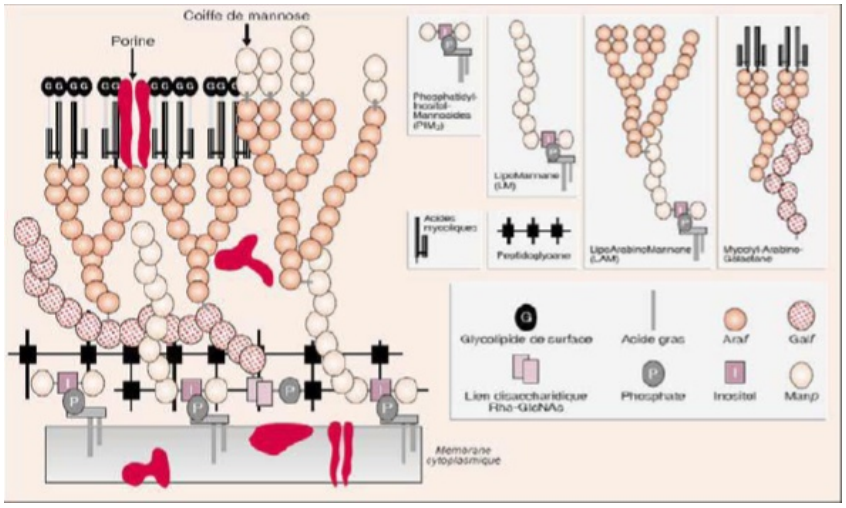


Figure 02-Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants **(SOUIDI., 2014).**

Ne libérant au cours de sa multiplication aucune substance toxique, la virulence de M. tuberculosis (considéré comme un parasite intracellulaire obligatoire) est liée à sa capacité de se multiplier dans les macrophages en résistant à l'activité bactéricide de ces cellules. Le mécanisme le plus important semble être l'inhibition de la fusion phagolysosomiale, pour laquelle les sulfatides ont été incriminés. Le bacille est ingéré par les cellules macrophagiques, mais les lysosomes ne peuvent déverser leur contenu microbicide dans la vacuole de phagocytose (inhibition de la fusion membranaire). Il faut ajouter que la richesse en lipides de la paroi permet une certaine résistance des bacilles aux enzymes lysosomiales elles-mêmes. Comme cela a été démontré pour M. bovis, M. tuberculosis pourrait également échapper au phagosome et se trouver ainsi libre dans le cytoplasme, hors d'atteinte des substances bactéricides produites par la cellule. Enfin, les bacilles ingérés seraient capables de résister à l'action toxique des dérivés oxygénés, grâce à la présence d'enzymes bactériennes telles la catalase et la superoxyde dismutase et peut être du fait de la richesse de la paroi en lipides insaturés, qui seraient des substrats pour les réactions de peroxydation **(Berche P *et al*. 1988).**

Les glycolipides et protéines qui sont localisés dans une couche externe fortement attachée à la paroi représentent le caractère hydrophobe des cellules **(Wolinsky E et *al.* 1990).** Cette propriété confère également une résistance naturelle :

- aux désinfectants (dérivés oxydants, dérivés chlorés, glutaraldéhyde),
- aux agents chimiques (bases, acides, détergents).

Les bacilles tuberculeux sont très sensibles à la lumière solaire, à la chaleur humide (éliminer à 65°C pendant 30 minutes, ou à 121 °C pendant au moins 15 minutes), aux rayons Ultra-violets (UV) et aux radiations ionisantes. Le sang, le sérum et autres protéines protègent les bacilles contre les rayons UV. Par contre, ils sont moyennement résistants au froid et à la dessiccation **(Denis F et *al.* 2011).**

I.2.2. Mode de transmission :

Le bacille de la tuberculose est un bacille non tellurique ayant pour réservoir essentiel les malades atteints de tuberculose pulmonaire. En effet de tels malades ont souvent des 'cavernes pulmonaires' riches en bacilles (100 millions de bacilles pour une caverne d'environ 2 cm de diamètre). **(Ait-Khaled N et Enarson D., 1999).**

Au moment où un malade atteint de tuberculose pulmonaire parle, et surtout lorsqu'il tousse ou éternue, il disperse autour de lui un aérosol fait de gouttelettes de bacilles : ce sont

les gouttelettes infectantes. Le nombre de gouttelettes infectantes projetées dans l'atmosphère par un malade est très élevé au cours d'un effort de toux (3500) ou d'un éternuement (1 million). **(Ait-Khaled N et Enarson D., 1999).**

Au contact de l'air ces gouttelettes se dessèchent en surface et deviennent des particules très légères contenant toujours les bacilles vivants qui restent quelque temps en suspension dans l'air. Dans un local fermé, les gouttelettes peuvent rester longtemps en suspension dans l'air et les bacilles restés vivants plusieurs heures dans l'obscurité : ce sont des « particules infectantes ». Lorsque des personnes vivent ou dorment à proximité d'un malade, elles sont exposées à inhaler des « particules infectantes » **(Ait-Khaled N et Enarson D., 1999).**

Le risque de contagion est d'autant plus important que le contact est étroit, car il est lié à la densité des bacilles dans l'air ambiant, de la virulence des micro-organismes, de la durée d'exposition et de la réceptivité individuelle de la personne en contact.

On admet qu'un séjour de plusieurs heures dans un espace insuffisamment aéré est nécessaire pour qu'une transmission puisse avoir lieu. Chez les personnes immunodéprimées, il est possible que l'infection puisse avoir lieu après un contact de courte durée avec un malade. **(Manuel de la tuberculose, 2007).**

Toutefois, les patients atteints de formes exclusivement extra-pulmonaires de tuberculose ne sont (pratiquement) jamais contagieux. Vu la rareté de la maladie, le risque d'exposition est faible dans la population générale. Par contre, ce risque augmente nettement pour les personnes en contact fréquent avec d'autres personnes atteintes de tuberculose non encore diagnostiquée ni traitée. Ce risque concerne avant tout les proches d'un malade atteint de tuberculose dont les expectorations contiennent des mycobactéries visibles à l'examen microscopique direct. **(Manuel de la tuberculose, 2007).**

Le risque est également élevé pour les professionnels de la santé, par exemple dans les services d'urgence des hôpitaux, pour le personnel pratiquant des endoscopies bronchiques, ainsi que pour le personnel de laboratoire et les collaborateurs des instituts de pathologie participant aux autopsies. Le personnel et les travailleurs sociaux des institutions de transit et d'accueil des immigrants sont aussi concernés, car ils peuvent entrer en contact avec des tuberculeux dont l'infection n'est pas encore connue **(Manuel de la tuberculose, 2007).**

Chapitre II
La tuberculose maladie

II.1. Physiopathologie :

A-Formation du granulome :

Une fois que le bacille tuberculeux inhale, a atteint les alvéoles, il est reconnu grâce a des constituants de sa paroi et est phagocyte par différentes cellules immunitaires : les macrophages alvéolaires, les cellules dendritiques qui sont des cellules présentatrices d'antigène et les polynucléaires neutrophiles. Ces cellules constituent la 1ere barrière de défense non spécifique (immunité innée). Le bacille tuberculeux a des facteurs de virulence qui lui permettent de survivre dans les cellules phagocytaires **(Herrmann et Coll., 2006).**

Une autre caractéristique du bacille de la tuberculose est de retarder la mise en place de l'immunité spécifique (immunité adaptative) qui, dans le cadre de la tuberculose, est essentiellement une réponse de type cellulaire. Les lymphocytes T CD4+ et 3 cytokines et/ou interleukines : Tumor Necrosis Factor α (TNFα), Interféron γ (IFNγ) et l'interleukine 12 (IL12) sont des acteurs majeurs pour contrôler l'infection tuberculeuse. Ainsi, les pathologies diminuant le taux de LT CD4+ (infection par le VIH), le taux de TNFα (traitement par anti-TNFα de pathologies auto-immunes) augmentent considérablement le risque de développer une tuberculose **(Herrmann et Coll., 2006).**

La migration des cellules dendritiques (CD) infectées par le bacille tuberculeux (cellule dendritique activée) vers le ganglion relais n'apparait qu'au bout d'une dizaine de jours après l'inoculation. Les cellules dendritiques activées participent à la maturation des lymphocytes T (LT) naïfs du ganglion en CD4+ et CD8+. La encore, l'induction de la réponse immunitaire a médiation cellulaire est retardée (délai de maturation 15 jours environ).
En gagnant les ganglions lymphatiques, les cellules dendritiques ayant phagocytes le bacille tuberculeux, participent a sa dissémination par voie lymphatique au même titre que les polynucléaires neutrophiles le font par voie sanguine. Cette dissémination est à l' origine des formes extra-pulmonaires **(Figure 3)** voire disséminée de la TB et est favorisée par l'immunodépression. La forme ganglionnaire **(Figure 4)** est la forme extrapulmonaire la plus fréquente (**Mazza J. -Staldera., 2012).**

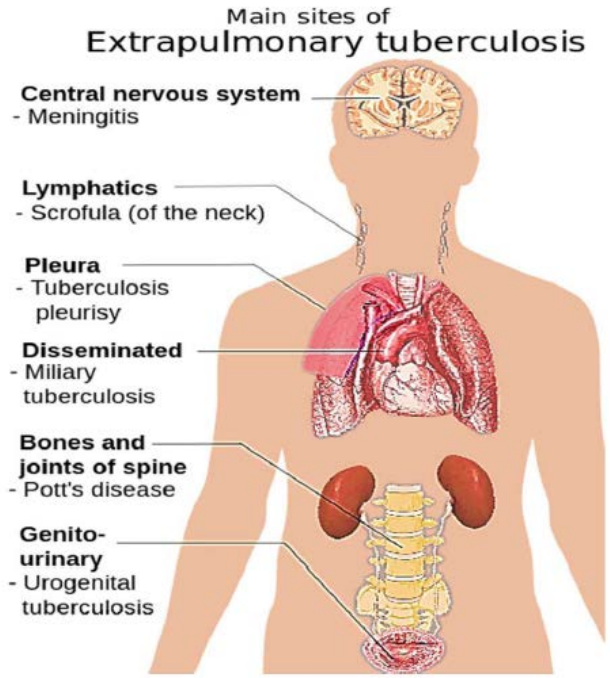


Figure 3- schéma représentatif des principales localisations de la tuberculose Extrapulmonaire **(Denis F et *al,* 2011).**



Figure 4 : Adénopathie cervicale volumineuse **(Mazza j-Staldera., 2012).**

L'induction retardée de la réponse immunitaire adaptative permet au bacille tuberculeux de continuer de se multiplier dans le poumon et dans le ganglion relais et d'atteindre une masse critique qui forme la lésion initiale pulmonaire (granulome primaire).

L'infiltration tardive (4 a 6 semaines après l'inoculation) du granulome primaire par les **CD4+ et CD8+** va aboutir a la formation d'un granulome plus large et plus organise pour contenir l'infection (**Figure 5**). L'induction de la réponse immunitaire cellulaire est contemporaine de l'apparition de la **nécrose caséeuse** qui est très évocatrice d'une infection par le bacille de la tuberculose sur les coupes histologiques (**Figure 6**)

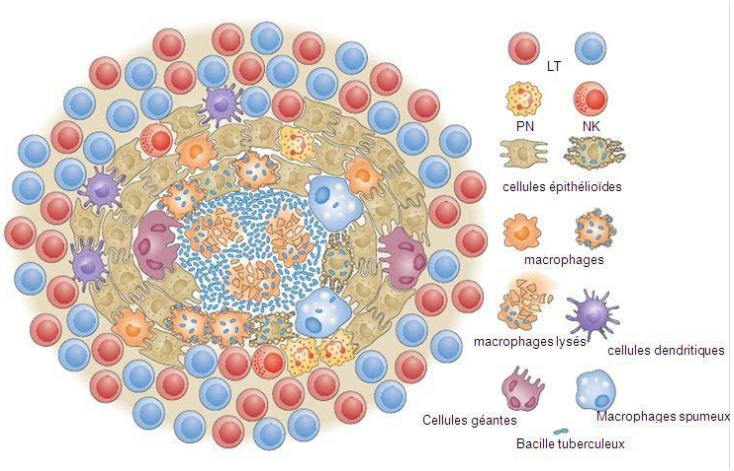


Figure-5- Organisation du granulome primaire **(Ramakrishnan, 2009)**

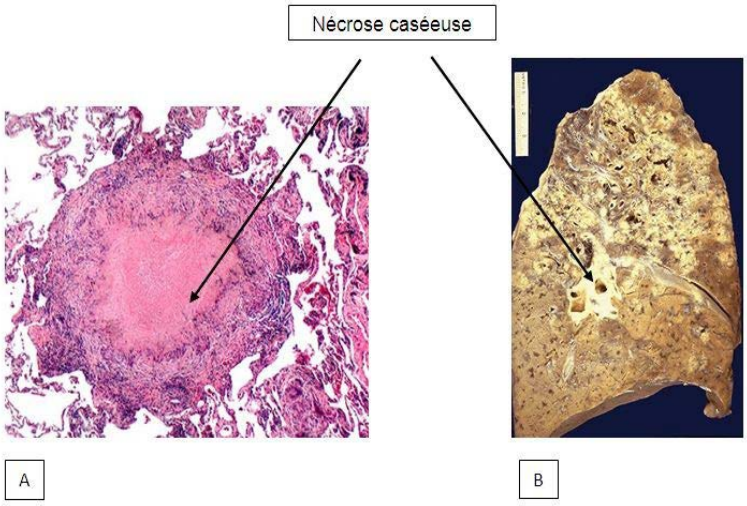


Figure 6 : A. Coupe histologique d'un granulome avec au centre un dépôt anhiste correspondant à la nécrose caséeuse.

B. Aspect macroscopique du tissu pulmonaire avec plusieurs foyers de nécrose caséeuse (lésions blanchâtres disséminées).

Le développement du granulome est asymptomatique (aucun signe clinique et radiologique). La seule manifestation est le virage des réactions cutanées à la tuberculine (extrait protéique de bacille tuberculeux) après intradermo réaction de Mantoux ou la positivité des tests IGRA (QuantiferonR et TspotTBR qui explorent la production d'IFNγ de l'individu en réponse a des antigènes spécifiques de *M. tuberculosis*). Ces tests immunologiques positifs traduisent la réaction d'hypersensibilité retardée mise en place au cours de l'infection tuberculeuse **(Azad, A.K *et al*., 2012).**

B-Evolution de la nécrose caséeuse :

Dans 90 % des cas, l'infection est maitrisée par la réaction immunitaire de l'individu. Les petits foyers de nécrose caséeuse s'entourent de sclérose progressivement, le nombre de bacilles décroit et le foyer se calcifie (calcifications parfois visibles a la radiographie). Les foyers de plus grande taille peuvent persister des années, voire même toute la vie. Les bacilles dans ces foyers persistent mais ne se multiplient pas activement. Ils ont un métabolisme ralenti (bacilles dormants). On parle d'infection tuberculeuse latente **(Brighenti, S., and Andersson, J.2012).**

Dans les 10 % de cas restant, l'infection n'est pas maitrisée et le bacille continue de se multiplier → phase de progression rapide vers la maladie tuberculeuse immédiatement après l'infection ou au contraire après une phase de latence qui peut durer plusieurs années. On estime que le risque cumule de développer une TB maladie est de 10% sur toute une vie. La moitie des cas de TB maladie surviennent dans les 2 ans qui suivent le contage. Les personnes immunodéprimées sont plus à risque de développer une TB maladie **(Brighenti, S., and Andersson, J.2012).**

La nécrose caséeuse s'accumule dans le granulome et se ramollit ce qui aboutit à la nécrose et au collapsus du granulome avec la formation d'une caverne pulmonaire. Cette caverne peut s'ouvrir dans une bronche. A partir des lésions cavitaires ouvertes, les bacilles vont être disperses a l'occasion de la toux dans l'air pour contaminer d'autres personnes. La caverne étant bien oxygénée, elle va être le siège d'une multiplication intense du bacille tuberculeux. En effet, le bacille tuberculeux est une bactérie aérobie stricte. Sa multiplication est fonction de la tension en oxygène du milieu environnant. Il va donc se multiplier bien plus rapidement dans une caverne pulmonaire bien oxygénée que dans les tissus profonds.

Ceci explique que les formes extra-pulmonaires de TB sont rarement riches en bacilles à la différence de la caverne pulmonaire qui contient environ 108 bacille tuberculeux **(O'Garra A *et al.* 2013).**

II.2. Les formes cliniques de tuberculose :

II.2.1.Primo-infection tuberculeuse :

C'est le premier contact d'un organisme neuf avec le bacille tuberculeux. Qui est caractérisée par une lésion histologique particulière : le follicule tuberculeux (amas de cellules épithéloïdes et de cellules géantes avec nécrose), entouré d'une couronne lymphocytaire et par des modifications biologiques et originales associant une allergie spécifique (hypersensibilité retardée aux protéines bacillaires et à la tuberculine **(GRÜNFELD, 1994).** La contamination s'est faite par voie aérienne : inhalation de la microgouttelette contenant des bacilles tuberculeux présents dans les sécrétions respiratoires des patients infectés entraînant des lésions pulmonaires ou chancre pulmonaire. La multiplication de la bactérie entraîne une réponse immunitaire et une nécrose caséeuse qui sont destinées à empêcher le développement des bactéries et à favoriser leur destruction. Dans 90% des cas, la primo-infection tuberculeuse évolue spontanément vers la guérison définitive **(MADIGAN et *al,* 2006).** Elle peut se présenter sous deux formes :

A- La primo-infection latente ou dormante:

La tuberculose latente concerne environ un tiers de la population mondiale qu'ils sont à risque de développer à tout moment une tuberculose active. Le terme « latent » signifie que la tuberculose n'est responsable d'aucun signe clinique ou symptôme. En revanche, les bacilles tuberculeux ne sont pas complètement latents, ou « dormant », comme cela a été évoqué il y a quelques années. La réplication bacillaire persiste à bas niveau ce qui à des conséquences pratique importante ; il n'y a aucun risque de transmission de la tuberculose à ce stade, compte tenu de faible niveau de réplication et de son contrôle par le système immunitaire, cette équilibre est à risque de se rompre rapidement en cas d'immunodépression **(Mack U *et al,* 2009)**.

Le diagnostic de la tuberculose latente, persistance de *M. tuberculosis complex* après la primo-infection, repose sur l'élimination du diagnostic de tuberculose active par un interrogatoire précis, un examen clinique rigoureux et une radiographie du thorax **(Jasmer RM *et al*, 2002).**

Classiquement, la radio de thorax montre un complexe gangliopulmonaire, c'est-à-dire un petit nodule parenchymateux associé à une adénopathie médiastinale homolatérale. Le nodule et l'adénopathie peuvent se calcifier après guérison. Des lésions pulmonaires calcifiées (de nature cicatricielle et souvent à l'apex chez l'adulte) peuvent contenir *M. tuberculosis complex* sous formes quiescentes. Elles sont susceptibles de provoquer ultérieurement une réactivation endogène de la maladie. Si le premier contact avec l'agent infectieux se fait sur un terrain débilité (immunodépression liée à l'infection par le VIH par exemple), ou chez un sujet âgé, l'évolution peut se faire d'emblée vers une pneumonie avec lésion excavée et dissémination par voie bronchogène. La dissémination par voie sanguine et lymphatique est aussi possible. Elle conduit à la miliaire tuberculeuse **(Billy C *et* Perronne C, 2004)**

Le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente repose aussi sur la mise en évidence d'un virage de l'intradermoréaction à la tuberculine (IDR) par l'observation d'une réaction d'hypersensibilité de type IV. L'infection latente peut aussi être mise en évidence par la réalisation d'un test de libération d'interféron-γ (en anglais *Interferon-Gamma Release Assays* ou IGRAs) **(ZUMLA A *et al* ., 2013).**

B- La primo-infection patente :

Si des facteurs de risque sont présents tels que : la dénutrition, l'éthylo-tabagisme, l'affaiblissement du système immunitaire par maladie ou médicaments lourds, le Bacille dormant peut se réveiller et prolifère entraînant souvent les symptômes typiques de la tuberculose mais pas toujours avec des signes radiologiques et bactériologiques. Dans 10% des cas, la primo-infection est patente **(Bodonirina, 2012).**

II.2.2.Tuberculose maladie (tuberculose active) :

C'est la réactivation plus ou moins tardive de l'infection après la primo-infection tuberculose qui peut être passée inaperçue. Mais elle peut être aussi une nouvelle contamination.

Une extension lentement progressive des tubercules avec érosion dans les conduits à air et les vaisseaux sanguins, ces individus sont infectieux et la mort à lieu en absence de traitement **(Prescott et *al,* 2010).**

II.2.3.Tuberculose pulmonaire :

Cette forme de tuberculose affecte principalement les sommets lobaires et les segments postérieurs du parenchyme pulmonaire. Cette localisation prédominante pourrait s'expliquer par la circulation lymphatique réduite aux apex et par le fonctionnement aérobie de la bactérie. Les lésions ont tendance à évoluer vers l'excavation, évocatrice de la maladie **(Billy et Perronne ,2004).**

Sur le plan clinique, il est classiquement retrouvé une toux chronique, des expectorations mucopurulentes, une anorexie, une perte de poids, une fièvre plutôt vespérale, des sueurs nocturnes et des crachats hémoptoïques, voire une hémoptysie **(Lawn et Zumla, 2011).** Il est aussi possible que les patients ne présentent aucun signe ou symptôme de la maladie **(Storia et al, 2008).**

La radiographie thoracique est évocatrice, avec des infiltrats uni- ou bilatéraux remontant du hile vers les sommets, souvent excavés. Il est parfois observé un nodule isolé, appelé tuberculome. La radiographie peut aussi prendre un aspect de pneumonie tuberculeuse avec des images systématisées. Des adénopathies médiastinales satellites sont fréquemment retrouvées. Un épanchement pleural est parfois présent. La tomodensitométrie n'est pas impérative au diagnostic. Elle est utilisée pour avoir une meilleure analyse des lésions, en particulier des cavernes et des adénopathies **(Billy et Perronne, 2004).**

Les présentations radiologiques peuvent être très variées. Elles sont souvent corrélées aux capacités de défenses immunitaires du sujet infecté et de la progression de la maladie. Les cavernes apicales sont plus fréquemment visibles chez les adolescents et les jeunes adultes. Cette caractéristique se retrouve moins chez les sujets plus âgés **(Billy et Perronne, 2004).**

Les examens biologiques usuels sont souvent peu contributifs. La protéine C-réactive (*C-réactive protein* en anglais, ou CRP) peut être normale ou élevée. L'IDR est souvent positive, voire phlycténulaire. Une IDR négative n'élimine pas le diagnostic. Ce dernier repose avant tout sur la recherche répétée de *M. tuberculosis complex* dans les produits d'expectoration (expectorations spontanées, expectorations induites, tubages gastriques, et fibroscopies bronchiques avec aspiration) **(Billy et Perronne, 2004).**

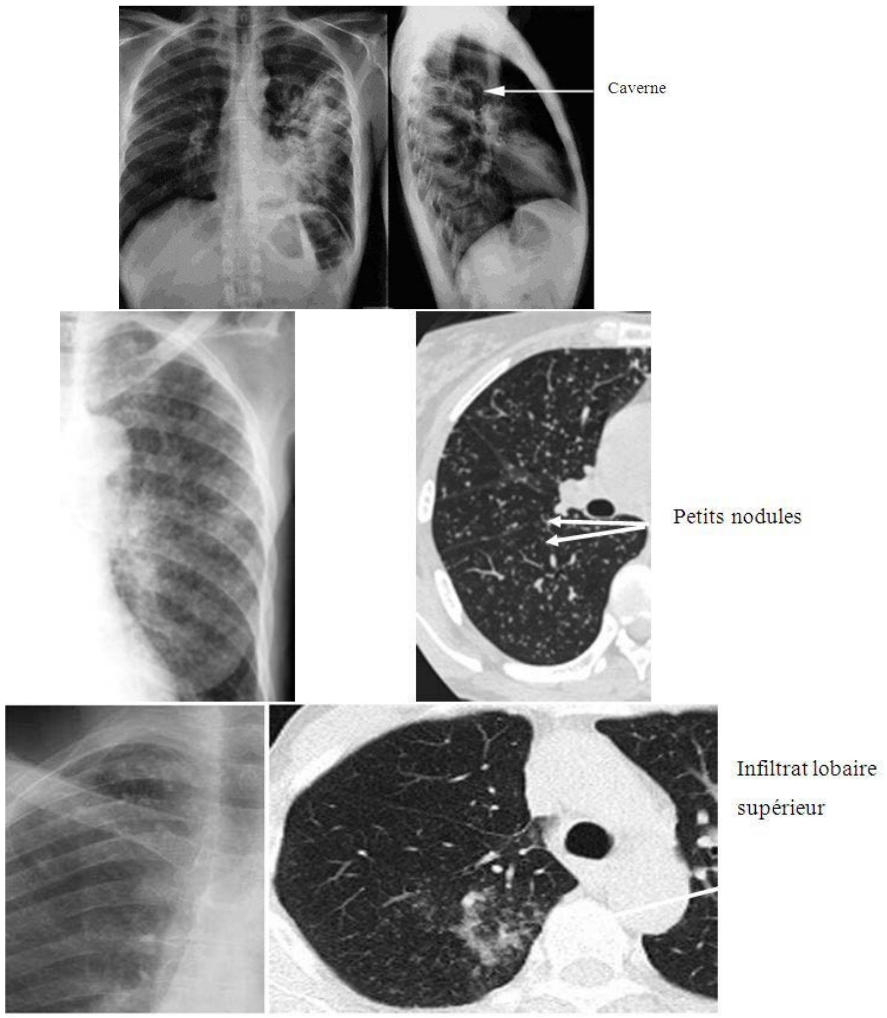


Figure-7- Radiographie de poumon atteint de tuberculose **(Burill et coll. 2007).**

II.2.4 .Tuberculose miliaire :

La forme miliaire de la maladie correspond à une infection généralisée. Elle dissémine par voie hématogène (poumons, foie, rate, moelle osseuse, méninges, etc.). La miliaire est constituée de multiples granulomes **(Billy et Perronne, 2004).**

L'examen direct des crachats en microscopie est négatif dans deux tiers des cas. Des ponctions ou biopsies des organes atteints doivent alors être réalisées. Ces biopsies visent à mettre en évidence des bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR). Tous les prélèvements doivent être impérativement mis en culture. L'IDR est souvent négative car l'immunité cellulaire n'est pas encore acquise **(Billy et Perronne, 2004).**

Classiquement, la forme miliaire suit de peu une primo-infection. Elle se développe au stade terminal d'évolution d'une tuberculose chronique non traitée. L'éthylisme chronique, la

cirrhose hépatique, un cancer évolutif, la grossesse (en particulier pendant la période du post-partum), un traitement immunosuppresseur sont des facteurs reconnus comme prédisposant **(Billy et Perronne, 2004).**

Souvent, il n'existe aucun antécédent de tuberculose. Il n'y a pas de manifestation clinico-biologique spécifique. Des opacités radiographiques micronodulaires en « grains de mil » sont évocatrices. Le traitement de la tuberculose miliaire doit être rapidement initié. Enfin, des formes fulminantes existent. Elles entraînent un syndrome de détresse respiratoire aiguë, parfois associé à une coagulation intra vasculaire disséminée **(Billyet Perronne ,2004).**

II.2.5.La tuberculose extra pulmonaire :

Elles représentent environ 25 % des cas déclarés. Elles peuvent être associées ou non aux formes pulmonaires. L'infection des différents organes, par voie hématogène, lymphatique ou aérienne, peut se traduire par une localisation prédominante alors que le foyer initial a déjà disparu. Le diagnostic repose sur l'isolement de *M. tuberculosis complex* sur les prélèvements, ou sur l'anatomie pathologique **(Billy et Perronne, 2004).**

A-Tuberculose ganglionnaire :

Cette forme est la plus fréquente des tuberculoses extra pulmonaires. La lésion est en général cervicale, unilatérale et unique. Les adénopathies multiples et/ou avec des localisations extra cervicales correspondent à des tuberculoses plus importantes. Elles sont plus souvent associées à une localisation pleuropulmonaire concomitante et à des signes généraux, tels que fièvre et perte de poids.

Ces formes plus généralisées sont décrites en particulier dans l'infection par le VIH au stade du syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA). La biopsie-exérèse du ganglion est la méthode la plus fiable pour isoler *M. tuberculosis complex* ou mettre en évidence une histologie évocatrice. La ponction simple est peu rentable **(Billy et Perronne, 2004).**

Des évolutions paradoxales peuvent survenir sous traitement adapté (augmentation de taille de l'adénopathie, fistulisation). Elles correspondent à une hyperréactivité aux antigènes tuberculeux. L'évolution habituelle sous traitement antibiotique adapté se fait vers la régression. Certaines situations peuvent nécessiter une corticothérapie, voire une chirurgie d'exérèse. Cette dernière est réservée aux cas avec retentissement sur des organes vitaux de

voisinage. Elle est à discuter au cas par cas, après optimisation du traitement médical **(Billy et Perronne, 2004).**

B- Tuberculose osseuse :

La plus fréquente des localisations ostéoarticulaires est la spondylodiscite tuberculeuse, ou mal de Pott. Elle se manifeste par une atteinte vertébrale et discale avec formation d'abcès froids paravertébraux. Ils peuvent entraîner des déformations rachidiennes, des tassements, ainsi que des compressions médullaires **(Billy et Perronne, 2004).**

Des ostéoarthrites peuvent aussi toucher les structures périphériques. Dans la majorité des cas, la présentation sera celle d'une monoarthrite chronique. Elle atteint la hanche ou le genou. Des abcès froids peuvent se développer au contact de l'articulation et se fistuliser.

Des formes avec coinfection par des germes banals existent. Elles permettent parfois de révéler l'infection tuberculeuse. L'infection tuberculeuse d'une articulation sur une pathologie préexistante (arthropathie microcristalline, arthrite inflammatoire, etc.) peut rendre le diagnostic difficile **(Billy et Perronne, 2004).** Le traitement, principalement médical, est toujours prolongé.

C- Atteinte tuberculeuse des séreuses :

L'atteinte pleurale ou péricardique se fait par suffusion de contigüité. Les péricardites et pleurésies tuberculeuses sont classiquement décrites dans les semaines ou mois suivant primo-infection. Ces atteintes séreuses peuvent accompagner une tuberculose pulmonaire active voire une miliaire. L'épanchement pleural est en général de faible abondance. Il se caractérise par un exsudat lymphocytaire, parfois hématique. **(Billy et Perronne, 2004).**

M. tuberculosis complex est isolé dans 30 % des analyses pleurales. Une biopsie pleurale peut mettre en évidence des granulomes. Elle permet alors l'isolement de l'agent infectieux. La péritonite tuberculeuse résulte soit de la contiguïté avec un organe infecté (ganglion, intestin, trompe), soit de la dissémination d'une forme miliaire. Le liquide d'ascite est un exsudat le plus souvent lymphocytaire **(Billy et Perronne , 2004).**

D- Tuberculose neuroméningée :

La méningite tuberculeuse se présente sous la forme d'une méningite isolée. L'installation est en général progressive sur quelques semaines ou associée à des signes neurologiques focaux, évocateurs de rhombencépalite.

Le début est souvent insidieux, avec anorexie, fièvre, amaigrissement, vomissements et céphalées. Des troubles du comportement (irritabilité, apathie) peuvent aussi s'observer. Ils sont parfois les seules manifestations cliniques identifiables. À un stade plus tardif apparaissent les troubles neurologiques, à type de convulsions, troubles de conscience, ou encore paralysies oculomotrices. **(Billy et Perronne, 2004).**

Une sécrétion inappropriée de l'hormone antidiurétique à l'origine d'une hyponatrémie est souvent observée. L'orientation diagnostique est principalement donnée par l'analyse du liquide céphalorachidien (LCR). Le LCR est souvent lymphocytaire, avec hypoglycorachie et hyperprotéinorachie franche. L'isolement de *M. tuberculosis complex* sur la ponction est rare. Il est nécessaire de prélever un volume de LCR plus important que lors des ponctions usuelles.

Une imagerie cérébrale par tomodensitométrie ou résonnance magnétique doit être systématique. Des tuberculomes intra parenchymateux peuvent majorer les troubles neurologiques ou psychiatriques. Ils peuvent se manifester par des crises comitiales **(Billy et Perronne, 2004).**

E- Tuberculose urogénitale :

Une tuberculose rénale peut survenir dans n'importe quel type de tuberculose. Il est souvent retrouvé une localisation pulmonaire associée. Elle peut être latente.
Une leucocyturie aseptique est évocatrice. L'urographie objective des lésions d'importance croissante selon l'ancienneté de l'infection. La recherche de *M. tuberculosis complex* dans les urines mises en culture trois matins consécutifs, permet en général le diagnostic. Une corticothérapie associée au traitement antibiotique peut s'avérer nécessaire en cas d'obstruction. En cas d'échec ou de complication, le traitement sera éventuellement complété par une chirurgie.

Chez l'homme, une atteinte génitale est fréquemment associée à l'atteinte rénale. La prostate, les vésicules séminales, les épididymes et les testicules peuvent être atteints. Chez la

femme, une salpingite est en général inaugurale de la tuberculose génitale. Elle peut s'étendre aux autres organes génitaux et occasionner une stérilité **(Billy et Perronne, 2004).**

F-Tuberculose digestive :

La contamination du tube digestif se fait par déglutition de sécrétions contaminées. L'ensemble du tube digestif peut être atteint, de la bouche à l'anus, avec des lésions pouvant aller de l'ulcération à la masse pseudo tumorale.

La maladie peut évoluer vers l'hémorragie, l'obstruction, la fistulisation, la perforation et causer des troubles sévères de malabsorption. L'efficacité du traitement antibiotique est excellente. Un temps d'action suffisant doit être laissé aux antituberculeux avant d'envisager le recours à la chirurgie.

Des tuberculoses pancréatiques existent. Elles prennent l'aspect d'abcès ou de masses hétérogènes associés à des adénopathies. Ces présentations cliniques évoquent un processus tumoral. Des obstructions des voies biliaires par des adénopathies contiguës peuvent aussi s'observer. Des cholangites tuberculeuses par voie ascendante ont été décrites. La tuberculose est aussi une cause fréquente d'hépatite granulomateuse **(Billy et Perronne , 2004).**

II.2.6. La prévalence de la tuberculose en Algérie :

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 **(Boulahbel et *al*, 2004).**

Parmi les nouveaux cas de tuberculose toutes formes confondues, on observe une légère prédominance des cas de tuberculose pulmonaire. Pour les années récentes (2010-2015), 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 extrapulmonaire se confirme, mais ces cas sont le plus souvent présumés que prouvés, ce qui suggère l'hypothèse d'une surestimation du problème **(Ministère De La Santé, 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 (Tableau 1) **(Ministère De La Santé d'Algérie, 2011)**

Tableau 1. Nombre de cas déclarés de la tuberculose de 2005 à 2010 **(Ministère De La Santé D'Algérie, 2011).**

		2005	2006	2007	2008	2009	2010
Nouveaux cas	TPM+	8 654	8 538	8 510	8 643	8 402	8 299
	TPC+ seulement	267	199	178	202	224	230
	TPM0	1 434	1 438	1 418	1 094	1 209	1 213
	TP M ?	215	190	185	232	258	327
	TEP	10 079	10 219	10 209	9 902	11 118	11 770
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 déclarés		21 206	21 261	21 117	20 715	21 823	22 518

TPM+ : Tuberculose pulmonaire à microscopie positive
TPC+ : Tuberculose pulmonaire à culture positive seulement
TPM0 : Tuberculose pulmonaire à microscopie négative
TPM ? : Tuberculose pulmonaire à microscopie non faite ou résultat inconnu
TEP : Tuberculose extra-pulmonaire

Selon le Pr Sofiane ALIHALASSA, Chargé du Programme National de Lutte Contre la Tuberculose, MSPRH Plus de 22.389 cas de tuberculose, dont la plupart extra pulmonaires, ont été déclarés en Algérie en 2016.

A Médéa, entre 2000 et 2016, le nombre de nouveau cas de tuberculose, enregistrés chaque année oscillait entre 500 et 1050. Il a atteint en 2015, le chiffre maximum notifié: 1032 cas. Cependant, le nombre de nouveau cas enregistrés en 2016 (941 cas) a diminué par rapport à 2015.

Chapitre III

Diagnostic et Traitement de la tuberculose

III.1. Diagnostic bactériologique d'une tuberculose :

III.1.1.Méthodes conventionnelles :

A. Examen microscopique :

La première étape du diagnostic bactériologique est la mise en évidence de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) dans le produit pathologique. Elle est primordiale. Simple et rapide, c'est parfois la seule méthode de diagnostic disponible dans les pays en voie de développement **(Denis F et *al,* 2011).**

La recherche microscopique du bacille tuberculeux se fait après coloration. Toutes les méthodes de colorations employées sont basées sur le caractère fondamental des mycobactéries, leur acido-alcoolo-résistance **(Denis F et *al,* 2011).**

Les frottis sont réalisés directement ou, surtout à partir du culot de centrifugation, où les germes sont concentrés. La plupart des espèces sont difficiles à colorer par la méthode de Gram, mais sont généralement considérés comme coloration de Gram positive. Les frottis sont colorés par la fuchsine phéniquée à chaud (méthode de Ziehl- Neelsen), les mycobactéries retiennent en effet le colorant malgré l'action conjointe des acides dilués et de l'alcool. Ils apparaissent alors sur les frottis comme de fins bâtonnets rosés, isolés ou en petits amas. La fuchsine phéniquée à chaud peut être remplacée par un fluorochrome tel l'auramine, ce qui facilite la recherche des BAAR dans les prélèvements pauci bacillaires car la lecture est plus aisée, ils apparaissent alors sous forme de bacilles jaunes fluorescents sur fond noir. Les résultats de l'examen microscopique doivent être exprimés de façon semi-quantitative pour apprécier les risques de contagiosité et pour suivre l'évolution sous traitement **(Denis F et *al,* 2011).**

B. La culture :

Trois types de milieux peuvent être utilisés pour la culture de mycobactéries : Milieu solide à base d'oeuf (par exemple, Lowenstein Jensen), milieu solide à base d'agar (Par exemple, Middlebrook 7H11) et le bouillon liquide (par exemple Middlebrook 7H12).

Les milieux sont faits pour être sélectifs pour les mycobactéries en ajoutant des antibiotiques. Les milieux non sélectifs, sur lesquels la croissance est plus rapide, sont disponibles. La croissance est plus rapide dans 5% à 10% de dioxyde de carbone. Les bouillons de culture liquide ont besoin de 1 à 3 semaines d'incubation pour la détection d'organismes, par comparaison avec des milieux solides, qui nécessitent de 3 à 8 semaines. Cependant, les milieux solides permettent l'examen de la morphologie des colonies, la détection des cultures mixtes, et la quantification de la croissance. En outre, les souches occasionnelles de mycobactéries ne peuvent croître sur des milieux solides. Pour ces raisons, les experts suggèrent d'utiliser des milieux liquides et solides en conjonction avec l'inoculation d'au moins un milieu de culture solide **(Fitzgerald D.W et al 2010).**

III.1.2. Systèmes automatisés de détection de la croissance mycobactérienne :

Une évolution en termes de rapidité de diagnostic a déjà été amorcée avec la mise sur le marché de systèmes automatisés de détection de la croissance mycobactérienne.

Nous prendrons l'exemple de la détection radiométrique en milieu liquide par le système Bactec® (Becton Dickinson). Cette méthode radiométrique utilise un milieu liquide contenant de l'acide palmitique marqué au carbone 14 et l'automate mesure le CO2 radioactif produit par le métabolisme mycobactérien. Ce système permet de réduire le temps d'obtention des premiers résultats à un délai de 7 à 10 jours comparativement aux 2 à 4 semaines nécessaires au développement d'une culture sur milieu solide. Cependant, elle est coûteuse et ne peut être utilisée en routine dans tous les laboratoires **(Godreuil S et al, 2003).**



Figure 8- Bactec.

III.1.3.Diagnostic moléculaire :

Les mycobactéries sont des bactéries difficiles à cultiver et constituaient donc d'excellents candidats pour le développement de techniques de diagnostic moléculaire. Ces méthodes ont connu un essor important au cours de la dernière décennie avec deux voies de développement principales : diagnostic direct sans culture et identification après culture **(Godreuil S et al 2003).**

A. Détection de M. tuberculosis directement dans les échantillons cliniques :

Trois principaux types de techniques fondées sur l'amplification génique peuvent actuellement être appliqués à la détection directe et rapide de M. tuberculosis directement dans les prélèvements cliniques. Les tests suivants sont actuellement commercialisés :

- l'Amplicor Mycobacterium tuberculosis Test (Amplicor, Roche Diagnostic Syst: ce test est basé sur le principe de la PCR.
- l'AMTDT ou Amplified Mycobacterium tuberculosis Direct Test (Gen-Probe®, bioMérieux). Ce test repose sur une méthode d'amplification isotherme (à 42°C) d'une séquence spécifique de l'ARNr.
- le LCx Probe System (Abbott) est fondé sur le principe de l'amplification de sonde par LCR (Ligase Chain Reaction).

Quelle que soit la méthode d'amplification utilisée, les produits d'amplification éventuellement générés seront, dans un second temps, détectés par des méthodes diverses (colorimétriques ou chimiluminescentes). Ces diverses techniques augmentent considérablement la rapidité du diagnostic puisque les résultats peuvent être obtenus en 4 à 6 heures environ. Elles ne peuvent toutefois en aucun cas remplacer l'examen direct, et la culture. De plus, elles ne peuvent distinguer les mycobactéries mortes des organismes vivants ni servir à suivre l'évolution d'une infection mycobactérienne sous traitement. Leurs principaux inconvénients sont un manque de sensibilité pour les prélèvements à examen direct négatif, et la possibilité d'obtention de résultats faussement positifs par contamination des prélèvements **(Godreuil S et al 2003).**

B. Identification des espèces mycobactérienne en culture :

Plusieurs techniques sont actuellement disponibles parmi lesquelles :

1- des méthodes sans amplification utilisant des sondes nucléiques :

Les trousses actuellement commercialisées permettent l'identification des principales espèces de mycobactéries impliquées en pathologie humaine (AccuProbe®, Gen-Probe®, bioMérieux). Ces tests utilisent des sondes d'ADN et leur principe est fondé sur l'hybridation de deux séquences complémentaires d'acides nucléiques. La séquence cible détectée dans l'échantillon à tester est une portion de l'acide ribonucléique ribosomal 16S (ARNr 16S) bactérien.

Cette technique associée aux cultures en milieu liquide permet donc une réponse rapide au clinicien de type "présence ou absence de bacilles du complexe tuberculeux" (7 à 10 jours en moyenne). Les sondes commercialisées à ce jour ne permettent pas la distinction entre les différentes espèces au sein du complexe tuberculeux et ne sont disponibles que pour un nombre restreint de mycobactéries atypiques.

2- des méthodes d'identification après amplification d'une portion définie du génome :

Ces méthodes font appel à une première étape d'amplification génique par PCR dont les cibles préférentielles sont les gènes codant soit pour l'ARNr 16S, soit pour la protéine de choc thermique de 65 kDa (Heat Shock Protein 65 ou Hsp 65) ou encore pour la région séparant les gènes codant pour l'ARNr 16S et l'ARNr 23S (appelée ITS pour Internal Transcribed Spacer). Des amorces spécifiques du genre Mycobacterium sont actuellement disponibles. Une fois l'amplification obtenue, plusieurs possibilités peuvent alors être envisagées pour permettre l'identification de l'espèce :

- Détermination de la séquence d'acides nucléiques du fragment amplifié par séquençage automatique et comparaison de la séquence obtenue à celles déposées dans des banques de données informatisées.
- Analyse des produits d'amplification par restriction enzymatique et comparaison à des profils obtenus pour des souches d'espèces connues, cette technique est appelée analyse du polymorphisme des fragments de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphisme ou RFLP).
- Hybridation des produits d'amplification sur une bandelette de nitrocellulose à la surface de laquelle ont été préalablement adsorbées des sondes spécifiques des différentes espèces mycobactérienne principalement rencontrées en pathologie humaine **(Godreuil S et al 2003).**

III.1.4.La spectrométrie de masse type MALDI-TOF :

Plusieurs études ont fourni la validation du concept de la spectrométrie de masse type MALDI-TOF pour identifier les mycobactéries dans la pratique clinique de routine.

En effet, cette technique a émergé au cours des dernières années en tant que technique révolutionnaire pour l'identification systématique des isolats bactériens. La spectrométrie de masse type MALDI-TOF a été établi pour donner des résultats précis en quelques heures à un prix inférieur à toute autre méthode couramment utilisée dans les laboratoires de microbiologie clinique.

Afin de simplifier l'identification précise des isolats de mycobactéries en laboratoire de routine. Le docteur A. El Khéchine et ses collaborateurs, en premier lieu, ont optimisé un protocole d'inactivation des cellules mycobactérienne afin de pouvoir les manipulées en toute sécurité hors du laboratoire P3. En second lieu, ils ont mis au point un protocole détaillé de l'utilisation de la spectrométrie de masse type MALDI-TOF, en association avec un logiciel bioinformatique spécifique, comme outil d'identification et de différenciation entre les membres du complexe tuberculeux par le séquençage des répétitions directes en tandem, du complexe *Mycobacterium avium* et les autres mycobactéries non-tuberculeuses par séquençage du gène *rpob*. Ensuite cette technique a été appliqué avec sucés sur les cultures des mycobactéries à partir du milieu liquide Middlebrook 7H10 système automatisé.

Le protocole décrit par A. El Khéchine et ses collaborateurs, a permis de réduire l'inoculum nécessaire de détection des mycobactéries jusqu'à 105 UFC/ml, ce qui est le plus faible inoculum rapporté pour l'identification efficace des mycobactéries par la spectrométrie de masse type MALDI-TOF **(El khéchine A et al 2011).**

III.1.5.Intradermo-réaction (ID) :

Le test de Mantoux, ou intradermoréaction à la tuberculine, est un examen cutané. Il explore la réaction d'hypersensibilité retardée induite par les antigènes mycobactériens (*M. tuberculosis complex*, BCG et certaines mycobactéries atypiques).La tuberculine utilisée est une tuberculine DPP (dérivé protéique purifié) obtenue à partir d'une souche humaine de *M. tuberculosis*. Elle se présente sous la forme d'une solution liquide prête à l'emploi de 10 doses-tests de 0,1 ml (5 unités) dans une ampoule de 1 ml, commercialisée par le laboratoire Sanofi Pasteur MSD™ sous le nom de Tubertest®.

La réalisation technique de l'IDR consiste en l'injection d'un volume exact de 0,1 ml de la solution liquide de tuberculine dans le derme de la face antérieure de l'avant-bras. La validité du test d'interprétation nécessite une technique parfaite. L'injection doit être strictement intradermique et exsangue. Elle fait apparaître immédiatement une papule par soulèvement du derme prenant un aspect de peau d'orange, témoin d'une bonne réalisation de la technique. Une infiltration localisée de la peau provoquée par l'œdème et l'accumulation de lymphocytes sensibilisés apparaît dans les 24 à 72 heures suivant l'injection

La lecture de l'IDR se fait idéalement à la 72^{éme} heure, bien qu'elle puisse être différée jusqu'au 5^{éme} jour chez les sujets âgés pour lesquels la réaction peut se développer plus lentement. L'induration se développe autour du point de ponction. Ses limites sont déterminées par la palpation (**Photo 9**). Le **Tableau 2** présente les différents résultats possibles de l'IDR avec leur signification pour le clinicien **(Zumla.A et *al*, 2013).**

L'aspect phlycténulaire correspond à une réaction locale exacerbée. Les dimensions de la réaction érythémateuse entourant l'induration et le caractère phlycténulaire de l'IDR n'ont aucune signification particulière. Il est toutefois habituellement rapporté à un antécédent de contact direct avec *M. tuberculosis complex* **(Zumla.A et *al*, 2013).**

Un antécédent de réaction allergique à l'un des composants du produit ou lors d'une administration précédente est une contre-indication à l'IDR. En cas d'antécédent de tuberculose active clairement identifiée ou de réaction sévère à la tuberculine, le produit ne doit pas être administré. En cours de grossesse ou lors du post-partum, le test à la tuberculine n'est pas contre-indiqué. La grossesse n'interfère pas sur la réactivité à la tuberculine.



Figure-9 – Technique d'interprétation d'une intradermoréaction à la tuberculine **(VARAINE. Fet *al*, 2010)**

Tableau 2 – Interprétation de l'intradermoréaction à la tuberculine **(VARAINE.F et *al*, 2010)**

Diamètre de l'induration	Interprétation de l'IDR
5 mm	**Considérée positive chez :** - les patients infectés par le VIH - les cas contact avec une tuberculose active - les personnes guéries d'une ancienne tuberculose - les patients transplantés - les patients insuffisants rénaux ou hépatiques chroniques - les patients immunodéprimés
10 mm	**Considérée positive chez :** - les étrangers nés dans des régions de forte endémie - les usagers de drogues par voie intraveineuse - les personnels de santé et de laboratoire - les personnels et les résidents de lieux à forte promiscuité - les enfants de moins de 5 ans ou de tuberculose active dans la famille
15 mm	**Considérée positive dans :** - tous les cas
Notes : Des protocoles d'IDR ciblées doivent être réservés parmi les groupes à haut risque. L'IDR peut être négative en cas d'infection latente. Une tuberculose active doit être éliminée avant de traiter une infection latente.	

III.2. Traitement de la tuberculose :

III.2.1.Traitement prophylactique :

L'injection du vaccin de bacilles de Calmette et Guérin (fabriqué à partir de bacille bovin vivant atténué par repiquages successifs en culture) permet à l'organisme d'acquérir une immunité contre le bacille de Koch équivalente à celle qui est obtenue après une primo-infection.

La protection apportée par le BCG est de 50%. Les études effectuées dans de nombreuses régions du globe montrent que la vaccination par le B.C.G. des nouveau-nés des enfants d'âge préscolaire permet, lorsqu'elle est bien pratiquée, de les protéger efficacement contre toutes les formes de la tuberculose infantile et spécialement contre les formes graves et parfois mortelles de la maladie (méningite ou miliaire tuberculeuses).

Toutefois, il ne protège pas de façon fiable contre la tuberculose pulmonaire, qui représente la plus grande part de la charge de la maladie dans le monde. Par ailleurs, les conditions d'utilisations du BCG, exclusivement chez les enfants, ne permettent pas d'explorer son efficacité à l'adulte **(Dautzenberg B et al 2003).**

III.2.2. Traitement curatif :

Le traitement de la tuberculose est basé sur l'application d'une chimiothérapie basée sur l'association de plusieurs antibiotiques antituberculeux. La durée de cette chimiothérapie est actuellement de 6 mois et constitue « la chimiothérapie de courte durée» **(Manuel de la lutte antituberculeuse 2011).**

Le régime 2SRHZ / 4RH, est un traitement standard qui fait appel aux antibiotiques dits de « première ligne ». Il comporte une phase initiale intensive de deux mois avec administration quotidienne de streptomycine (S), rifampicine (R), isoniazide (H) et pyrazinamide (Z), qui est suivie d'une phase de continuation de quatre mois avec administration quotidienne de rifampicine et d'isoniazide **(Manuel de la lutte antituberculeuse 2011).**

- L'isoniazide et la rifampicine sont les plus puissants et représentent des médicaments majeurs, hautement bactéricides.
- La streptomycine est très active sur les bacilles extracellulaires qui se multiplient très rapidement.
- Le pyrazinamide est essentiellement actif sur les bacilles intracellulaires qui se multiplient lentement **(Manuel de la lutte antituberculeuse 2011).**

Les antibiotiques de seconde ligne utilisés en Algérie sont au nombre de quatre (ethionamide, kanamycine, ofloxacine, cyclosérine). Ils sont destinés au seul traitement des cas chroniques, (cas de tuberculose à bacilles multi-résistants, à l'isoniazide et la rifampicine au moins). Ces médicaments sont moins actifs et généralement plus toxiques que les médicaments de première ligne **(Manuel de la lutte antituberculeuse 2011).**

III.3. Résistance du complexe tuberculeux aux antibiotiques antituberculeux :

La propagation de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques est une des menaces les plus sérieuses pour le traitement efficace d'une maladie et constitue un problème majeur de santé publique **(Canu A et al 2013).**

Selon l'OMS, la tuberculose multirésistante (TB-MR) est une forme de tuberculose causée par un bacille qui résiste à au moins l'isoniazide et la rifampicine, les 2 médicaments antituberculeux de première ligne (ou standard) les plus efficaces. La tuberculose multirésistante résulte avant tout d'un traitement inadapté. L'utilisation inappropriée ou incorrecte des antituberculeux, ou l'utilisation de médicaments de médiocre qualité, peuvent entraîner une résistance aux médicaments. Dans certains cas, une résistance encore plus grave aux médicaments peut se développer. La tuberculose ultrarésistante, TB-UR, est une forme de tuberculose multirésistante qui répond à un nombre encore plus restreint de médicaments disponibles, y compris les médicaments antituberculeux de seconde ligne les plus efficaces (**Organisation Mondiale de la Santé : OMS).**

III.3.1. Résistance naturelle :

Certaines espèces présentent une résistance naturelle ou intrinsèque à un ou plusieurs antibiotiques. Les informations qui codent ce comportement habituel d'une souche font partie du patrimoine génétique de l'espèce **(Canu A et al 2013).**

Les mycobactéries du complexe tuberculeux sont naturellement résistantes aux principales familles d'antibiotiques comme les β-lactamines, les macrolides, les cyclines, les sulfamides et les glycopeptides. Les mycobactéries non-tuberculeuses présentent également une résistance naturelle à ces antibiotiques usuels. La faible perméabilité de la paroi mycobactérienne est, en général, mise en cause pour expliquer le haut niveau de résistance naturelle des mycobactéries. La structure de la paroi n'est pas la seule responsable de la haute résistance naturelle de M. tuberculosis. La production d'enzymes modifiant les antibiotiques a également été décrite chez M. tuberculosis comme, par exemple, la β-lactamase responsable de la résistance naturelle aux β-lactamine l'aminoglycoside 2'-N-acetyltransferase impliquée dans la résistance aux aminoglycosides **(Mathys V. 2010).**

III.3.2.Résistance acquise :

Contrairement aux autres bactéries pathogènes qui acquièrent en général leur résistance aux antibiotiques par transfert horizontal de plasmides ou transposons portant des gènes de résistance, l'acquisition de résistance chez M. tuberculosis provient, presque toujours, d'altérations spontanées de gènes chromosomiques spécifiques sous la forme de mutations ponctuelles non-synonymes, de délétions ou insertions. En effet, aucun plasmide ou transposon de résistance n'a été décrit chez les mycobactéries. Par conséquent, la résistance n'est pas transférable entre les mycobactéries présentes chez un même patient, mais elle se transmet à toute la descendance de la bactérie mutée **(Mathys V. 2010).**

Les mutations impliquées dans la résistance de M. tuberculosis aux antibiotiques ont été mises en évidence :

• dans les gènes codant les protéines ciblent de l'antibiotique, diminuant l'affinité de la cible pour cet antibiotique (Rifampicine, Éthambutol, Fluoroquinolones,…).

• dans un gène codant une enzyme impliquée dans l'activation de l'antibiotique, empêchant son passage de la forme pro-drogue à la forme active (Isoniazide, Pyrazinamide,…).

• dans une région génomique régulatrice provoquant la surexpression de la cible de l'antibiotique **(Mathys V., 2010).**

Les altérations génétiques responsables des différents types de résistances aux antibiotiques chez M. tuberculosis ont été en partie définies pour plusieurs antibiotiques, de première et seconde ligne, utilisés communément **(Mathys V., 2010).**

L'augmentation de la fréquence d'apparition des souches résistantes est liée aux conditions d'utilisation des antibiotiques. Ils ne créent pas la résistance mais ils exercent une pression de sélection en éliminant les cellules sensibles et en sélectionnant les bactéries résistantes. L'utilisation extensive et abusive des antibiotiques, l'interruption trop rapide d'un traitement sont des facteurs qui favorisent l'émergence de souches résistantes **(Canu A et al., 2013).**

I- Objectifs :

Notre étude à été réalisée au niveau du service de contrôle de la tuberculose et des maladies respiratoires du laboratoire de l'établissement publique de santé de proximité (EPSP) de la commune de ZOUBAYRIA de la wilaya de Médéa sur une période de trois mois (du 1 Février au 30 Avril 2018).

Notre travail s'articule sur deux volets : Une première étude rétrospective, portant sur 5080 patients suspectés d'être atteints de tuberculose colligés au cours de l'année (2013 au 2017) afin de déterminer la prévalence de la tuberculose dans la région de Médéa, ce qui permettra de mieux comprendre la situation épidémiologique de la tuberculose dans cette région. La deuxième étude prospective s'étalant sur trois mois, consistant à la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* dans des prélèvements de 261 patients suspectés d'être atteints de tuberculose afin de déterminer les cas incidents de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire dans la région de Médéa.

II. Matériels et Méthodes

II.1. Matériels biologique :

II.1.1. Échantillon:

Ont été inclus dans cette étude tous les prélèvements adressés au service de contrôle de la tuberculose et des maladies respiratoires de l'EPSP de la commune de ZOUBAYRIA recueillis de patients suspects d'être atteints de la tuberculose.

Ces prélèvements recueillis dans les services attachés au médecin ayant posé le diagnostic, ont été acheminés directement au laboratoire ou conservés dans un réfrigérateur à (+ 4 ° C) durant une période ne dépassant pas les 3 à 4 jours.

Les prélèvements ont été accompagnés d'une fiche identifiant les échantillons à analyser (nom du patient, âge, date, service) ainsi que le formulaire de demande d'examen pour chacun des échantillons indiquant clairement s'il s'agit d'un examen pour la recherche du bacille de Koch ou le suivi bactériologique du traitement.

Du fait que notre étude comporte deux parties, les échantillons analysés dans l'étude rétrospective a été de 5080 ; quand à la deuxième partie prospective la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* a portée sur 261 prélèvements.

II.2. Matériels de laboratoire :

Les instruments, appareillages, réactifs et colorants et les milieux de cultures utilisés da la présente sont cités ci dessous :

II.2.1.Instruments et appareillages :

Les appareils et les instruments utilisés sont les suivants :

- ✓ Gants stériles
- ✓ Bavette
- ✓ Boites stériles
- ✓ Centrifugeuse
- ✓ Hotte de protection
- ✓ Anse de platine
- ✓ Bec benzène
- ✓ Microscope optique
- ✓ Agitateur
- ✓ Pipeteur manuel
- ✓ Tube conique 50 ml

II.2.2.Réactifs et colorants :

Les différents colorants et réactifs utilisés sont :

- ✓ L'eau distillée
- ✓ Fuchsine
- ✓ D'acide sulfurique
- ✓ Alcool
- ✓ Bleu de méthylène

II.2.3. Milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé pour *Mycobacterium tuberculosis* est Lowenstein-Jensen (Cf Figure10). La composition du milieu de culture est citée en annexes (annexe 1).

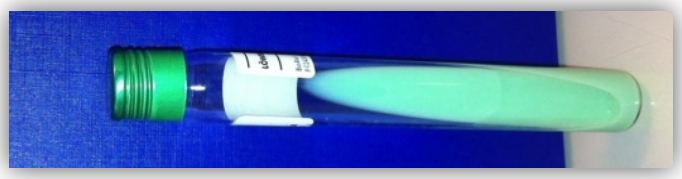


Figure 10 : Milieu de culture Lowenstein-Jensen.

II.3. Méthodes :

II.3.1.prélèvements :

Les prélèvements analysés ont été recueillis dans les services attachés au médecin ayant posé un diagnostic de suspicion de la tuberculose et ayant parvenu au service de contrôle de la tuberculose et des maladies respiratoires du laboratoire de l'établissement publique de santé de proximité (EPSP) de la commune de ZOUBAYRIA de la wilaya de Médéa. Les prélèvements ont été recueillis de la manière suivante :

II.3.1.1.Les échantillons prélevés de sites non stériles :

- **Les crachats :**

Les crachats ont été prélevés pendant trois jours successifs. Chaque matin, le patient se présente à jeun. Trois échantillons d'expectorations (crachats) en quantité suffisante (3-5ml) ont été collectés dans des boites stériles (Cf Figure11).



Figure11 : Prélèvements de crachats

❖ **Tubage gastrique :**

Réalisé en particulier chez les personnes qui généralement crachent peu ou ne savent pas cracher au réveil ou chez des sujets alités depuis la veille. Il permet de recueillir les sécrétions bronchiques dégluties pendant le sommeil. Il consiste à recueillir à l'aide d'une sonde naso-gastrique et d'une seringue introduis par voie nasale 5 à 10 ml de liquide dans un tube stérile. Par la suite, ils seront traités comme des crachats. C'est une technique réalisée en milieu hospitalier chez des patients hospitalisés.

❖ **Urine :**

Après restriction hydrique la veille, les urines sont prélevées le matin pendant 3 jours consécutifs.

❖ **Prélèvements sous fibroscopie bronchique :**

Ils sont réalisés lorsque les crachats ou le tubage gastrique ne permettent pas le diagnostic bactériologique. Ce sont des aspirations bronchiques, des brossages bronchiques ou encore des liquides de lavage broncho alvéolaire réalisés sous fibroscopie. C'est une technique réalisée en milieu hospitalier chez des patients hospitalisés.

II.3.1.2.Les échantillons prélevés de sites stériles :

Provenant de cavités fermées, ils doivent être recueillis dans des tubes stériles sous des conditions rigoureuses d'asepsie pour éviter toute contamination :

❖ **Liquides d'épanchements :**

Les liquides pleuraux, liquides d'ascites (Cf Figure 12) et les liquides céphalo-rachidiens, sont recueillis par ponction dans un tube stérile pour être analysés. Un volume de 3 ml est nécessaire à l'étude cytobactériologique de ces prélèvements et doivent être rapidement acheminés au laboratoire.

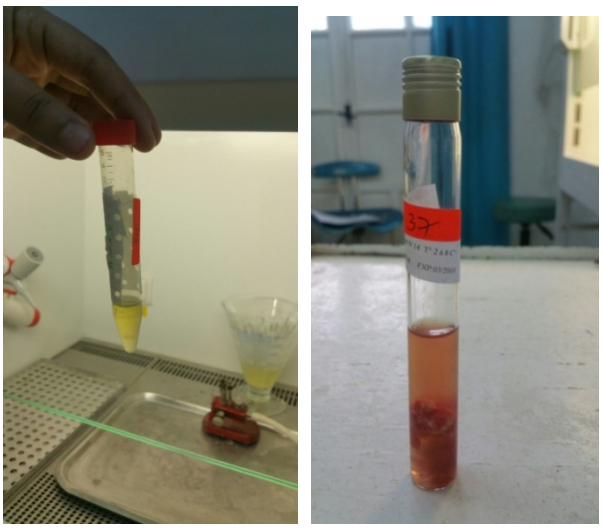


Figure12 : Liquide d'ascite et le liquide pleurale

❖ **Les abcès :**

Le prélèvement par ponction à la seringue doit être privilégié et la seringue est adressée directement au laboratoire. Les prélèvements à l'écouvillon sont déposés dans un flacon stérile et humidifiés avec quelques gouttes d'eau distillée stérile ou d'eau physiologique (Cf Figure 13).



Figure13 : Pus prélevé par ponction dans une seringue.

II.3.2. Les examens bactériologiques :

Les examens bactériologiques sont les suivants:

II.3.2.1.Examen microscopique direct de crachat :

Les prélèvements de crachats sont observés directement au microscope afin d'une détection éventuelle du le bacille de koch.

A- Préparation des frottis :

1. En travaillant obligatoirement sous une hotte, nous ouvrons soigneusement le flacon de l'échantillon correspondant au numéro de la lame. Le frottis ou l'étalement du crachat s'effectue sur des lames en verre neuves que l'on jette après usage. Les lames doivent être bien dégraissées.
2. On prélève avec une anse de platine rigide, préalablement flambée et refroidie une parcelle purulente ou une parcelle hémorragique de crachat. Le choix de la parcelle conditionne en grande partie le résultat de l'examen microscopique. Les bacilles se trouvent en effet beaucoup plus fréquemment dans le matériel opaque du crachat que dans le matériel transparent (mucus).
3. Le contenu de l'anse est étalé en couche mince par des mouvements de va-et-vient et de façon homogène. L'étalement doit s'effectuer en rectangle sur la totalité des deux tiers de la lame, soit une dimension de 20 mm sur 10 mm car une longueur de 20 mm correspond à environ 100 champ, ce qui permet une lecture optimale .Pour obtenir un film uniforme, couvrant régulièrement les deux tiers de la lame, il est souvent nécessaire de prélever deux parcelles de crachats. L'étalement terminé, l'anse de platine est immédiatement stérilisée.
4. Avant la fixation par la chaleur, le frottis est laissé à l'air pour sécher, sans toutefois être exposé à la lumière du soleil. Il est déconseillé de chauffer à la flamme un frottis humide car cela peut altérer les BAAR et entrainer un échauffement excessif. Une fois refroidie, les lames sont alors prêtes pour la coloration (Cf Figure 14).

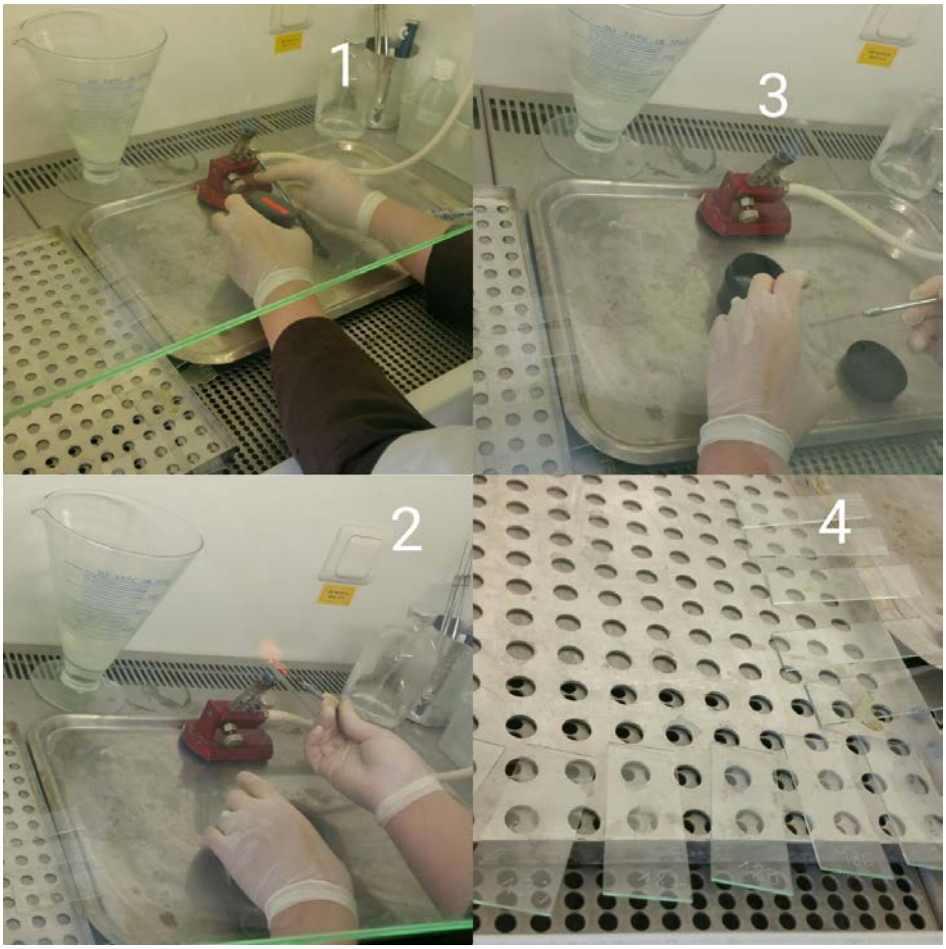


Figure 14 : Etapes de préparation des frottis.

B - Coloration du frottis : (Méthodes de coloration de Ziehl-Nielsen)

1. Après avoir placé la lame sur un support en métal, et l'avoir recouvert de fuchsine de Ziehl filtrée.
2. Nous l'avons chauffé doucement (trois fois) jusqu'à émission de vapeurs blanches au moyen de la flamme d'un coton imbibé d'alcool.
3. Nous avons laissé agir durant 10 minutes, tout en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant. Si nécessaire nous rajoutons de la fuchsine pour que la lame en soit toujours recouverte.
4. En second lieu, l'excès du colorant est rejeté, la lame est immédiatement rincée à l'eau distillée (C f Figure 15).

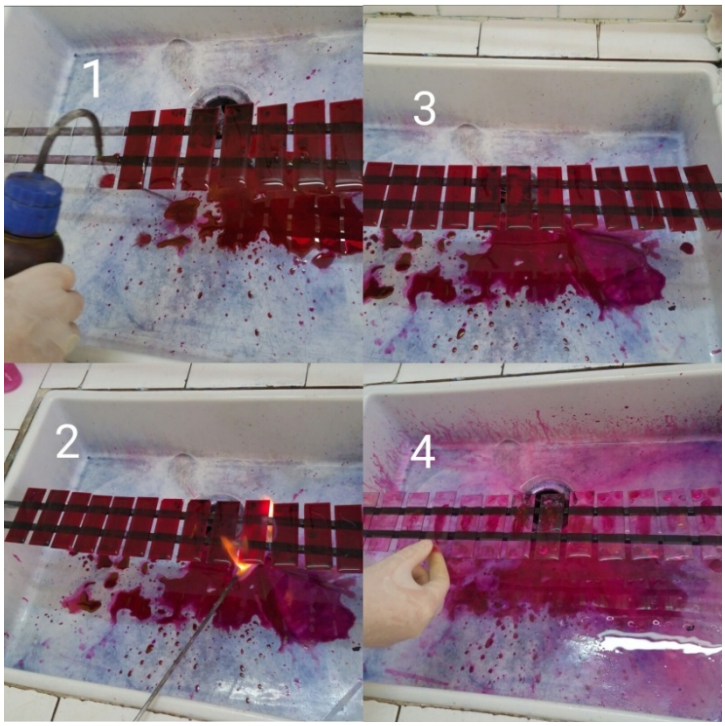


Figure 15 : Etapes de coloration des frottis avec fushine de Ziehl.

5. Par la suite les frottis ont à procéder à la décoloration à l'aide de l'acide sulfurique dilué à 25 % pendant 3 minutes.
6. . Après rinçage, la lame est recouverte d'alcool à 95° que nous avons laissé agir pendant 5 minutes.
7. Une fois rincé, le frottis est incolore ou légèrement teinté en rose (Cf Figure 16).

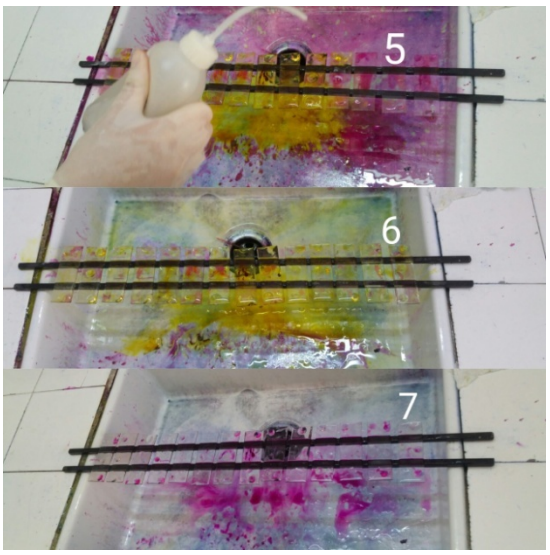


Figure 16 : Etapes de décoloration des frottis**.**

8. Après séchage à l'air libre les frottis ont été recolorés pendant 30 secondes par une solution de bleu de méthylène filtré également sur papier filtre.

9. Un dernier rinçage est réalisé. Une fois séchée, la préparation est prête à l'examen microscopique (Cf Figure 17).

.

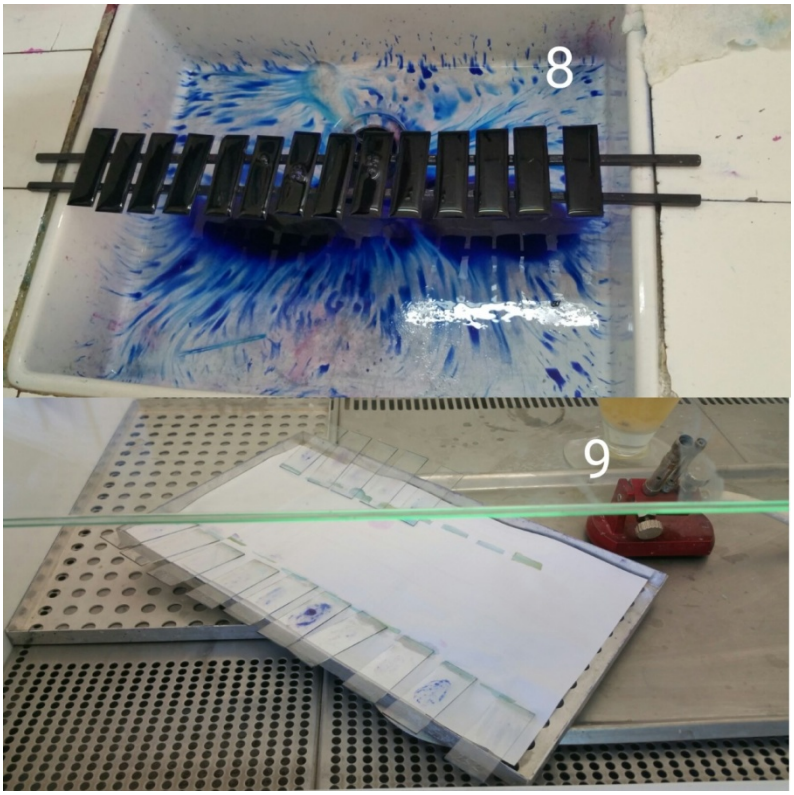


Figure 17 : Contre coloration des frottis par bleu de méthylène

La lecture microscopique des frottis se fait selon une procédure systématique et standardisée qui débute de l'extrémité gauche du frottis, se poursuit sur une ligne du frottis en déplaçant la lame de gauche à droite, puis en la déplaçant d'arrière en avant on lit une deuxième ligne parallèle de droite à gauche, puis si nécessaire une autre ligne est examinée en allant de gauche à droite. Il y a environ 100 champs microscopiques dans l'axe longitudinal d'un frottis de 2 cm. Trois lignes de frottis examinés correspondent à 300 champs microscopiques contrôlés. La lecture commence à la périphérie du champ et se termine au centre. L'échelle d'observation à cet examen microscopique en fonction du nombre de bacilles observés par champs examinés (cas d'expectorations) est établie comme présenté sur le Tableau suivant :

Tableau 3 : code de lecture des frottis colorés par la méthode de Ziehl-Nielsen recommandée par l'Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires **(Rieder H L et *al*, 1998) .**

Echelle des résultats	BAAR observé
Négatif	-Aucun BAAR vu sur au moins 100 champs
Examen suspect à confirmer	-1-9 BAAR sur 100 champs
+	-10-99 BAAR sur 100 champs
++	-1-10 BAAR par champs après examen d'au moins 50 champs
+++	-Plus de 10 BAAR par champ après examen d'au moins 20 champs

II.3.2.2.Mise en culture :

II.3.2.2.1. Mise en culture des échantillons contaminés :

Les échantillons contaminés adaptés à la culture (crachat, urine, liquide d'aspiration bronchique (LAB), tubage gastrique,) doivent être décontaminées avant d'être ensemencés dans le milieu de culture Lowenstein-Jensen. Cette étape a pour but d'éliminer la flore commensale des échantillons qui envahirait les milieux de culture avant la détection des mycobactéries qui sont des bactéries à croissance lente.

A. Traitement d'échantillon de crachat :

1. La méthode la plus fréquemment répandue et actuellement utilisée en laboratoire est celle de Petroff, utilisant la soude. Deux volumes d'échantillon d'expectorations sont mis dans un tube conique stérile, auxquels sont ajoutés deux volumes de solution de NaOH à 6%, agitation pendant 15 m.
2. Le mélange est ensuite centrifugé à 3000 T/ min pendant 15 minutes.

3. 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, afin d'obtenir une élimination des contaminants sans altérer la viabilité des mycobactéries. Le culot est ensuite mis en suspension dans 2ml d'eau distillée stérile. Les préparations sont ensemencées sur milieux de Lowenstein-Jensen (L-J). Deux tubes sont ensemencés pour les prélèvements pulmonaires et trois tubes pour les prélèvements extra pulmonaires de chaque échantillon.

4. Les tubes sont incubés dans une étuve chauffée à 37°C en position incliné et incomplètement vissés afin de permettre l'évaporation de l'excès du liquide de l'échantillon (les premières 48 heures) (C f Figure 18)



Figure 18 : Etapes de traitement et la mise en culture de crachat

B. Traitement d'échantillons de l'urine, tubage gastrique et LAB :

Sont traitées par la technique à la soude comme les crachats. Les préparations sont ensuite ensemencées sur milieux de Lowenstein-Jensen (L-J).

II.3.2.2.2. Mise en culture des échantillons non contaminés :

Les liquides d'épanchements, les ponctions d'abcès fermées prélevées stérilement sont ensemencés sans décontamination de la même technique de l'ensemencement de crachat. La Figure 19 montre les étapes d'ensemencement de pus.

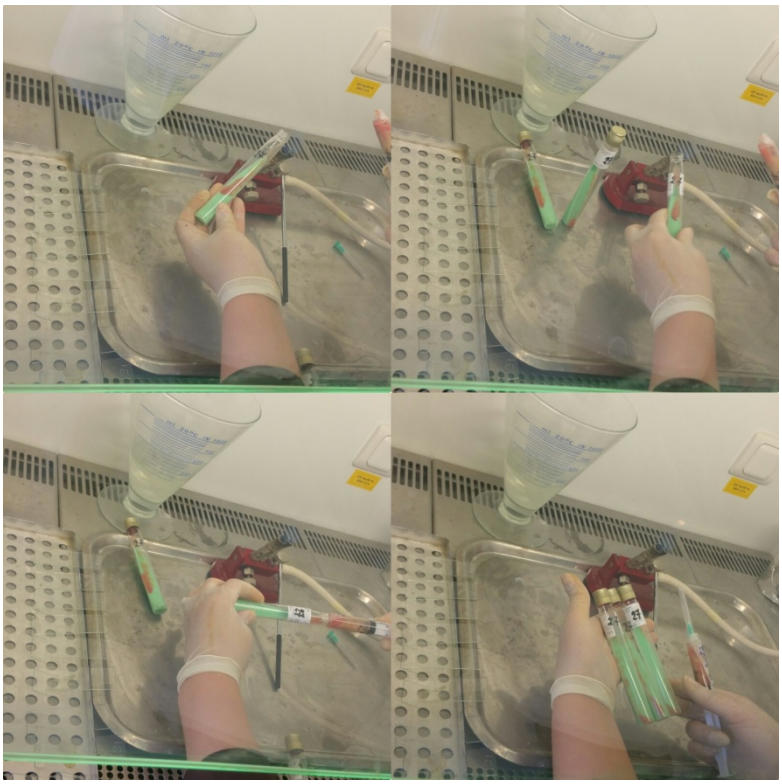


Figure 19- Mise en culture d'échantillons de pus sur le milieu de Lowenstein-Jensen (L-J).

Au bout de 48 heures d'incubation nous avons contrôlé la qualité de la décontamination par la recherche de colonies de germes banals et/ou le changement de couleur du milieu de culture. Ainsi les tubes contaminés sont éliminés. Si tous les tubes du même patient sont contaminés un nouveau prélèvement est demandé.

La longue durée d'incubation est justifiée par la croissance lente des mycobactéries (temps de division de M. tuberculosis égale à 20 heures). Au bout du 28ème jour, date de la 1ère lecture, nous avons recherché à l'œil nu des colonies à la surface du milieu de culture.

Une 3ème et dernière lecture est faite au 72ème jour d'incubation car certaines mycobactéries (3 à 4 mois pour les échantillons extra-pulmonaires) mettent beaucoup plus de temps à

pousser, avant de déclarer que la culture est négative ou positive en cas d'absence ou présence des colonies.

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

Sur milieu de culture solide de Lowenstein-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 (C f Figure 20).

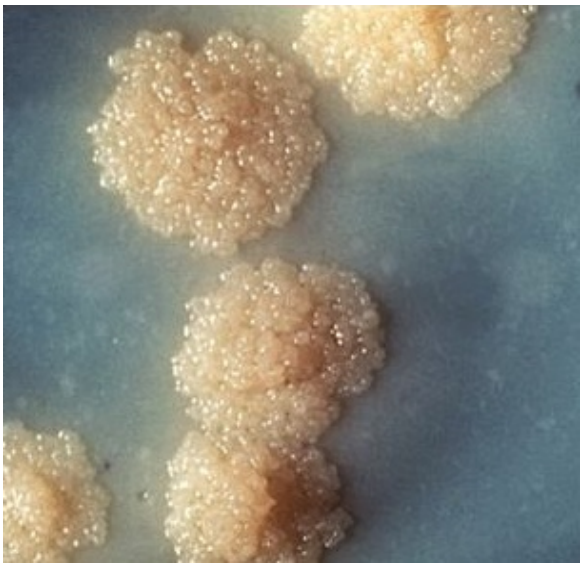


Figure 20. L'aspect rugueux « chou-fleur » des *M. tuberculosis* sur le milieu de culture L-J (**Jean Freney et *al*, 2000)**



Figure 20.a. L'aspect des *M. tuberculosis* sur le milieu de culture L-J (Photo personnelle).

III. Résultats :

III.1-Résultats de l'étude rétrospective :

D'après l'étude rétrospective, sur les 4710 patients suspectés d'être atteints de tuberculose pulmonaire, 392 patients ont des BAAR positifs après l'examen des crachats, soit une prévalence de (8.33 %) (Tableau 4).

Tableau 4: Répartition et résultats microscopique des échantillons pulmonaires

Année	Échantillons Crachats	BAAR positifs	BAAR négatifs
2013	864	73	791
2014	1075	96	979
2015	1117	70	1047
2016	827	73	754
2017	827	80	747
Total	4710	392	4318

Sur les 370 patients suspects d'être atteints de tuberculose extra pulmonaire , 47 patients ont des BAAR positifs après l'examen des urines, liquide pleural, liquide d'ascite, pus, liquide synoviale et le liquide céphalorachidien, soit une prévalence de (12.7 %) pendant la période allant de Janvier 2013 à Décembre 2017 (Tableau 5)

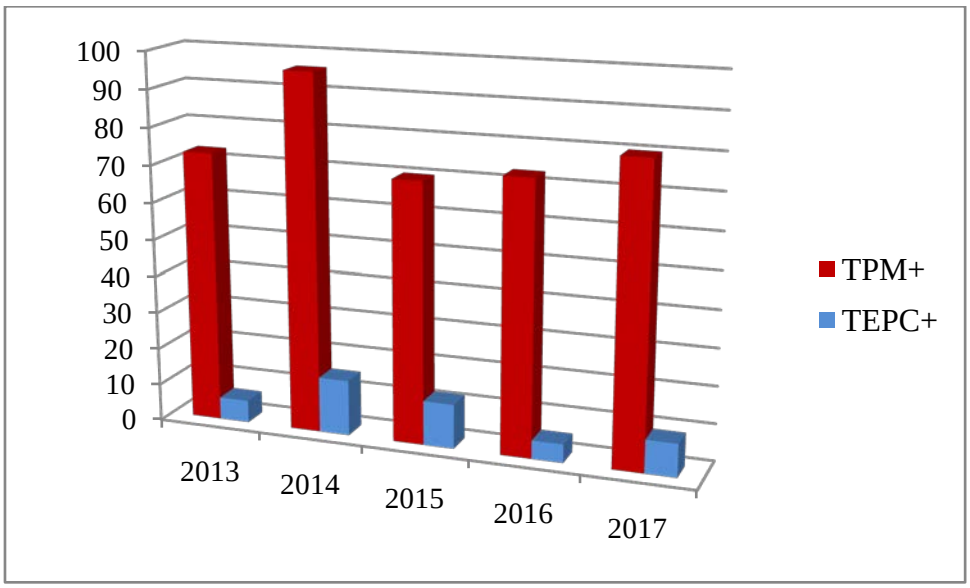
Tableau 5: Répartition et résultats des cultures des échantillons extra- pulmonaires

(+) cas positif, (-) cas négatif

Année	Échantillons												Total
	Urines		LP Liquide pleural		LA Liquide d'ascite		PUS		LS Liquide synovial		LCR Liquide céphalorachidien		
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	
2013	4	13	2	16	0	2	0	7	0	1	0	0	45
2014	3	27	4	27	0	1	8	34	0	0	0	0	104
2015	5	29	5	22	0	8	2	20	0	1	0	1	93
2016	5	27	0	12	0	3	0	2	0	1	0	1	51
2017	3	24	3	16	0	13	3	12	0	2	0	1	77
Total	20	120	14	93	0	27	13	75	0	5	0	3	370

III.1.1. Evolution de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire dans la région de Médéa :

L'évolution des cas de tuberculose diagnostiqués sont rapportés par la figure suivante :



TPM+ : Tuberculose pulmonaire microscopie positif

TEPC+ : Tuberculose extrapulmonaire culture positif.

Figure 21 : Evolution des cas de tuberculose dans la région de Médéa (2013-2017).

Sur les 439 cas de tuberculose diagnostiqués durant (2013-2017), 392 cas sont pulmonaire, soit 89.30%, les 47 cas restants, les cas de tuberculoses extrapulmonaire ont représentés 10.7 % des cas. Ces résultats montrent que la Tuberculose pulmonaire est prédominante par rapport à la tuberculose extrapulmonaire.

Entre 2013 et 2017, on a noté une légère augmentation du nombre de cas de tuberculose, pendant l'année 2014 la TEP a atteint un maximum de 15 cas positifs sur 104 prélèvements soit une prévalence de 14.4%.

III.1.2 : Répartition de la tuberculose pulmonaire en fonction du sexe et de l'âge :

La distribution des cas enregistrés de tuberculose selon le sexe et l'âge est présentée dans la figure suivante :

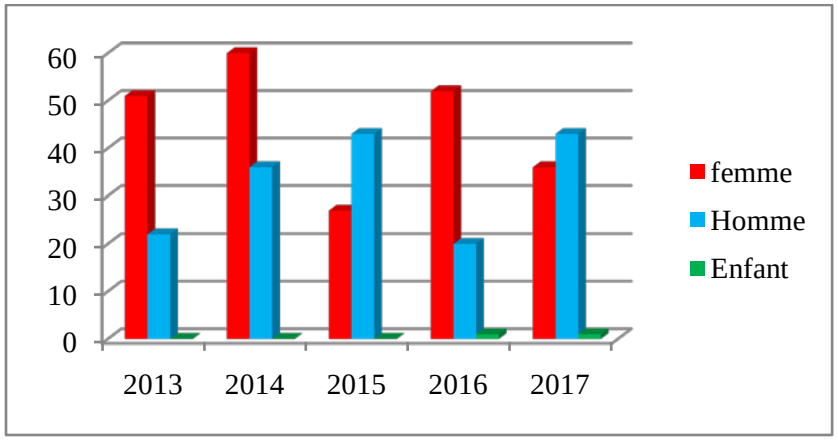


Figure 22 : Répartition de la tuberculose pulmonaire en fonction du sexe et de l'âge pendant la période (2013-2017).

La tuberculose pulmonaire a été enregistrée beaucoup plus chez les femmes que chez les hommes durant les années 2013,2014 et 2016 soit, 69.8%, 62.5 et 71.23 % chez les femmes et 30.13%, 37.5% et 27.39% respectivement chez les hommes, tandis que en 2015 et 2017 on a enregistré une prédominance masculine soit 61.4% et 53.75% que les femmes soit 38.57%, 36 % respectivement. Aucun cas positif n'est noté chez les enfants sauf en 2016 et 2017 soit 1.37%, 1.25% des cas positifs de tuberculose pulmonaires enregistrés dans ces deux années.

III.1.3.Répartition de la tuberculose extra pulmonaire selon le sexe et l'âge :

La distribution des cas de tuberculose extrapulmonaire est la suivante :

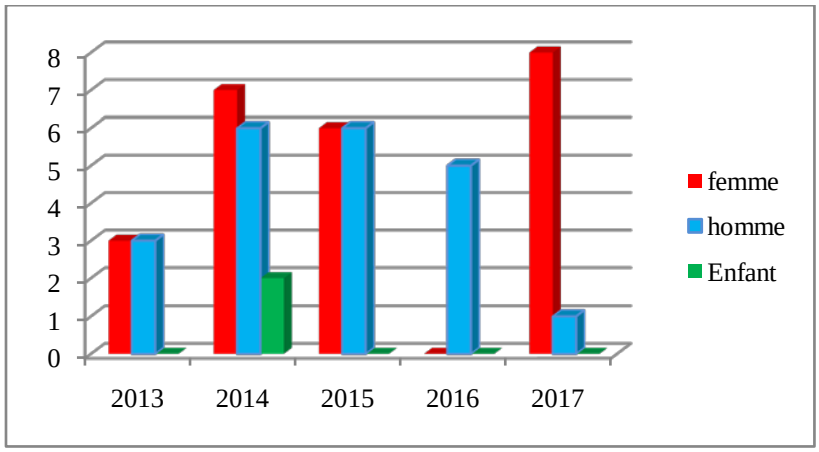


Figure 23 : Répartition de la tuberculose extra pulmonaire selon le sexe et l'âge pendant la période (2013-2017).

En 2014, 2017 on a noté une prédominance féminine soit 46.6%, 88.88% respectivement, avec une prévalence masculine de 40%, 11.11%. Par contre en 2013 et 2015 on a enregistré une prévalence identique pour les deux sexes (50%) avec une absence des cas positif chez les enfants sauf en 2014 avec une prévalence de 13.33%.

III.2.Résultats de l'étude prospective :

Notre travail a porté sur un total de 261 échantillons de nature différente (9 sortes échantillons différents) dont 232 pulmonaires et 29 extra-pulmonaires, recueillis durant trois mois, avec en première position les crachats (85.82%), suivi le liquide pleural (3.44%) et en troisième position le liquide d'ascites (3,06%). Le tableau 6 résume le nombre et la nature des échantillons récoltés.

Tableau 6: répartition des échantillons recueillis selon leur nature.

Type de prélèvements	Nature des échantillons	Nombre d'échantillons
Prélèvements pulmonaires	Crachats	224
	Tubage gastrique	5
	Aspirations bronchiques	3
Prélèvements Extra-pulmonaires	Urines	7
	Liquides pleural	9
	Liquide d'ascites	8
	Pus	2
	Liquide synovial	1
	Liquide Céphalorachidien	2
Total		**261**

Étant donné que la tuberculose est essentiellement une maladie des poumons les échantillons pulmonaires ont été les plus prédominants (88,88 %) principalement les échantillons de crachats (85,82%) puisqu'ils sont plus faciles à recueillir (la population étudiée est majoritairement composée d'adulte).

Nous avons enregistré seulement (11,11) % échantillons de nature extrapulmonaire, à raison de 10 échantillons par mois, où les échantillons liquide pleurale ont été les plus répandus (3.44%), suivi par le liquide d'ascite et les échantillons d'urines (3.06% et 2,68%).

III.3. résultats bactériologiques :

III.3.1. Recherche des BAAR par l'examen microscopique des frottis :

Sur les 224 échantillons examinés La mise en évidence des bacilles acido-alcoolo-résistants sur frottis colorés à l'état frais par la méthode de Ziehl-Neelsen, s'est révélée positive pour 18 cas (8.03%) (Figure 24,25) et 206 (91.96%) cas négatif. Les résultats de cet examen sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 7 : résultats de l'examen microscopique après coloration de Ziehl-Neelsen des échantillons pulmonaires (crachat) obtenus par mois :

MOIS / Bacilloscopie	**Février**	**Mars**	**Avril**	**Total**
Ziehl (+)	5 (27.77%)	6 (33.33%)	7 (38.88%)	18 (100%)
Ziehl (-)	62	64	80	206
Total	67	70	87	224

Les résultats ci-dessus sont présentés schématiquement par la figure suivante :

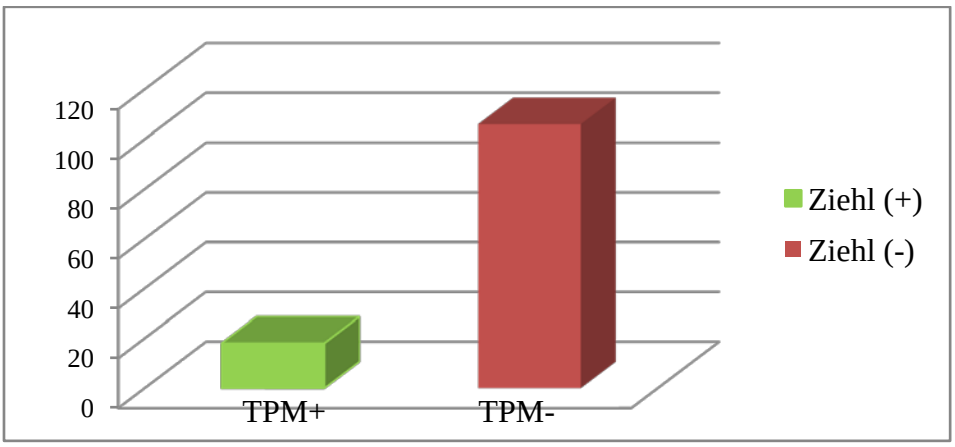


Figure 24 : nombre de cas TPM+/TPM-

La figure qui suit montre des bacilles de koch observés sous microscope

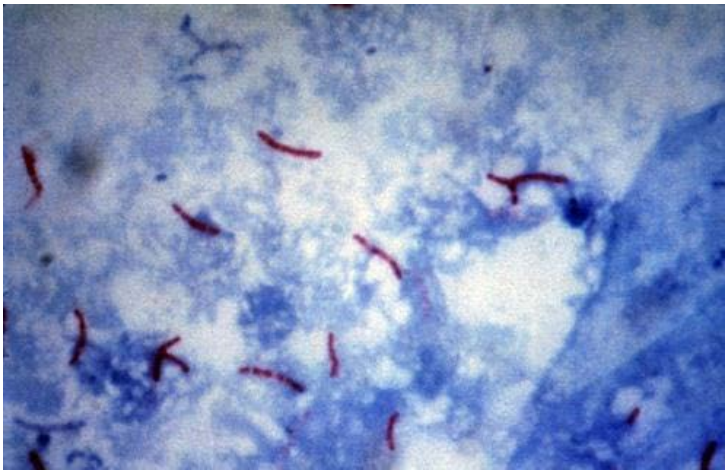


Figure 25: Observation microscopique de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) après la coloration de Ziehl Neelsen, grossissement 1000 X (**François Denis ,2007).**

III.3.1.1.Répartition des cas de tuberculose selon le mois :

La distribution des cas de tuberculose en fonction du mois du prélèvement est la suivante :

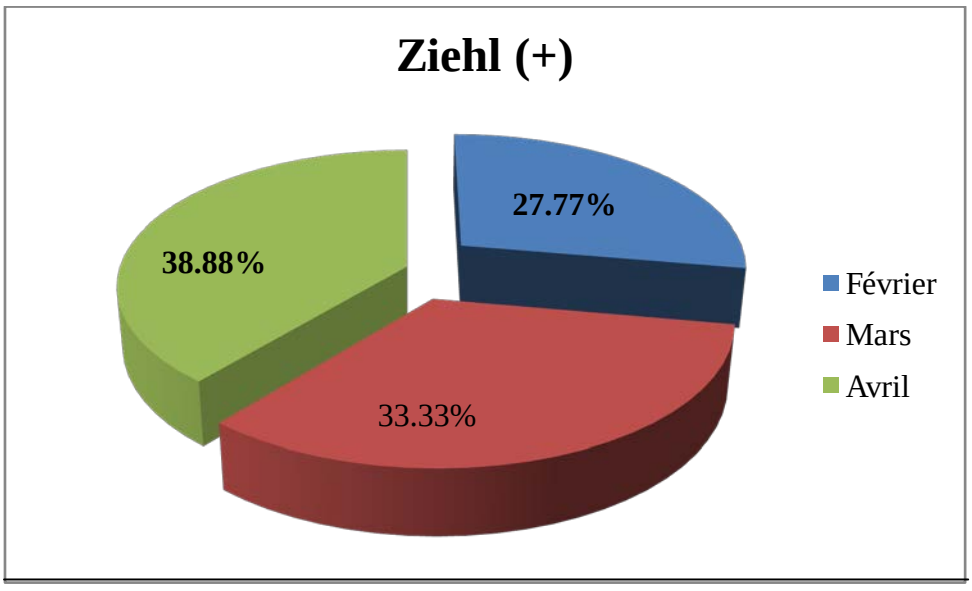


Figure 26 : Répartition des cas selon le mois (Février, Mars et Avril).

La bacilloscopie a montré la présence de BAAR pour seulement 8.03 % des échantillons pulmonaires durant ces trois mois (exclusivement des crachats puisque, d'une

part, ils sont les plus riches en BK émis suite à un effort de toux, d'autre part ce prélèvement est réalisé trois fois durant trois jours consécutifs en raison de l'émission intermittente des BK). Cependant, ce taux de positivité varie selon le mois ; il est de 27.77% et de 33,33 % durant le mois de février et Mars respectivement, alors qu'en mois d'Avril le taux de positivité en bacilloscopie augmente à 38.88 %.Il est important de noter que la présence de BAAR à l'examen direct dans des prélèvements respiratoires indique que le patient est « bacillifère » et contagieux.

III.3.2. Recherche des colonies de *M. tuberculosis* après mise en culture :

Le genre *Mycobacterium* a été recherché à partir des échantillons de nature pulmonaire et extrapulmonaire.

III.3.2.1.Représentation des résultats des cultures des échantillons pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois :

Sur les 232 échantillons pulmonaires examinés, le genre *Mycobacterium* a été recherché à partir de 90 expectorations, 5 échantillons tubage gastrique et 3 échantillons aspiration bronchique.

Les résultats des cultures des échantillons pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois sont mentionnés dans le (tableau 8)

Tableau 8: résultats des cultures des échantillons pulmonaires sur le milieu Lowenstein Jensen :

MOIS / Culture	Février	Mars	Avril	Total
Positive	2(14.28 %)	4(28.57%)	8(57.14%)	14
Négative	15	27	42	84
Total	17	31	50	98

Les résultats ci-dessus sont présentés schématiquement par la figure suivante :

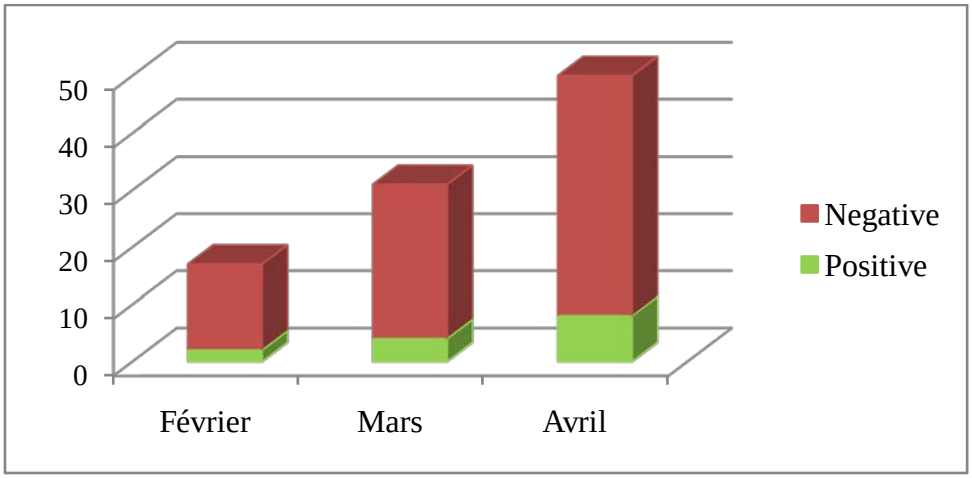


Figure 27: Représentation des résultats des cultures des échantillons Pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois.

Les échantillons pulmonaires ont fait l'objet de 11.02 % des cultures positives, dont principalement des crachats. Nous avons noté une augmentation de la TP à culture positive selon le mois, avec une prévalence 57.14% durant le mois d'avril, 28.57% et 14.28% durant le mois Mars et Février respectivement.

Nous n'avons enregistré aucuns échantillons positifs d'aspirations bronchiques et tubage gastrique qui ont été recueillis.

III.3.2.2 : Représentation des résultats des cultures des échantillons extrapulmonaire sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois :

Les résultats des cultures des échantillons extra pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois sont mentionnés dans le tableau 9.

Tableau 9: résultats des cultures des échantillons extra- pulmonaires sur le milieu Lowenstein Jensen :

MOIS / Culture	Février	Mars	Avril	Total
Positive	3(37.5%)	5(62.5%)	0	8
Négative	6	5	10	21
Total	9	10	10	29

Les résultats ci-dessus sont présentés schématiquement par la figure suivante

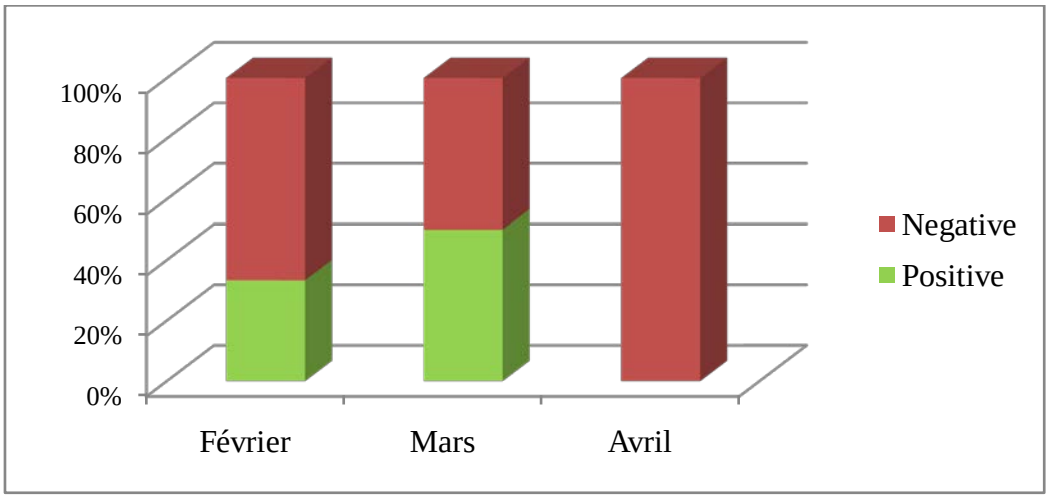


Figure 28 : Représentation des résultats des cultures des échantillons extra-pulmonaires sur milieu Lowenstein-Jensen durant les trois mois.

Les échantillons de nature extrapulmonaire ont fait l'objet de 6.29 % de cultures positives. On a noté une prévalence de 37.5% de la tuberculose extrapulmonaire pendant le mois de février, par contre le mois mars a été le plus représentée avec 62.5%. Nous n'avons enregistré aucuns échantillons de culture positifs pendant le mois d'avril.

Les 91.57 % des échantillons restants, des deux formes confondues ont déclaré une culture négative, ceci nous renseigne sur l'absence d'une infection tuberculeuse chez ces patients.

III.3.2.3.Répartition de la tuberculose selon la nature des échantillons :

Les crachats sont les échantillons pulmonaires les plus prédominants 18 cas à microscopie positif et 14 cas à culture positif, puisque la tuberculose touche essentiellement les poumons. Bien que le liquide d'aspirations bronchiques et liquide de tubage gastrique, n'ont présenté aucune culture positive.

En ce qui concerne les échantillons de nature extrapulmonaire ; les échantillons liquide pleural, liquide d'ascite, le pus et les urines ont été les plus répandus parmi les échantillons envoyés, néanmoins nous avons isolé 3 cas positifs liquide pleural, 2 cas positifs liquide d'ascite, un cas positifs d'urines et 2 cas positifs de pus ganglionnaire, Il s'est avérer donc,

que les échantillons qui étaient moins fréquents sont ceux qui ont démontré des résultats négatifs en culture, ces derniers sont : liquide Céphalo-rachidien, liquide synoviale.

III.3.2.4. Répartition des résultats en fonction de la bacilloscopie et la culture :

Afin de déterminer la présence ou l'absence d'une infection tuberculeuse chez ces patients, nous avons combiné les résultats de l'examen microscopique des frottis (crachat) après coloration de Ziehl-Neelsen et l'examen macroscopique des cultures sur le milieu L-J, pour la forme de la tuberculose pulmonaire. Ces résultats sont illustrés dans le tableau 10 **Tableau 10 :** les résultats de la bacilloscopie et de la culture des produits pathologiques pulmonaires durant les trois mois.

MOIS / **Résultat**	**Février**	**Mars**	**Avril**	**Total**
Microscopie(+)/culture(+)	1	3	5	9
Microscopie(+)/culture(-)	0	0	0	0
Microscopie(-)/culture(+)	1	1	3	5
Microscopie(-)/culture(-)	13	25	38	76
Total	15	29	46	90

Sur les 14 cultures positives d'échantillons pulmonaires, 9 ont présenté une microscopie positive et pour les 5 autres elle fut négative.

III.3.2.5.Répartition des patients à BAAR microscopique et culture positif des échantillons pulmonaires et extrapulmonaire selon le sexe :

Les résultats ci-dessus sont présentés schématiquement par les figures suivantes :

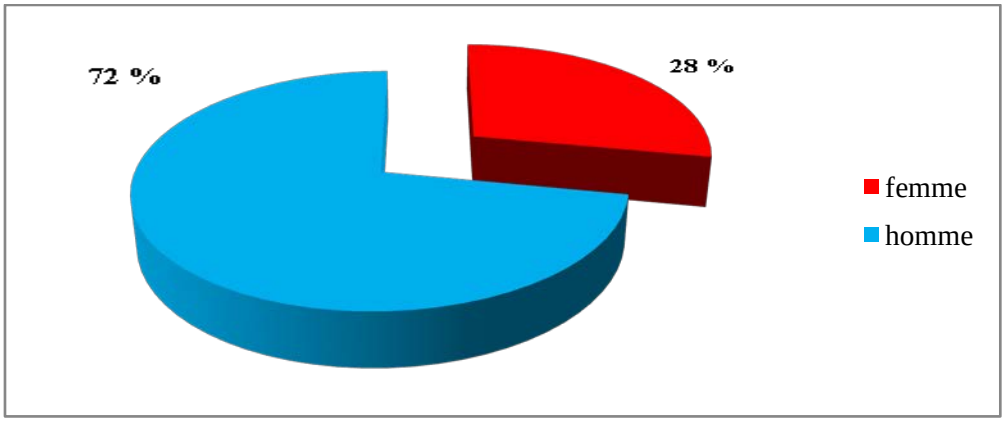


Figure 29 : Répartition des patients à BAAR microscopique positif selon le sexe

Sur 18 patients à BAAR microscopique positifs, nous avons recensé 72% de sexe masculin et 28 % de sexe féminin. Le sexe ratio était de 1.77 en faveur des hommes.

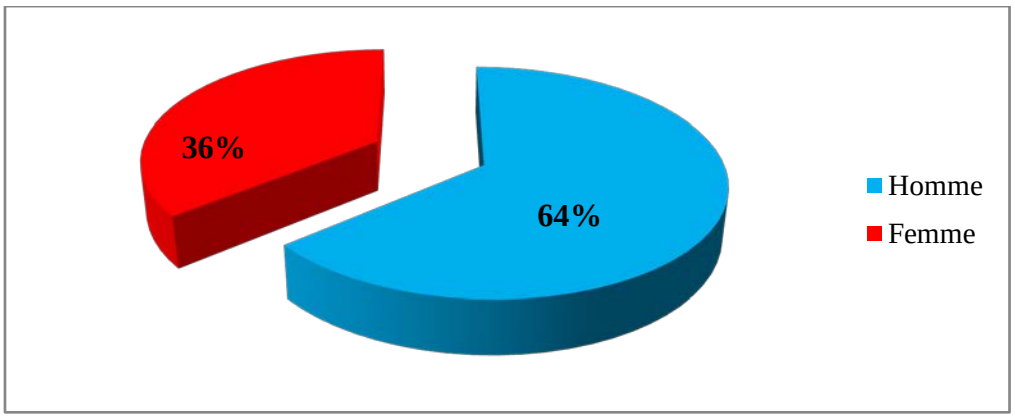


Figure 30: Répartition des patients à cultures positives des échantillons pulmonaire selon le sexe.

Sur 14 patients à culture positifs, nous avons recensé 64% de sexe masculin et 36% de sexe féminin. Le sexe ratio était de 1.77 en faveur des hommes.

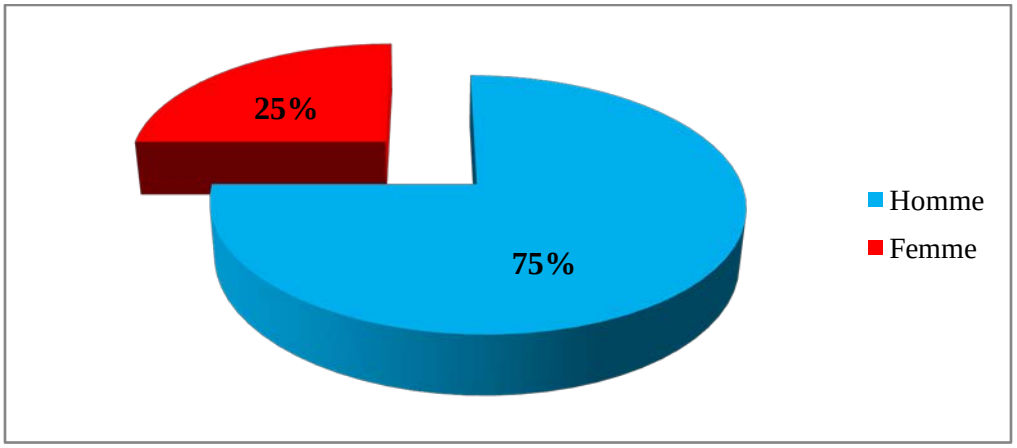


Figure 31 : Répartition des patients à cultures positives des échantillons extrapulmonaire selon le sexe

Sur 8 patients à culture positifs, nous avons noté une prédominance masculine, soit 75 % contre 25 % chez le sexe féminin. Le sexe ratio était de 3.

Discussion :

Dans notre travail, nous avons réalisé deux études : une première étude rétrospective, portant sur 5080 patients suspectés d'être atteints de tuberculose colligés au cours de l'année (2013 au 2017) afin de déterminer la prévalence de la tuberculose dans la région de Médéa, ce qui permettra de mieux comprendre la situation épidémiologique de la tuberculose dans cette région. La deuxième étude prospective s'étalant sur trois mois, consistant à la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* dans des prélèvements de 261 patients suspectés d'être atteints de tuberculose afin de déterminer les cas incidents de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire dans la région de Médéa.

On a noté que la prévalence de la tuberculose pulmonaire dans la région de Médéa pendant la période (2013-2017) est de 9 % en 2014. Cette prévalence est semblable à celle de l'année 2017 qui est de 9.6 % par contre la prévalence de tuberculose extra pulmonaire a atteint en 2014, le chiffre maximum notifié 15 cas soit 14.4%. En 2013, 2015,2016 la prévalence de TP est 8.44%, 6.2% et 8.8% respectivement. Ainsi, le nombre de cas de la tuberculose pulmonaire au cours de ces années est pratiquement identique. Ces résultats ont indiqué clairement la forte prévalence de la forme extra pulmonaire mais la tuberculose pulmonaire reste la maladie contagieuse le plus courante dans cette région, alors que d'autre étude faite par **Zehani D en 2016** sur la wilaya de Constantine a trouvé une prévalence de 3,35 % en 2015 et de 3,08% en 2014 de la tuberculose pulmonaire.

Les taux de prévalence élevés dans la plupart des pays en voie de développement sont dus à la pauvreté, à l'accroissement démographique, au mauvaise suivi des médicaments et à la paupérisation des Services de Santé tandis que dans les pays développés le faible taux est dû au bon niveau de vie et d'hygiène et à la facilité de l'accès aux soins.

L'étude que nous avons menée sur la période de 1 Février au 30 Avril 2018 nous a permis de mettre en évidence de 18 cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positif, 14 cas à culture positif et 8 cas de tuberculose extra pulmonaire.

Nos résultats montrent une prédominance de la TP à microscopie positif dans la population de sexe masculin avec un pourcentage de (72%) contre (28%) pour le sexe féminin , 64 % de TP à culture positif chez les hommes contre 36% chez les femmes et une prédominance de la TEP dans la population masculine (75%) contre (25%) de sexe féminin. deux hypothèses pourraient expliquer cette prédominance masculine :

- les comportements à risque beaucoup plus fréquents chez l'homme (tabagisme).
- les travaux physiques intenses malgré l'insuffisance alimentaire.

Ces observation rejoignent les résultats d'autres études telles que celles **d'Enerson, 2000** ou l'incidence était plus élevée chez les hommes que chez les femmes et **d'Antoine, 2008** ou 60% des cas déclarés de tuberculose sont de sexe masculin et celle de la déclaration du Ministère de la santé en Algérie, 2011**(Ministère de la santé, 2011).**

Les résultats obtenus rejoignent la tendance mondiale, où l'observation de l'incidence de la tuberculose en fonction du sexe montre, que celle-ci est toujours plus élevée chez les hommes. Alors d'autres études montrent que la totalité des patients atteints de tuberculose étaient de sexe féminin 53.57% dans la wilaya de Constantine **(Rebahi.A et Abdi S, 2017)** et (71.43%) **(Benguedouar.A et Arrouf. I, 2016).**

Dans notre étude, l'examen direct des crachats est le plus couramment utilisé et les patients sont dépistés à l'aide de la technique de coloration de Ziehl Neelsen. Après la coloration de Ziehl, la lecture est faite par un microscope optique binoculaire. Les Bacilles apparaissent comme des fines bâtonnets rouges légèrement incurvés plus ou moins granuleux isolés par paires ou en amas se détachant nettement du fond bleu de la préparation **(Procop ,2016)**. Ce cas de la figure 24 est semblable à celui de (**Bodonirina, 2012)**.

La coloration de Ziehl-Neelsen a permis la mise en évidence de bacilles acido-alcoolo-résistants à partir de 18 cas soit (8.03%) partir des expectorations, dont principalement des crachats, puisque ce sont les échantillons de référence qui permettent de recueillir grâce à une toux productive une quantité suffisante de bacilles tuberculeux qui ont été isolé par la suite sur le milieu de culture Lowenstein-Jensen, confirmant ainsi le diagnostic d'une infection tuberculeuse pulmonaire.

Le diagnostic de la tuberculose et autres mycobactérioses repose principalement sur l'isolement en culture et l'identification du germe responsable. Cette procédure utilisée en routine est simple, facile à mettre en œuvre et peu coûteuse mais demande un minimum de 4 semaines après obtention des premières colonies sur les milieux de culture. **(Thorel, 1994).**

La culture reste la méthode de référence la plus sensible pour l'isolement du bacille de Koch à partir des échantillons cliniques. Associée à une étape initiale de décontamination

pour les échantillons de crachat ou ceux prélevés de sites contaminés qui permet l'accès des décontaminant aux organismes non-mycobactériens à croissance rapide.

L'examen macroscopique des milieux de cultures est réalisé après 48 heures, une semaine, un mois et deux mois afin de contrôler : la qualité de la décontamination, l'absence de colonies de mycobactéries atypiques à croissance rapide, vérifier l'aspect morphologique caractéristique des colonies qui sont apparus pour confirmer qu'il s'agit bien de celle du BK, faire le dénombrement de ces colonies afin d'estimer la densité bacillaire et par conséquent la contagiosité du malade.

La nécessité de combiner le résultat des deux examens (microscopique et macroscopique) a pour but de faire ressortir, d'une part, les cas dangereux de la tuberculeuse, dits « bacillifère » correspondants aux patients dont le résultat de la bacilloscopie ainsi que de la culture est positif. D'autre part, mettre en exergue les cas dont la bacilloscopie a révélé l'absence de BAAR mais que la culture s'est avérée positive déclarant ainsi la maladie.

En effet, On a rapporté 8 cas positifs de TEP (3.06 %) et 14 cas positifs de TP (5.36 %) du genre *Mycobacterium,* 9 prélèvements parmi les échantillons de TP à Ziehl positif, ont donné une culture positive et on permit d'isoler le genre *Mycobacterium*. Nos résultats sont en accord avec ceux avancés **(Benguedouar.A et Arrouf. I, 2016)** qui ont enregistré sur les 84 cultures positives d'échantillons pulmonaires, 38 ont présenté une microscopie positive. Ceci confirme la meilleure efficacité et sensibilité de la culture. Puisque d'une part, elle optimise considérablement les résultats de la microscopie qui a été chez certains cas négative (les lésions tuberculeuses de certains patients ne permettent pas d'émettre suffisamment de bacilles qui ne seront pas par la suite détectés par l'examen microscopique, par conséquent cet apport de bacilles est récupéré grâce à la culture) et d'autre part, elle améliore considérablement le dépistage des formes extra-pulmonaires de la tuberculose dont les prélèvements sont pauvres en bacilles tuberculeux

Quand les colonies deviennent visibles après la mise en culture, il convient de s'assurer qu'il s'agit bien de mycobactéries. Elles doivent ensuite être identifiées selon leur aspect. Les premières colonies de mycobactéries ont été obtenues dans un délai variant entre trois et six semaines. L'aspect des colonies ont été observés sur le milieu L-J. rappelant celles de *M. tuberculosis*: colonies rugueuses crème-beige, végétant en chou-fleur et pouvant atteindre

jusqu'à 5 à 10 mm de diamètre. (Procop ,2016). Grâce à ces résultats, nous avons pu démontrer les cas non tuberculeux, des cas atteints d'une infection tuberculeuse.

Tous les patients, après confirmation microscopique / macroscopique de TP ou TEP, ont bénéficié d'un traitement médical standardisé par le ministère de la santé, dans le cadre du programme national de lutte antituberculeuse selon le régime suivant :

Il consiste à la prise pendant 2 mois des antituberculeux de 1ère ligne, la rifampicine (RIF), l'isoniazide (INH), l'éthambutol (EMB) et la pyrazinamide (PZA), suivie de 4 mois avec RIF et INH seulement.

Conclusion :

Malgré l'existence d'un programme de lutte antituberculeuse et principaux antibiotiques contre *M. tuberculosis* et l'existence d'un vaccin, le BCG, la tuberculose constitue encore un sérieux problème de santé publique courant dans les pays en voie de développement et notamment en Algérie.

Ce travail a été élaboré afin d'éclaircir la situation de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire dans la région de Médéa. Durant la période étudies on a constaté que la tuberculose pulmonaire reste la forme prédominante de la maladie, elle touche les deux sexes de différentes tranches d'âge avec une prédominance masculine.

Notre étude fait apparaitre clairement que les techniques conventionnelles de microscopie et de culture demeurent indispensables pour le diagnostic de certitude de la tuberculose maladie. Néanmoins, l'avènement de nouveaux outils qui utilisent des techniques moléculaires, dans la pratique clinique de routine, en complémentarité avec les techniques phénotypiques, permettra de réduire considérablement le délai du diagnostic bactériologique, d'accélérer la prise en charge des patients allant même à la détection rapide des résistances

En conclusion, il est impératif de renforcer le programme antituberculeux et la stratégie du Traitement Court Directement Observé (DOTS) pour baisser de façon significative l'incidence de la tuberculose. Une collaboration multisectorielle est nécessaire pour que la lutte contre cette maladie soit efficace.

Recommandations :

Les principales recommandations adoptées sont les suivantes :

✓ **Assurer un diagnostic précoce pour tous les cas de tuberculose maladie :** par la mise en place des bonnes pratiques de lutte antituberculeuse renforcement de ressources humaines et financières pour maintenir la baisse d'incidence.

✓ **Améliorer le dépistage de la tuberculose maladie et les enquêtes autour d'un cas :** le dépistage des sujets infectés par le bacille tuberculeux ou atteint de maladie tuberculeuse doit reposer sur les tests tuberculinique et la radiographie pulmonaire et se focaliser sur des sujets particulièrement à risques ou exposés. En milieu de travail, la prévention et le dépistage de la tuberculose dépendent de la médecine du travail. certains groupes de professions Sont particulièrement concernés car susceptibles d'être en contact avec des malades ou du bacille au laboratoire; l'idéal c'est de demander à l'embauche, test cutané a la tuberculine et radiographie de thorax obligatoire puis une surveillance médicale annuelle. Celle-ci peut être plus fréquente s'il existe des risques particuliers

✓ **Améliorer la surveillance épidémiologique et les connaissances sur les déterminants de la tuberculose maladie.**

✓ **Améliorer le pilotage de la lutte antituberculeuse** ; par la mise en œuvre d'outils variés, parmi lesquels des enquêtes de perception et de connaissances, des enquêtes d'évaluation des pratiques et des audits de qualité, des analyses statistiques et des diagnostics organisationnels.

✓ **Assurer une bonne coordination entre les médecins libéraux, l'hôpital et les dispensaires** qui est souvent défaillante et devrait être améliorée ; les dispensaires doivent disposer du personnel suffisant pour assurer un dépistage dans certains lieux a haut risque tels que les foyers d'hébergement ou d'autres milieux défavorisés, afin de rendre possibles des interventions efficaces.

✓ **Amélioration du système d'information sur la maladie** (données épidémiologiques, enquête autour d'un cas, …)

✓ **Information et de sensibilisation :** organisation des compagnes de sensibilisations destinées aux différents tranches d'âges et niveaux intellectuels.

✓ **Formation du professionnel** de santé et la mise à jour des connaissances sur la pathologie.

✓ **amélioration des pratiques de soins et de la prévention de la transmission dans les établissements** ceci dépend avant tout de la mise en route du traitement des malades mais repose aussi sur l'isolement des patients contagieux ou suspects de l'être ,ce qui demande une révision de l'organisation de l'accueil des patients et des services hospitaliers ainsi que l'adoption de mesures parfois contraignants (masque de protection)ou difficiles a réaliser (chambre seule).

✓ **la réduction des disparités** aux travers des actions visant plus spécifiquement les populations les plus exposées.

.

Annexes

Annexe I : Milieu de Lowenstein – 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

Annexe II : Réactifs de Ziehl Neelsen

- Fuchsine phéniquée de Ziehl :

Fuchsine basique.....…...10g
Phénol aqueux …….. 55 ml
Eau distillée …….. ……1000 ml
Alcool 95……100ml

-Acide sulfurique

Eau distillée……..… 750 ml
Acide sulfurique……..……250ml

-Bleu de méthylène phéniqué

Bleu de méthylène…..... 20 g
Phénol aqueux……..…… 22 ml
Eau distillée…….…… 1000 ml
Alcool éthylique à 95……..…100ml

References

- **Ait-Khaled N. et Enarson D. (1999) :** Tuberculose manuel pour les étudiants en Médecine.
- **ANTOINE D. et CHE D. (2008) :** Les cas de tuberculose maladie déclarés en France en 2006.bulletin épidémiologique. Hebdomadaire. N°10-11. p 69-75.
- **Azad, A.K., Sadee, W., and Schlesinger, L.S. (2012).** Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis. Infection and immunity 80, 3343-3359.
- **Benguedouar. A et Arrouf. I (2016) :** Diagnostic bactériologique de la tuberculose. thèse de fin d'études Constantine.
- **Berche P. ; Gaillard J.L. et Simonet M. (1988)** Chapitre : Les mycobactéries de la Tuberculose dans Bactériologie. Edition : Flammarion Médecine-Sciences. p : 407-429.
- **Bezuidenhout J. and Schneider J.W. in Grange J.M. ; Raviglione M.C. ; Yew W.W; Starke J.R; Pai M and Donald P.R. (2009):** Pathology and pathogenesis of tuberculosis in Tuberculosis. A Comprehensive Clinical Reference. Edition : Saunders Elsevier.
- **BILLY C, PERRONNE C. (2004) :** Aspects cliniques et thérapeutiques de la tuberculose chez l'enfant et l'adulte. *Encycl Méd Chir, Mal Inf.* Mai 2004;1(2):81-98.
- **BODONIRINA V.P. (2012)** Place de l'examen des crachats dans le diagnostic de tuberculose pulmonaire au CSBII Ekar Imady. Thèse de doctorat en médecine, Université d'Antananarivo, N°8359. 127 p.
- **BOULAHBAL F. et CHAULET P. (2004) :** La tuberculose en Afrique épidémiologie et mesures de lutte. *Med Trop;* 64 : p 224- 228.
- **Brighenti, S., and Andersson, J. (2012).** Local immune responses in human tuberculosis: learning from the site of infection. The Journal of infectious diseases 205 Suppl 2, S316-324.
- **Burrill J, Williams CJ, Bain G, Conder G, Hine AL, Misra RR (2007)** : *Tuberculosis:27:1255-1273.*

- **Canu A. Dans Gazengel J.M. et Orecchioni A.M. (2013) :** Chapitre : Microbiologie dans Le préparateur en pharmacie 2ème édition. Edition : Editions Lavoisier. p : 273-360.
- **Cole S.T. and Brosch R: (1998)**: Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. Nature Vol: 393. P: 537-544.
- **Comité médical national de lutte contre la tuberculose et les maladies respiratoires (2011)** : Manuel de la lutte antituberculeuse.
- **David P.D (1999):** clinical tuberculosis.2nd edition. new York .oxford university press.1999.744p.
- **Dautzenberg B. et Bouvet E. dans Aubier M. ; Fournier M. et Pariente R. (2003) :** Chapitre : Tuberculose et infections à mycobactéries atypiques (SIDA exclu) dans Pneumologie. Edition : Ellipses Édition Marketing. p : 349-363.
- **Denis F. Martin C. dans Denis F. ; Ploy M.C. ; Martin C. ; Bingen E. et Quentin R. (2011) Chapitre :** Mycobactéries dans Bactériologie médicale. Edition : Elsevier Masson. p : 507-535.
- **Dolin P.J., Raviglione M.C., and Kochi A. (1994):** Global Tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000. Bull. World Health Org. 72: 213-220
- **El khéchine A. ; Couderc C. ;Flaudrops C. ; Raoult D and Drancourt M. (2011):** Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of- Flight Mass Spectrometry. Identification of Mycobacteria in Routine Clinical Practice. Plose one, Volume 6, issue 9, e24720. P: 1-7.
- **ENARSON D.A., RIEDER H.L., ARNADOTTIR T. et TREBUCQ A. (2000) :** Prise en charge de la tuberculose Guide pour les pays à faibles revenus.
- **Fitzgerald D.W.; Sterling T.R. and Haas D.W. in Mandell G.L.; Bennett J.E. and Dolin R. (2010)** :Chapter : Mycobacterium tuberculosis in Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Edition: Churchill Livingstone .Elsevier. Seventh edition. Volume 1. P: 3129-3163.
- **François Denis (2007) :** Bactériologie médicale: Techniques usuelles, Marie-Cécile Ploy, Elsevier Masson, P 12.
- **Godreuil S. ; Carrière C. ; Jumas-Bilak E. ; Terru D. et Marchandin H. (2003)** Diagnostic moléculaire des infections à mycobactéries. La Lettre du Pneumologue - Volume VI – n°2.

- **GRÜNFELD J-P. (1994)** Dictionnaire de médecine. 5ème Ed. Flammarion. Paris. p 862, 863.
- **Herrmann JL, Tailleux L, Nigou J, Giquel B, Puzo G, Lagrange PH, Neyrolles O.(2006)** : The role of human dendritic cells in tuberculosis: protector or non-protector? Rev Mal Respir. . 23: 6S21-6S28.
- **JASMER RM, NAHID P, HOPEWELL PC. (2002):** Clinical practice. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med.* 2002 Dec 5; 347(23):1860-6.
- **Julie Milstien. La tuberculose. (1993) :** Organisation mondiale de la santé Genève, 1993.
- **Jean Freney, François Renaud, Willy Hansen et Claude Bollet (2000)** : Précis de bactériologie clinique, Edition ESKA 2000
- **KOUMBA Y.G. (2010) :** Synthèse d'analogues cinnamiques : inhibiteurs potentiels contre *Mycobacterium tuberculosis*.Thèse de doctorat, Université de Toulouse. 277 p.
- **LAWN SD, ZUMLA AI. Tuberculosis. *Lancet.* 2011** Jul 2;378(9785):57-72
.
- Manuel de la tuberculose (2007) : Ligue pulmonaire Suisse.
- **Mack U. Migliori GB. Sester M. Rieder HL. LTBI (2009)**: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to M. tuberculosis Eur Respir J: 33(5): 956-73.
- **MADIGAN M. et MARTINKO J. (2006)** Biologie des micro-organismes. 11ème Ed. Brock. p 864-866.
- **Mathys V. (2010) :** Contribution à la compréhension des mécanismes moléculaires de résistance de M. tuberculosisaux agents antituberculeux. Thèse en vue de l'obtention du titre de docteur en Science Biomédicales et Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles.
- **Mazza-Staldera J, Nicoda L, Janssens J.-P. (2012)** : La tuberculose extrapulmonaire. Revue des Maladies Respiratoires . 29: 566–578
- **MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (2011) :** Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies Guide de la lutte antituberculeuse.3ème Ed.

- **Rieder H L, Chonde T M, Myking H, et al.(1988):** The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. Paris : UICTMR .

- **Organisation Mondiale de la Santé (OMS) :** Site web http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/fr/

- **O'Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MP(2013)** : The immune response in tuberculosis. Annu Rev Immunol. 31:475-527.

- **Poulet S. (1994):** Organisation génomique de *Mycobacterium tuberculosis* et épidémiologie moléculaire de la tuberculose. Thèse de Doctorat. Université Paris 6. 190p.

- **PRESCOTT, HAARLEY, KLEIN, WILLEY, SHEWOOD et WOOLVERTON (2010):** Microbiology. 3ème Ed. Boeck. P 951-954.

- **Ramakrishnan L. (2012):** Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis. Nat Rev Immunol.

- **Rebahi.A et Abdi S, (2017) :** Etude épidémiologique et bactériologique de la tuberculose pulmonaire dans la wilaya de Médéa. Thèse de fin d'étude en master biologie.

- **PROCOP, G. W. (2016):** Laboratory diagnosis and susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis. Microbiol Spectrum, 4(6), TNMI7-0022

- **SOUIDI L. (2014) :** La prévalence de la tuberculose pulmonaire à Oujda-Anggad entre 2008 et 2012. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V. Rabat. N° P : 22. 201.

- **STORLA DG, YIMER S, BJUNE GA. (2008):** A systematic review of delay in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *BMC Public Health.* 2008; 8:15.

- **VARAINE F., HENKENS M. et GROUZARD V. (2010) :** Guide pratique à l'usage des médecins, infirmiers, techniciens de laboratoire et auxiliaires de Santé. 3ème Ed.

- **WHO Global Tuberculosis Report** 2015. http://www.who.int/tb/Global_TB_Facts.pdf?ua=1 **TUBERCULOSIS.**

- **Wolinsky E. in Davis B.D.; Dulbecco R.; Eisen H.N and Ginsberg H.S: (1990)** chapter: Mycobacteria in Microbiology. Edition: J. B. Lippincott Company. p: 647-663.

- **ZEHANI Djamila, 2016:** La recrudescence de la tuberculose dans le monde. Diagnostic de la maladie par l'examen microscopique des crachats a l'aide de la coloration de Ziehl Neelsen, Mémoire en master Sciences de la Nature et de la Vie, Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes**.** Constantine.

- **ZUMLA A, RAVIGLIONE MC, HAFNER R (2013):** Tuberculosis. *N Engl J Med.* Feb 20; 368(8):745-55.

.

.