



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie.

قسم : الميكروبيولوجيا.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Écologie et environnement

Spécialité : Écologie microbienne

Intitulé :

**La tuberculose pulmonaire à l'unité de la tuberculose
laboratoire de microbiologie CHU Dr. Benbadis Constantine.
Étude rétrospective de vingt mois**

Présenté et soutenu par : *AHMED BOUMAZA Khaoula*
ZERMANE Amina

Le : 09/07/2019

Jury d'évaluation :

Président du jury : *SAMRA Zahia* (Pr. – Univ 3 Constantine).

Rapporteur : *OULMI Lamia* (MCB - UFM Constantine).

Examineurs : *ALATOU Radia* (MCA - UFM Constantine).

Année universitaire
2018 - 2019

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail de mémoire de Master, nous tenons à remercier :

Tout d'abord, Madame OULMI L. ; Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri-Constantine, l'encadreur de ce mémoire, pour avoir proposé et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé est qui nous a permis de réaliser ce travail.

Nous voudrions présenter, nos remerciements et notre vive gratitude à Madame SAMRA Z. ; chef de l'unité de la tuberculose du laboratoire de Bactériologie du CHU Dr. Benbadis Constantine, pour nous avoir accueillie dans son laboratoire et d'avoir accepté de présider le jury de notre de mémoire.

Madame ALATOU R. ; Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri-Constantine, d'avoir accepté d'examiner et de valoriser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier également le personnel de l'unité de la tuberculose, qui a eu la gentillesse de nous accueillir les bras ouverts.

En fin, nous souhaitons adresser tous nos remerciements aux personnes qui nous ont apporté leur soutien et qui ont ainsi contribué à la réalisation de ce mémoire.

Résumé

La tuberculose est une maladie infectieuse potentiellement mortelle due à une bactérie dénommée *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch (BK). Le BK infecte essentiellement l'appareil respiratoire où la tuberculose pulmonaire représente un peu plus de 70 % des cas de tuberculose. Notre stage pratique de fin d'étude a été réalisé au sein de l'unité de la tuberculose au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Dr. Benbadis de Constantine. Notre objectif était de rechercher *M. tuberculosis* dans les produits pathologiques, par des méthodes conventionnelles du diagnostic bactériologique d'une tuberculose respiratoire maladie, et réalisée une étude descriptive sur une période de 20 mois. La recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants par microscopie après coloration à l'auramine (confirmation par celle de Ziehl-Neelsen), et la mise en culture sur milieu Löwenstein-Jensen constituent les méthodes de référence que nous avons employée pour son diagnostic microbiologique. À travers cette étude, nos résultats ont déclaré 104 cas de tuberculoses à localisation pulmonaire. Une légère prédominance est observée chez les femmes avec 53,84 % (n=54) contre 47,07 % chez les hommes (n=50). Les techniques traditionnelles de microscopie et de culture restent indispensables pour un diagnostic de certitude de cette maladie infectieuse. Toutefois, il serait plus utile d'introduire de nouveaux outils moléculaire (test QuantiFERON®-TB Plus qui permet la détection de l'infection latente de la TB) dans la pratique clinique de routine afin de diminuer le délai du diagnostic microbiologique, allant même jusqu'à la détection rapide de la résistance aux antituberculeux.

Le QuantiFERON®-TB Plus nous a permis de détecter 20 cas positifs sur les 92 tests réalisés dont 13 cas de sexe masculin et 7 cas de sexe féminin.

Mots clés : Tuberculose pulmonaire, *Mycobacterium tuberculosis*, bacille de Koch, diagnostic microbiologique.

Abstrat

Tuberculosis is a life-threatening infectious disease caused by a bacterium called *Mycobacterium tuberculosis* or Koch Bacillus (BK). BK essentially infects the respiratory system where pulmonary tuberculosis accounts for just than 70 % of tuberculosis cases. Our final practical part of the study internship was carried out within the unit of tuberculosis at the University Hospital Center (U.H.C) Dr. Benbadis of Constantine. Our objective was to search for *the Mycobacterium tuberculosis* of the pathological products by conventional methods of bacteriological diagnosis of a respiratory tuberculosis disease, and carried out a descriptive study over a period of 20 months. The search for the acid-fast bacilli by the microscopy after auramine staining (confirmation by that of Ziehl-Neelsen), and the culturing on Löwenstein-Jensen medium constitutes the reference methods that we used for its microbiological diagnosis. Through this study, our results reported 104 cases of pulmonary tuberculosis. A slight predominance is observed among women with 51, 92 % versus 48, 07 % for men. Traditional techniques of microscopy and culture remain for a diagnosis of certainty of this infectious disease. However, it would be more useful to introduce new molecular tools (QuantiFERON®-TB Plus test that detects latent TB infection) in routine clinical practice to reduce time for the microbiological diagnosis, ranging from even the rapid detection of TB drug resistance.

QuantiFERON®-TB Plus allowed us to detect 20 positive cases out of the 92 tests performed including 13 male cases and 7 female cases.

Key words: Pulmonary tuberculosis, *Mycobacterium Tuberculosis*, Koch's bacillus, microbiological diagnosis.

ملخص

السل هو مرض معد يهدد الحياة وينتج عن بكتيريا تدعى عصيات كوخ, تصيب الجهاز التنفسي بشكل أساسي حيث يمثل السل الرئوي أكثر من 70% من حالاته. خلال تربصنا بمخبر البكتيريا بالمركز الجامعي الاستشفائي بن باديس بقسنطينة, كان هدفنا هو التشخيص البكتيري للكشف عن *Mycobacterium tuberculosis* في العينات المرضية باستعمال الطرق الميكروبيولوجية التقليدية للتشخيص الجرثومي لمرض السل التنفسي, وإجراء دراسة تقديرية على مدى 20 شهرًا. إن البحث عن البكتيريا المقاومة للحمضيات و الكحول عن طريق الفحص المجهرى بعد تلوينها بالـ Auramine (تأكيد عن طريق Ziehl-Neelsen), و الزراعة في الوسط الانتقائي Löwenstein-Jensen تشكل الطرق المرجعية التي استخدمناها في التشخيص الميكروبيولوجي. من خلال هذه الدراسة, أفادت نتائجنا 104 حالة مرض للسل الرئوي ويلاحظ غلبة طفيفة عند النساء بنسبة 51, 92% مقابل 48, 07% للرجال. تبقى التقنيات التقليدية للمجهر ضرورية لتشخيص هذا المرض المعدي. ومع ذلك, سيكون من المفيد إدخال تقنيات جزيئية جديدة (اختبار QuantiFERON®-TB Plus الذي يكشف عدوى السل الكامنة) لتقليل وقت التشخيص الميكروبيولوجي و الكشف السريع عن المرض. ووفقًا للنتائج المتحصل عليها في هذا الاختبار قمنا بتمييز 92 حالة منها 20 حالة إيجابية حيث كانت الهيمنة في هذا الاختبار للرجال بنسبة 11, 96% و النساء بنسبة 6, 44%.

الكلمات المفتاحية : السل الرئوي , *Mycobacterium tuberculosis*, عصيات كوخ , التشخيص الميكروبيولوجي .

TABLES DES MATIERES

| | |
|-----------------------------|----------|
| Remerciement | |
| Résumé | |
| Liste des abréviations..... | i |
| Liste des figures..... | ii |
| Liste des tableaux..... | iii |
| Introduction..... | 1 |

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--|----|
| 1 L'infection tuberculeuse | 3 |
| 2 La tuberculose pulmonaire..... | 3 |
| 2-1 La primo infection tuberculeuse..... | 3 |
| 2-2 La tuberculose pulmonaire commune..... | 4 |
| 3 L'épidémiologie de la tuberculose | 6 |
| 3-1 La tuberculose est un problème de santé publique | 6 |
| 3-2 La tuberculose est une maladie à déclaration obligatoire | 6 |
| 3-3 L'épidémiologie de la tuberculose dans le monde et l'Afrique | 8 |
| 3-4 L'épidémiologie de la tuberculose en Algérie | 9 |
| 4 La tuberculose et le VIH..... | 10 |
| 5 Les mycobactéries | 10 |
| 5-1 Caractères morphologie et structuraux | 10 |
| 5-2 Caractères culturels | 12 |
| 5-3 Caractères biochimiques | 13 |
| 5-4 Caractères génétiques | 13 |
| 6 Prévention et diagnostique de la tuberculose pulmonaire | 13 |
| 6-1 La vaccination contre la tuberculose | 13 |
| 6-2 Le diagnostic de la primo-infection tuberculeuse | 14 |
| 6-3 Le diagnostic de la tuberculose pulmonaire..... | 15 |
| 6-4 Le test QuantiFERON®-TB Plus | 16 |
| 7 Le traitement de la tuberculose pulmonaire..... | 17 |
| 8 La résistante aux antituberculeux..... | 18 |
| 8-1 La tuberculose multi résistante..... | 18 |
| 8-2 La tuberculose ultra résistante..... | 20 |

MATERIELS ET METHODES

| | |
|--|----|
| 1 Le lieu et la durée de l'étude..... | 21 |
| 2 Les règles de sécurité au laboratoire de BK..... | 21 |
| 3 Le matériel biologique..... | 22 |

| | |
|---|----|
| 3-1 La réception des échantillons | 22 |
| 4 La recherche des BAAR par microscopies | 23 |
| 4-1 La préparation des frottis | 23 |
| 4-2 La coloration des frottis | 23 |
| 4-3 L'examen microscopique | 24 |
| 5 La recherche des mycobactéries par la culture | 25 |
| 5-1 Le traitement des échantillons | 25 |
| 5-2 La culture sur le milieu Lowenstein-Jensen..... | 25 |
| 6 Le test QuantiFERON®-TB Plus..... | 26 |
| 6-1 Le protocole de prélèvement | 26 |
| 6-2 La recherche des infra gamma..... | 26 |
| 6-3 Analyse des résultats..... | 28 |
| 7 L'étude rétrospective descriptive | 29 |

RESULTATS ET DISCISSION

| | |
|--|-----------|
| 1 Répartition des échantillons selon leur structures d'envoi..... | 31 |
| 2 Résultats de l'examen microscopique | 31 |
| 3 Résultats des cultures sur L-J..... | 33 |
| 4 Paramètres épidémiologique de la population étudiée | 35 |
| 4-1 Répartition des cas positifs selon leur structures d'envoi | 35 |
| 4-2 La prévalence de la tuberculose pulmonaire | 36 |
| 4-3 Répartition des cas positifs selon le sexe | 37 |
| 4-4 Répartition des cas positifs selon la charge des BAAR et le sexe..... | 37 |
| 4-5 Étude comparative | 39 |
| 4-5-1 Comparaison du dernier quadrimestre des deux années 2017 et 2018 | 39 |
| 4-5-2 Comparaison du premier quadrimestre des deux années 2018 et 2019 | 39 |
| 5 Le test QuantiFERON ®..... | 40 |
| CONCLUSION..... | 42 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 44 |

ANNEXES

Liste des abréviations

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.
BAAR : Bacille Acido-Alcool Résistante.
BCG : Bacille Calmette et Guérin.
BGS : Biron groupe santé.
BK : Bacilles de Koch.
CFP-10 : Culture Filtrate Protein 10.
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.
CSH : Conseil supérieur d'hygiène.
CV : coefficient de variation.
DO : Déclaration obligatoire.
DO : Densité optique :
DSP : Direction de la santé et de la population de la wilaya.
DV : Diluant vert.
ESAT-6 : Early Secretory Antigenic peptide-6.
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.
HUS : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg.
IDR : Intradermo-réaction.
IFN- γ : Interféron γ .
InSP : l'Institut national de santé publique.
L-J : Löwenstein-Jensen.
MDR-TB : Tuberculose multi résistante.
MSPRH : Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.
MSS : Ministère des solidarités et de la santé.
MT : Médecine Tropicale.
ODD : Objectifs de développement durable.
OMS : Organisation mondiale de la santé.
PAS : Para-aminosalicylic acid (acide para-aminosalicylique).
PV VIH : Personnes Vivant avec le VIH.
QFT-plus : QuantiFERON®-plus.
TB-UR : Tuberculose ultra-résistante.
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.
XDR-TB : Extensive drug resistance.
ZN : Ziehl-Neelsen.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Évolution d'une tuberculose pulmonaire..... | 4 |
| Figure 2 : Développement de la tuberculose pulmonaire commune..... | 5 |
| Figure 3 : Mode de transmission majeure interhumaine de la tuberculose..... | 6 |
| Figure 4 : La tuberculose dans le monde 2016..... | 9 |
| Figure 5 : L'aspect microscopique des bacilles de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> après coloration de Ziehl-Neelsen | 11 |
| Figure 6 : Examen microscopique d'une culture en milieu liquide (bactec 7H12)..... | 11 |
| Figure 7 : Structure membranaire des <i>Mycobactérium tuberculosis</i> | 12 |
| Figure 8 : Aspect des colonies de l'espèce <i>M. tuberculosis</i> sur le milieu solide L.J..... | 12 |
| Figure 9 : Les différentes lésions de la tuberculose pulmonaire commune..... | 15 |
| Figure 10 : Les quatre tubes réactifs du test QuantiFERON-TB Gold plus..... | 17 |
| Figure 11 : Les 27 pays avec le nombre majeur de cas de MDR-TB..... | 19 |
| Figure 12 : Les pays qui ont au moins un cas de XDR-TB avant fin mars 2011..... | 20 |
| Figure 13 : Hotte de sécurité bactériologique, Air dépoussiéré stérile laminaire (ADS LAMINAIRE)..... | 21 |
| Figure 14 : Récipient de prélèvement des crachats..... | 22 |
| Figure 15 : L'automate de coloration des frottis à l'auramine (RAL stainer)..... | 23 |
| Figure 16 : Microscope à fluorescence, ZEISS Axioskop dans la chambre noir..... | 24 |
| Figure 17 : La lecture en créneau de la lame après coloration de Ziehl- Neelsen..... | 25 |
| Figure 18 : Préparation des dilutions fraîches du standard de kit pour chaque session ELISA..... | 27 |
| Figure 19 : Configuration d'échantillons recommandée pour les tubes de valeur zéro, antigène TB et mitogène | 27 |
| Figure 20 : Appareils utilisées dans la préparation des plaques ELISA..... | 27 |
| Figure 21 : Le nombre d'échantillons réceptionnés au niveau de l'unité de BK durant les 20 mois d'étude..... | 30 |
| Figure 22 : Le nombre d'échantillons examiné durant les 20 mois d'étude selon le service hospitalier d'envoi..... | 31 |
| Figure 23 : Résultats de l'examen microscopique des frottis après coloration de Z.N Grossissement x100..... | 32 |
| Figure 24 : Aspects des cultures sur milieux Lowenstein-Jensen après 42 jours d'incubation à 37° C..... | 34 |

| | |
|---|----|
| Figure 25 : Répartition des cas positifs, durant les 20 mois d'étude, selon leur structure d'envoi..... | 35 |
| Figure 26 : Répartition des cas positifs par rapport au nombre reçu des échantillons selon leur structure d'envoi..... | 36 |
| Figure 27 : Répartition des cas positifs selon le sexe..... | 37 |
| Figure 28 : La répartition des cas positifs selon la charge des BAAR et le sexe..... | 38 |
| Figure 29 : Comparaison du nombre de cas positifs selon le sexe durant les quatre dernier mois des années 2017 et 2018..... | 38 |
| Figure 30 : Comparaison du nombre de cas positifs selon le sexe durant les quatre premiers mois des années 2018 et 2019..... | 39 |
| Figure 31 : Résultats du test QTF-plus au niveau du C.H.U..... | 40 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : groupes d'antibiotiques utilisés pour le traitement de la MDR-TB selon l'OMS..... | 19 |
| Tableau 2 : Utilisation des tubes de valeur zéro, antigène TB et mitogène..... | 29 |
| Tableau 3 : Résultats de l'examen microscopique par mois obtenus après coloration de Z-N des échantillons pulmonaires..... | 33 |
| Tableau 4 : Résultats des examens microbiologique sur une période de 20 mois..... | 34 |
| Tableau 5 : Expression des résultats de l'examen microscopique | 38 |

Introduction

La tuberculose est une maladie infectieuse potentiellement mortelle due à une bactérie dénommée *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch (BK), du nom du médecin qui l'a découverte en 1882. Le BK infecte essentiellement l'appareil respiratoire où la tuberculose pulmonaire représente un peu plus de 70% des cas de tuberculose.

Dans son rapport annuel, publié en 2018, par la revue internationale des Médecines Tropicales (MT) sur la lutte contre la tuberculose dans le monde annonce que pour l'année 2017, il ya eu dix millions de nouveaux cas estimés de tuberculose (toute formes confondus) à travers le monde contre 10,4 millions cas en 2016. Le rapport montre également un pourcentage de 90 % des cas sont des adultes et 9 % des cas sont des personnes vivant avec le VIH (PVVIH). Huit pays représentent les deux tiers de la charge totale : l'Inde, la Chine, l'Indonésie, les Philippines, le Pakistan, le Nigeria, le Bangladesh et l'Afrique du Sud. 1,6 million de personnes sont décédées en 2017 (1,7 million en 2016), dont 1,3 million à VIH négatif et 300000 co-infectées avec le VIH) (Aubry *et al.*; 2018).

En Algérie, la tuberculose reste à nos jours un problème de santé publique malgré les efforts de prévention ainsi la gratuité des traitements. En 2017, sur les 22746 cas de tuberculose déclarés, 7389 cas (33,5 %) étaient des cas de tuberculose pulmonaire, dont 6011 cas de tuberculose contagieuse (OMS, 2018).

L'objectif général du programme national de la lutte antituberculeuse est de réduire la transmission du bacille de la tuberculose dans la population algérienne, et donc diminuer progressivement le taux de morbidité et de mortalité liée à la tuberculose jusqu'à ce que cette dernière ne représente plus un problème majeur de santé publique (MSPRH, 2011).

À la lumière de ces informations nous avons étudié cette pathologie infectieuse, voir son diagnostic microbiologique, et son profil épidémiologique. Toutefois, nous nous sommes plus précisément intéressés à l'agent infectieux en cause afin de se familiariser avec son aspect bactériologique, sa transmission, son pouvoir pathogène et les techniques permettant son identification.

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 (coloration à l'auramine, coloration confirmative de Z-N et un examen de

certitude sur milieu L-J) plus des nouveaux tests moléculaires (test QuantiFERON®-TB Plus qui détecte l'infection latente de la TB chez les patients immunodépresseurs) impliqués dans ce qui est appelé : diagnostic microbiologique .

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, rechercher *M. tuberculosis* dans les produits pathologiques réceptionnés au niveau de l'unité de la tuberculose du laboratoire de Bactériologie du Centre-Hospitalo-Universitaire Dr. Benbadis Constantine, en faisant appel aux méthodes conventionnelles du diagnostic bactériologique d'une tuberculose maladie.

En second lieu, réaliser une étude sur une durée de 20 mois (du dix septembre 2017 au 30 avril 2019) afin d'estimer la prévalence de la maladie sur le total des patients suspectés d'être atteints de tuberculose durant cette période.

Étude bibliographique

1 L'infection tuberculeuse

Le 24 mars 1882, le médecin et microbiologiste allemand Robert Koch annonce à la société physiologique de Berlin la découverte de l'agent étiologique de la tuberculose (Outbrain, 2012).

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par *Mycobacterium tuberculosis*, un mince bacille aérobic obligatoire. Cette bactérie aussi appelée bacille de Koch (BK), du nom du médecin qui la découvre, se développe lentement (son temps de génération est de 20 heures ou plus) ; elle forme par fois des filaments et a tendance à croître en amas (Tortora *et al.* ; 2003).

L'infection tuberculeuse résulte de la première pénétration des BK dans un organisme indemne de tout contact antérieure (Huchon, 1994). Chez une personne en bonne santé, l'infection à *Mycobacterium tuberculosis* est souvent asymptomatique car le système immunitaire «emprisonne» le bacille. Lorsqu'elle se déclare, la tuberculose pulmonaire se manifeste par une toux, parfois productive ou sanglante, des douleurs thoraciques, une asthénie, une perte de poids et des sueurs nocturnes. Il est possible de traiter la tuberculose par la prise d'antibiotiques (OMS, 2019).

Selon la localisation du pathogène on distingue deux grands groupes d'infection à BK. La plus fréquente est la tuberculose pulmonaire avec 70 % des cas, elle touche essentiellement les poumons (Ait-Khaled *et al.* ; 2010). La moins fréquente est la tuberculose extra-pulmonaire avec environ 25 % des cas (Bouheraoua, 2013).

2 La tuberculose pulmonaire

2-1 La primo infection tuberculeuse

La primo-infection tuberculeuse est le résultat de la première contamination par le bacille tuberculeux. Le bacille se développe dans les poumons et forme une sorte de petite zone infectée qu'on appelle le "chancre tuberculeux", ou "chancre de primo-infection" (figure 1). Les ganglions lymphatiques médiastin, situés au milieu du thorax et reliés à cette lésion, réagissent au bacille et grossissent (Cazivassilio, 2018).

Ce chancre est une petite masse pleine de bacilles de Koch ; où se forme du pus qui ressemble à du lait caillé, le caséum, qui ensuite se calcifie. Cela rend la séquelle bien visible sur les radiographies du poumon. Dans 10 % de cas la primo-infection ne guérit pas (Cazivassilio, 2018).

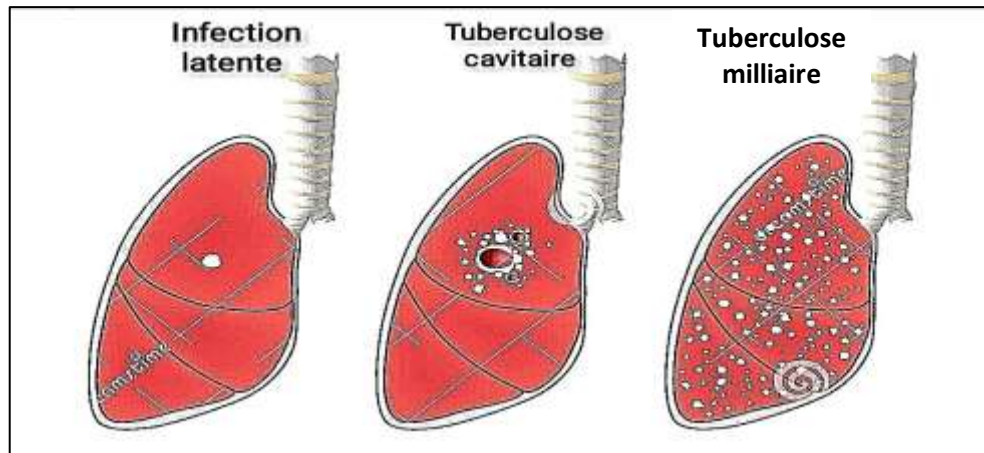


Figure 1 : Évolution d'une tuberculose pulmonaire. fr.dreamstime.com.

La primo-infection tuberculeuse, consécutive à l'inhalation du BK et à son implantation dans les alvéoles pulmonaires, est généralement asymptomatique et la personne infectée n'étant pas contagieuse. Dans 90 % des cas, les défenses immunitaires de l'individu sont suffisantes pour empêcher la multiplication et la dispersion des BK dans son corps, ce qui se traduit par une réaction tuberculique positive. Dans 10 % des cas, l'infection devient patente. C'est la tuberculose maladie ou la tuberculose primaire : généralement 5 % des personnes infectées développeront la maladie dans les deux ans qui suivent l'infection, les 5 % restants à n'importe quel moment de leur vie. Il convient néanmoins de souligner que ce risque augmente en cas d'immunodépression induite par l'infection au VIH ou en relation avec d'autres conditions pathologiques (rougeole, diabète, cancer de la tête ou du cou, alcoolisme, par exemple). Contrairement à la majorité des maladies infectieuses, l'infection et la maladie, dans le cas de la tuberculose, ne sont pas des processus simultanés (Buchillet, 2001).

2-2 La tuberculose pulmonaire commune

C'est l'infection du parenchyme pulmonaire par le bacille de Koch réalisant le plus souvent une atteinte infiltrative et/ou ulcérée. Elle est caractérisée essentiellement par des signes cliniques durables depuis plus du 15^{ème} jour d'infection, des signes radiologiques et biologiques (Nacef, 2019).

La prémunition qui se développe après la récupération d'une infection primaire n'est pas toujours suffisante pour débarrasser le corps humain des BK. Ceux-ci peuvent hiberner dans l'organisme et la tuberculose-maladie apparaîtra à partir de foyers tuberculeux silencieux, contemporains de l'infection primaire, après un temps variable,

souvent de plusieurs années. C'est la réactivation endogène. Celle-ci peut survenir à l'occasion d'une baisse des défenses immunitaires. C'est ce qui se passe chez les gens âgés quand la maladie apparaît loin ou en dehors de tout contact avec des personnes infectées, ou chez les individus immunodéprimés notamment chez les patients infectés par le VIH (Buchillet, 2001).

Une tuberculose plus tardive peut enfin se développer à partir d'une nouvelle exposition aux bactéries. C'est la réinfection exogène. Dans les deux cas, l'individu développera ce que l'on dénomme tuberculose post primaire qui peut affecter n'importe quelle partie du corps, mais surtout les poumons.

La tuberculose-maladie peut ainsi se développer par trois mécanismes : progression de l'infection en maladie, réactivation endogène et réinfection exogène (figure 2).

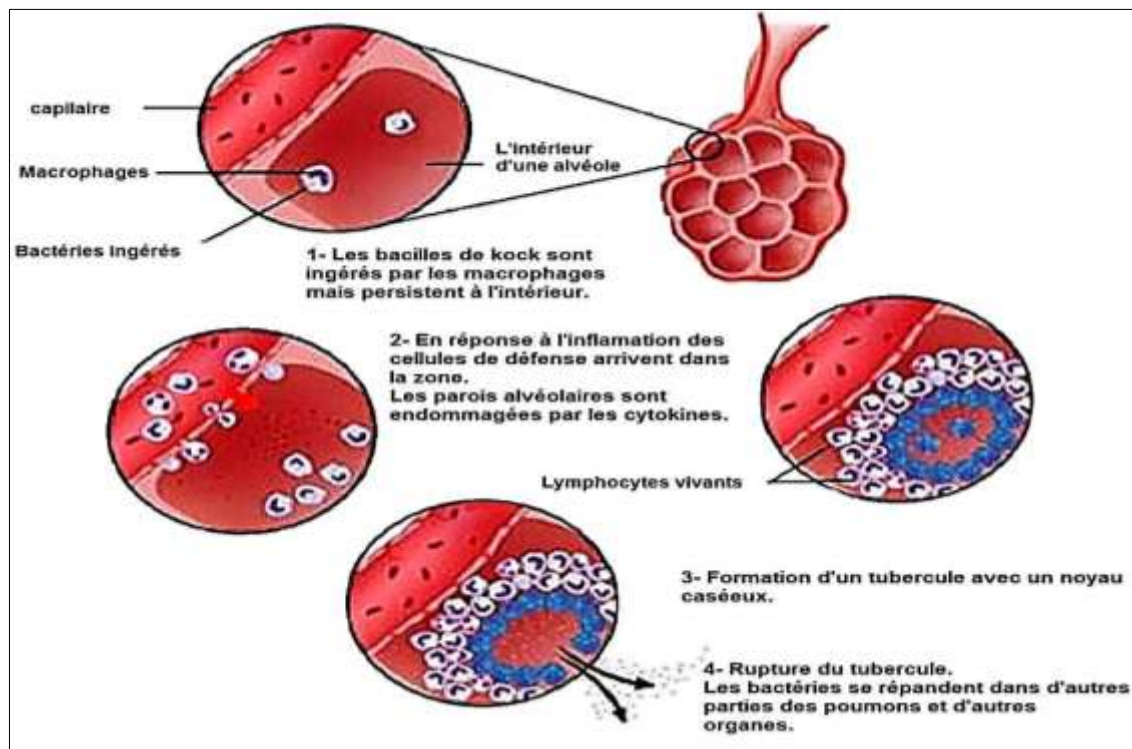


Figure 2 : Développement de la tuberculose pulmonaire commune.
fr.dreamstime.com

La tuberculose pulmonaire est la principale forme responsable de la transmission des BK. Les symptômes de la tuberculose pulmonaire sont bien connus. Certains sont assez évocateurs, telles la toux prolongée (de plus de trois semaines), l'expectoration ou encore l'hémoptysie. Fatigue et faiblesse sont aussi des plaintes communes. Le malade peut également présenter amaigrissement, perte de l'appétit, fièvre nocturne de faible intensité, douleur thoracique, transpiration nocturne et tremblements (Buchillet, 2001).

3 L'épidémiologie de la tuberculose

3-1 La tuberculose est un problème de santé publique

M. tuberculosis se transmet par les micro-sécrétions mises en suspension dans l'air par une personne malade de tuberculose pulmonaire, notamment lorsqu'elle tousse, parle, chante ou éternue. La transmission nécessite habituellement des contacts prolongés rapprochés (MSS, 2017).

L'inhalation d'un petit nombre de gouttelettes contaminées suffit à infecter un individu (figure 3). Une personne tuberculeuse non traitée peut infecter de 10 à 15 personnes en moyenne chaque année (MSS, 2017).

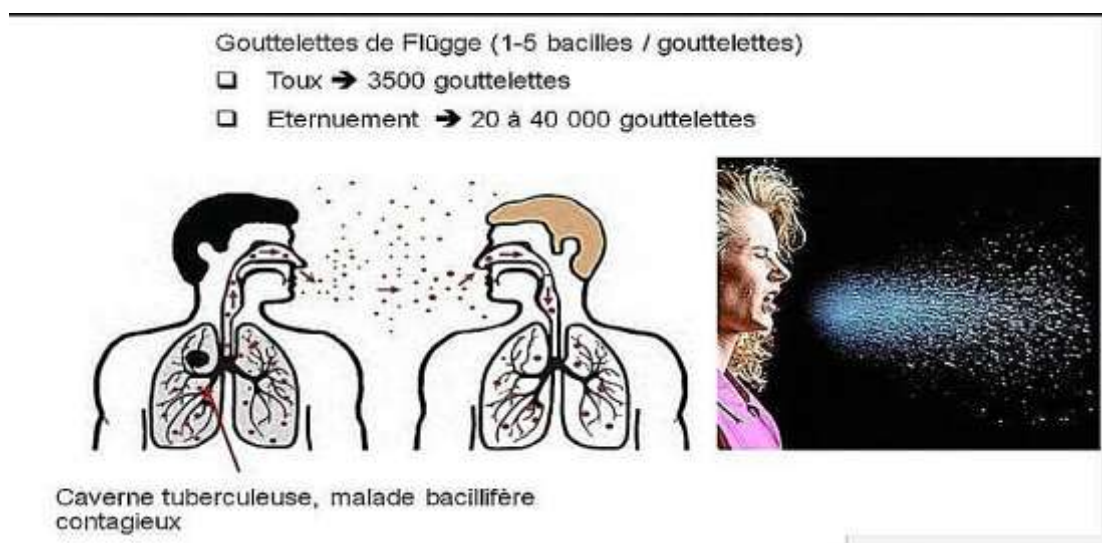


Figure 3 : mode de transmission majeure interhumaine de la tuberculose. campuss.cerimes.fr

La tuberculose constitue, à l'échelle mondiale, un sérieux problème de santé publique. L'OMS estimait ainsi qu'en 1993, un tiers de la population mondiale (soit 1,7 milliard de personnes) était infecté par le bacille de Koch dont, chaque année, environ 8,8 millions de personnes développeront la maladie et trois millions mourront (Buchillet, 2001).

3-2 La tuberculose est une maladie à déclaration obligatoire

L'identification rapide des cas de tuberculose maladie et leur prise en charge appropriée restent les éléments les plus importants de la lutte antituberculeuse. Ils permettent de limiter la transmission de l'infection dans la communauté tout en prévenant le développement de la résistance aux médicaments antituberculeux. La

surveillance de la tuberculose s'appuie principalement sur la déclaration obligatoire (Ministère Français, 2018).

La surveillance du programme national de lutte contre la tuberculose est assurée par la direction de la prévention, programme national antituberculeux, en liaison avec l'Institut National de Santé Publique (surveillance de la déclaration des cas) et avec l'Institut Pasteur d'Algérie (Laboratoire national de référence pour les Mycobactéries, chargé des enquêtes de prévalence de la résistance bactérienne et de l'organisation du contrôle de qualité des laboratoires) (Manuel de programme national de lutte antituberculeux, 2011).

Pour contrôler les risques d'épidémie et renforcer le pilotage en matière de santé publique, une trentaine de maladies doivent obligatoirement être déclarées par les médecins et les laboratoires de biologie médicale publics et privés. La déclaration doit être faite au médecin de la direction de la santé et de la population de la wilaya (DSP) du lieu d'exercice et à l'Institut national de santé publique (InSP) (Manuel de programme national de lutte antituberculeux, 2011).

Tout signe de diagnostic clinique faisant suspecter une des maladies à déclaration obligatoire doit sans délai faire l'objet d'un signalement par le médecin et/ou le biologiste par Fax. Le signalement se fait à l'attention du médecin de la DSP du lieu d'exercice. Il lui permet de réagir rapidement et de mettre en place les mesures de prévention individuelle et collective autour des cas, et si nécessaire, de déclencher des investigations pour identifier l'origine de la contamination et agir pour la réduire (Manuel de programme national de lutte antituberculeux, 2011).

Le but est de mettre rapidement en place une ou des actions (locale, nationale ou internationale). Le médecin ou le biologiste qui dispose d'un diagnostic confirmé (clinique et biologique) d'une maladie à déclaration obligatoire doit transmettre une fiche de notification spécifique à chaque maladie (rougeole, mésothéliome, diphtérie, tuberculose, etc.) (annexe 1) à la DSP qui la transmet ensuite à l'InSP. Cette notification comprend les données individuelles nécessaires à la surveillance épidémiologique : le nom, le prénom et l'adresse du déclarant, le numéro d'anonymat du patient, les informations destinées à la surveillance épidémiologique. Le déclarant transmet la fiche par Fax, La notification exige, dans la plupart des cas, la confirmation du diagnostic biologique et sert à des fins de surveillance et de contrôle épidémiologique. (Manuel de programme national de lutte antituberculeux, 2011).

3-3 L'épidémiologie de la tuberculose dans le monde et l'Afrique

Le rapport 2018 des Médecines Tropicales (MT) sur la lutte contre la tuberculose dans le monde, et qui donne les chiffres pour l'année 2017, révèle de meilleurs chiffres que l'année précédente. Il y a eu en 2017, dix millions de nouveaux cas estimés de tuberculose à travers le monde contre 10,4 millions en 2016. Sur les dix millions, 5,8 millions sont des hommes, 3,2 des femmes et un million des enfants. Il montre également un pourcentage de 90 % d'adultes de plus de 15 ans et 9 % des Personnes Vivant avec le VIH (PVVIH). Huit pays représentent les deux tiers de la charge totale : l'Inde, la Chine, l'Indonésie, les Philippines, le Pakistan, le Nigeria, le Bangladesh et l'Afrique du Sud. 1,6 million de personnes sont décédées en 2017 (1,7 million en 2016) (figure 4), dont 1,3 million VIH négatif et 300 000 co-infectées avec le VIH (Aubry *et al.* ; 2018).

Le nombre des nouveaux cas varie avec les revenus de la population : 10/100 000 habitants dans la plupart des pays à haut revenu, 150 à 400/100 000 habitants dans la plupart des 30 pays à haute endémicité, et jusqu'à 500/100 000 dans quelques pays du Sud. D'autre part, le rapport de l'MT expose 23 % de la population mondiale a une tuberculose latente, et est donc à risque de développer une tuberculose active (Aubry *et al.* ; 2018).

Des progrès notables sont donc signalés dans le rapport 2017. Le taux d'incidence a baissé de 2 % par an dans le monde, depuis 2000. Il a baissé de 4 % par an de 2013 à 2017 dans la région africaine, où le déclin a été l'un des plus rapides. Pendant la même période, il y a eu une diminution de 4 à 8 % dans les pays du sud de l'Afrique (Aubry *et al.* ; 2018).

Au total, environ 54 millions de vie ont été sauvées entre 2000 et 2017. Mais, sur les dix millions de nouveaux cas de tuberculoses estimés en 2017, seuls 6,4 millions ont été diagnostiqués et officiellement notifiés, ce qui veut dire que 3,6 millions de cas ne l'ont pas été et donc pas traités (Aubry *et al.* ; 2018).

Pour y parvenir à une réduction maximal de la maladie, il faut une détection et un traitement précoces, une prévention des populations à risque, la vaccination par le BCG du nourrisson à la naissance (OMS, 2014).

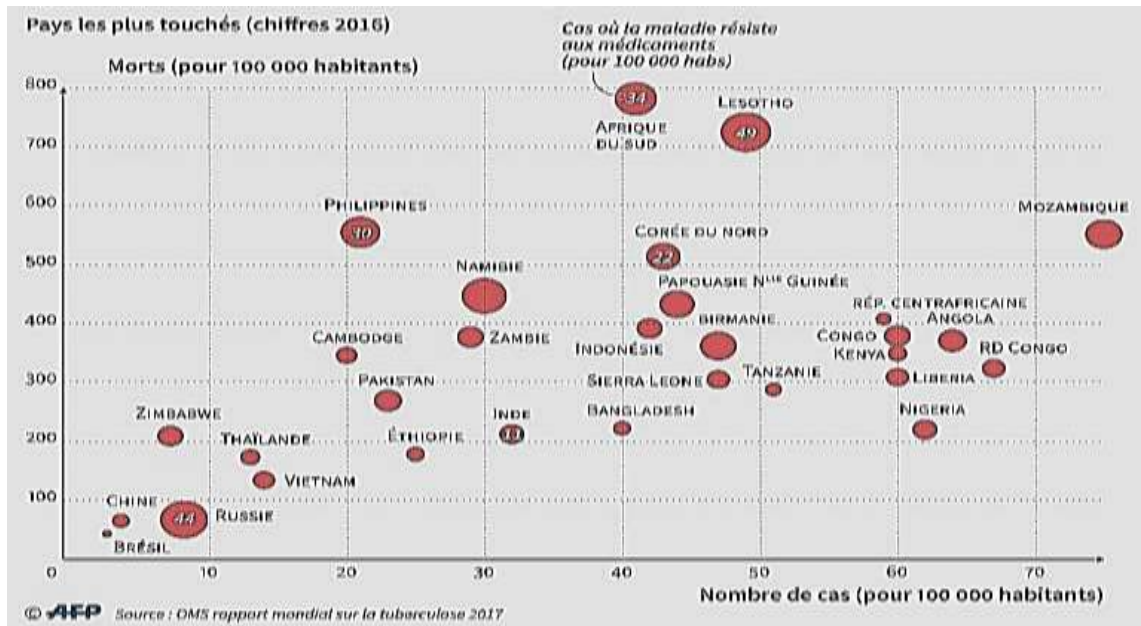


Figure 4 : la tuberculose dans le monde 2016 (OMS, 2017).

3-4 L'épidémiologie de la tuberculose en Algérie

L'épidémiologie de la tuberculose est largement influencée par les conditions de la vie et l'application des mesures techniques de la lutte contre la tuberculose.

En Algérie la situation épidémiologique a évolué en plusieurs étapes, suivant le développement des conditions socioéconomiques générales et des conceptions mondiales de la lutte contre la tuberculose (Alihalassa, 2018).

Dans notre pays, plusieurs périodes de l'évolution de situation épidémiologique de la tuberculose ont été identifiées et qui correspondent à des changements socioéconomique ou à la prise en charge de la maladie.

Avant l'indépendance, l'incidence de la tuberculose tournait autour de 300 cas pour 100000 habitants. Au lendemain de l'indépendance et jusqu'à la fin des années 80, il y a eu une réduction considérable du risque annuel de l'infection, de la morbidité liée à la maladie et la régression spectaculaire de la tuberculose de l'enfant.

À partir de 1990, la courbe de l'évolution de la tuberculose connaît une stagnation puis une élévation de l'incidence de la tuberculose à cause de nombreux problèmes. À partir de l'année 2000, la relance des activités du programme antituberculeux a permis de constater une régression de l'incidence des cas de tuberculose pulmonaire contagieuse qui décline au-dessous du seuil de 17 cas pour 100 000 habitants en 2016. (Alihalassa, 2018).

En 2017, sur les 22746 cas de tuberculose déclarés, 7389 cas (33,5 %) étaient des cas de tuberculose pulmonaire, dont 6011 cas de tuberculose contagieuse (OMS, 2018).

4 La tuberculose et le VIH

Les sujets infectés par la tuberculose et également par le VIH ont 20 à 30 fois plus de risque de développer une tuberculose évolutive que les autres. La tuberculose et le VIH forment une association meurtrière, chacun accélérant l'évolution de l'autre. En 2016, environ 0,4 million de personnes sont mortes d'une tuberculose associée au VIH. Environ 40 % des décès parmi les personnes vivant avec le VIH ont été dus à la tuberculose en 2016. Cette même année, on estime qu'il y a eu 1,4 million de nouveaux cas de tuberculose chez des séropositifs pour le VIH, dont 74 % vivaient en Afrique (OMS, 2018).

5 Les mycobactéries

Les mycobactéries appartiennent à l'ordre des Actinomycetales où la famille des Mycobacteriaceae ne comporte qu'un seul genre, le genre *Mycobacterium*. Cette famille est caractérisée par une propriété tinctoriale essentielle : l'acido-alcoolo-résistance. Cette dernière est due à la richesse de leur paroi en lipides qui les rend imperméables aux colorants usuels mais qui fixe intensément les colorants alcalins comme la fuchsine basique et s'oppose à leur décoloration après un traitement conjoint par l'acide et l'alcool. Toutes les mycobactéries sont des BAAR, mais toutes les bactéries acido-résistantes ne sont pas des mycobactéries (Carbonelle *et al.* ; 2003).

5-1 Caractères morphologie et structuraux

La morphologie des mycobactéries varie de la forme coccoïde à celle en bâtonnet (0,3 à 0,6 µm de large et 0,5 à 6 µm de long). Les bacilles sont immobiles, et non sporulés (Good and Shinnick, 1998).

L'appellation *Mycobacterium* est due à la croissance en pseudo mycélium rudimentaire dans certaines conditions (Manuel de bergey, 2015). La propriété bien connue du genre est la capacité de leur paroi cellulaire à résister à la décoloration avec l'acide dilué dans de l'alcool après coloration spécifique d'où le terme de bacille acido-alcoolo-résistant (BAAR). La figure si dessous illustre l'aspect microscopique de *Mycobacterium tuberculosis* après coloration de Ziehl-Neelsen. La bactérie se présente

comme un bâtonnet rouge de 1µm de long sur 0,2 µm de large, légèrement incurvé, à extrémités arrondies.

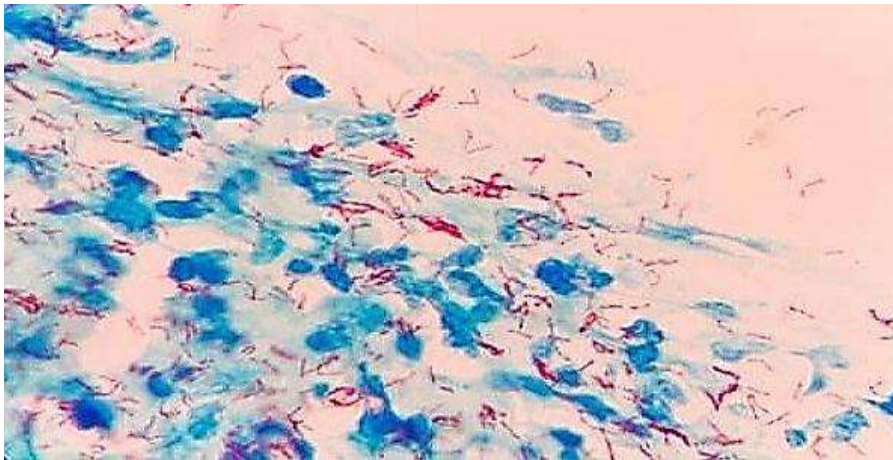


Figure 5 : L'aspect microscopique des bacilles de *Mycobacterium tuberculosis* après coloration de Ziehl-Neelsen (microscope optique objectif d'immersion) www.123rf.com

Si le frottis a été confectionné avec une culture en milieu liquide, après coloration les bacilles se présentent sous forme d'amas formant un aspect de corde ou de moustache (figure 6) (Carbonelle *et al.* ; 2003).

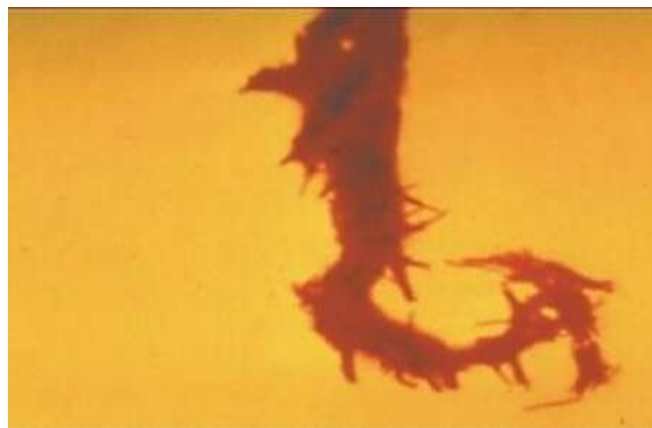


Figure 6 : Examen microscopique d'une culture en milieu liquide (bactec 7H12). Le groupement particulier « en cordes » évoque *M. tuberculosis* (Bédossa, 2003).

Une autre caractéristique des mycobactéries est sa forte teneur en lipides dans la paroi cellulaire. L'épaisseur de la paroi cellulaire est unique en son genre, elle est composée de quatre couches, dont la première est la plus inerte et est constituée de peptidoglycane (figure 7). Les trois autres couches sont composées de lipides sous différentes formes d'acides mycosiques et de glycolipides. La paroi représente jusqu'à 60 % de la matière sèche de la bactérie. Cette caractéristique de la paroi contribue à résister à l'action des agents chimiques (base et acide) et à sa nature hydrophobe qui favorise le flottement de l'organisme à la surface de milieu hydrique. La paroi intégrale

est relativement imperméable à de fortes concentrations de base, mais elle devient pénétrable, lorsque la solution basique est associée au phénol (Jawetz *et al.* ; 1968).

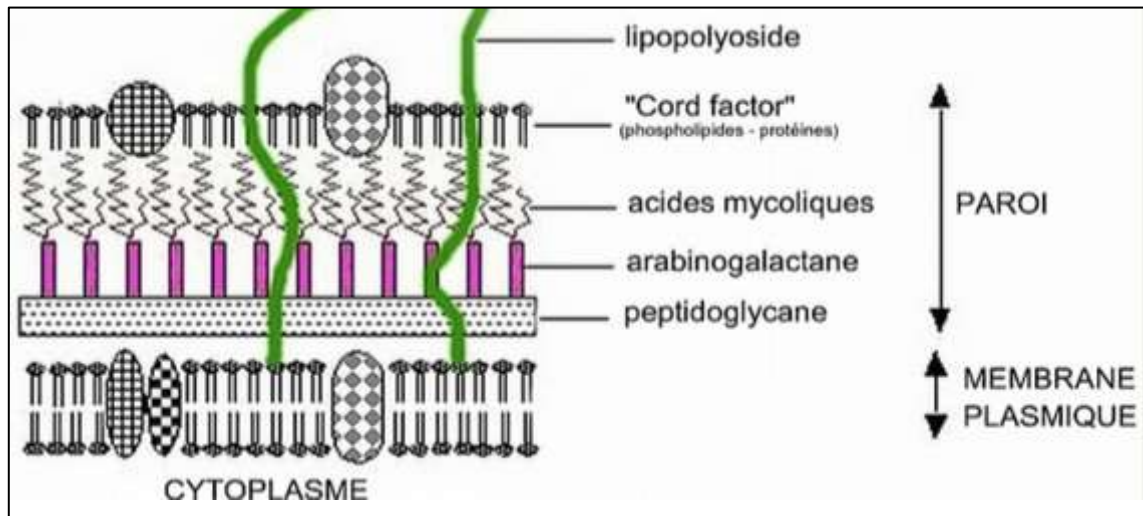


Figure 7 : Structure membranaire des *Mycobactérium tuberculosis*. microbiologiemedicale.fr

5-2 Caractères cultureux

M. tuberculosis est aérobic stricte, cultive entre 30° C et 40° C avec une température optimale à 35°-37° C et à pH 6,7 - 6,9. Son isolement sur milieu de Lowenstein-Jensen additionné de 0,75 % de glycérine est très lent.

Sur ce milieu, les colonies qui se développent en trois à quatre semaines. Elles ont un aspect caractéristique (figure 8). Si le milieu est bien aéré, elles sont sèches, verruqueuses (rugueuses), en «chou fleur». Elles peuvent atteindre cinq à dix millimètre de diamètre d'où elles sont dites eugéniques. Elles sont de couleur crème, se détachent facilement du milieu de culture et se dispersent mal dans l'eau.



Figure 8 : Aspect des colonies de l'espèce *M. tuberculosis* sur le milieu solide L.J. www.microbiologyinpictures.com

Sur le même milieu, la morphologie des colonies varie de lisse à rugueuse selon les espèces décrites du genre *Mycobacterium*.

5-3 Caractères biochimiques

Un ensemble de caractères biochimiques et enzymatiques constitue des caractères distinctifs de l'espèce *M. tuberculosis* permettant son identification au sein du genre, notamment : la production d'acide nicotinique ou niacine, la présence de la nitrate réductase, de la catalase et de l'uréase, la résistance à l'hydrazide de l'acide thiophène 2-carboxylique (TC) et la sensibilité au pyrazinamide (Decoster *et al.* ; 2018).

5-4 Caractères génétiques

La séquence complète du génome de *M. tuberculosis* H37Rv a été publiée en 1998. Le génome contient $4,4 \cdot 10^6$ paires de bases et se caractérise par une teneur en guanine et cytosine (G+C) élevée (66 %). Les *M. tuberculosis*, comme les autres mycobactéries à croissance lente, possèdent une seule copie de l'opéron ribosomal qui est éloigné de 1 M pb de l'origine de réplication *oriC*. Leur génome est caractérisé par un grand nombre de gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras (8 % du génome environ) : il en contient 250, ceci est vraisemblablement lié à la capacité de *M. tuberculosis* à synthétiser des acides gras, des plus simples comme l'acide palmitique aux plus complexes comme les acides mycoliques qui entrent dans la composition de sa paroi (Cole *et al.* ; 1998).

6 Prévention et diagnostic de la tuberculose pulmonaire

6-1 La vaccination contre la tuberculose

Le vaccin Bacille de Calmette et Guérin (BCG) est un vaccin vivant atténué, dérivant de la souche de Calmette et Guérin. Il se présente sous forme lyophilisée (poudre cristalline blanche peut être difficile à voir car la quantité de poudre dans le flacon est faible) en flacons multi doses (10 et 20 doses) de vaccin et accompagné d'une ampoule de solvant (une solution incolore sans particules visibles) permettant la reconstitution du vaccin. La conservation du vaccin est entre +4° et +8° C, à l'abri de la lumière. Une fois reconstitué par dissolution dans le solvant, il doit être

utilisé dans les deux heures qui suivent sa reconstitution. Au-delà de deux heures, le vaccin reconstitué doit être détruit (MSPRH, 2014).

Après reconstitution, la composition qualitative et quantitative du vaccin est comme suit : pour les adultes et les enfants âgés de 12 mois et plus, une dose équivalente à 0,1 ml contient du BCG (*Mycobacterium bovis* souche danoise 1331) vivante atténuée $2-8 \cdot 10^5$ UFC. Pour les enfants de moins de 12 mois, une dose équivalente à 0,05 ml contient $1-4 \cdot 10^5$ UFC (ANSM, 2009).

Le vaccin BCG doit être administré à :

- tous les nouveaux nés viables dans une maternité d'hôpital, de polyclinique urbaine ou rurale et de clinique privée quel que soit leur poids de naissance avant la sortie de la maternité.

- tous les enfants nés à domicile, qui doivent être présentés par leurs parents spontanément ou sur convocation de la commune qui les a inscrits sur les registres de l'état civil, au centre de vaccination le plus proche, durant le premier mois qui suit la naissance ;

- tous les enfants de 0 à 14 ans révolus, non porteurs de cicatrice vaccinale, lorsqu'ils se présentent dans une structure sanitaire ;

- tous les enfants en première année de scolarisation, non porteurs d'une cicatrice vaccinale, au cours des examens systématiques par les services de la santé scolaire. Dans tous les cas, la vaccination est faite sans tests tuberculiques préalable (MSPRH, 2014).

Le contrôle de la tuberculose est basé sur le diagnostic précoce qui est important afin de limiter leur transmission.

6-2 Le diagnostic de la primo-infection tuberculeuse

Il repose sur l'observation d'un virage récent des réactions cutanées à la tuberculine. Le test consiste à introduire dans le derme une petite quantité de tuberculine, qui est un produit de la lyse de bacilles tuberculeux (donc de bacilles tués non virulents).

Le test est le plus souvent pratiqué à l'aide d'une bague tuberculique (multi-test) mais le test de référence est « l'intradermo-réaction à la tuberculine » : il consiste en l'injection intradermique stricte de 0,1 ml de tuberculine purifiée à 10 unités. Une réaction inflammatoire locale est observée 48 à 72 heures plus tard en cas de test positif

(témoignant de l'hypersensibilité à médiation cellulaire). Il s'agit d'une élévation rouge de la peau (papule) d'au moins 10 mm (5 mm en cas d'immunodépression).

Le test peut être faussement positif en cas de lésions de grattage ou de surinfection ou plus simplement par suite d'une confusion entre une simple rougeur locale (érythème) et une papule. Il peut être faussement négatif au début de la maladie car il y a un intervalle libre de 6 à 8 semaines entre le début de l'infection et l'acquisition de la réaction immunitaire. D'autre part, certaines maladies (dites « anergisantes ») peuvent négativé transitoirement le test (grippe, rougeole, sarcoïdose) de même que certains médicaments (immunosuppresseurs) et un amaigrissement extrême, sans parler bien sûr d'une mauvaise technique (Young, 2018).

6-3 Le diagnostic de la tuberculose pulmonaire

Le diagnostic repose sur des examens en particulier une radiographie pulmonaire et la recherche des bacilles de Koch dans les crachats. En cas de tuberculose, la radiographie pulmonaire révèle des opacités anormales sous formes de « nodules » ou des « cavernes » (figure 9).

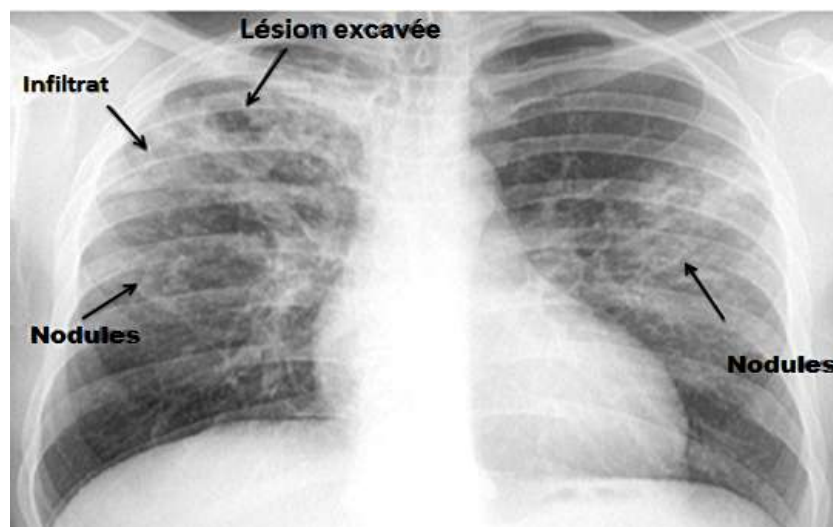


Figure 9 : Les différentes lésions de la tuberculose pulmonaire commune. www.pintrest.fr

Dans sa forme la plus caractéristique la primo-infection se traduit par un « complexe primaire » associant un « chancre » (opacité en grain de mil siégeant dans une base d'un poumon) et une adénopathie satellite du même côté de volume variable. Un syndrome inflammatoire peut être présent (ou absent). Une recherche des bacilles de Koch est réalisée dans différents prélèvements en fonction de la localisation de l'infection : en cas de tuberculose pulmonaire, ce sont les crachats qui sont étudiés.

Lors d'une tuberculose pulmonaire, les crachats sont prélevés, le matin à jeun trois jours de suite. Si des crachats spontanés ne peuvent être obtenus, deux méthodes sont utilisées : le tubage gastrique effectué le matin avant le lever (introduction d'une sonde dans l'estomac par voie nasale ou buccale dans le but d'étudier les sécrétions bronchiques avalées inconsciemment pendant la nuit) ou la fibroscopie bronchique avec aspiration des sécrétions (examen de l'intérieur d'un organe grâce à un fibroscope, petit appareil souple composé de fibres optiques transmettant la lumière et l'image ; au cours de la fibroscopie bronchique, il permet en outre l'aspiration des sécrétions).

Après avoir regardé les prélèvements au microscope pour détecter la présence ou non de bacilles, le bactériologiste met les prélèvements en culture pour réaliser deux types d'examens : une identification exacte du bacille ainsi qu'un antibiogramme, qui permet de vérifier que les antibiotiques utilisés pour le traitement sont réellement efficaces sur le bacille (Young, 2018).

6-4 Le test QuantiFERON®-TB Plus

Les individus infectés chez lesquels aucun symptôme ne se manifeste ont une tuberculose latente et ne sont pas contagieux. La TB peut cependant se réactiver en cas de baisse du système immunitaire. Il existe des tests de dépistage de la TB comme le test cutané à la tuberculine (TCT) comme le QuantiFERON (test sanguin).

Le test QuantiFERON est un test *in vitro*. Il consiste à évaluer la force de la réponse immunitaire de l'organisme contre la TB en mesurant dans le sang la production d'une molécule de défense (interféron gamma) par les leucocytes exposés à des antigènes de la tuberculose (BGS, 2019).

Ce système emploie des tubes spéciaux de prélèvement sanguin (figure 10), le tube mitogène est utilisé avec le test QuantiFERON-TB Gold plus (QFT-plus) comme contrôle positif, ce qui peut s'avérer important en cas de doute sur le statut immunitaire de l'individu. Il sert aussi de contrôle pour la bonne manipulation et la bonne incubation du sang.

Le tube NIL est utilisé comme contrôle négatif, ne contient aucun produit.

Le tube TB1 contient des peptides issus d'Early Secretory Antigenic peptide-6 (ESAT-6) et de Culture Filtrate Protein 10 (CFP-10), conçus pour provoquer des réponses Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de la part des lymphocytes T auxiliaires CD4+. Le tube TB2 pour sa part, contient un ensemble supplémentaire des

peptides ciblés pour l'induction des réponses CMI de la part de lymphocytes T cytotoxiques CD8+.

4 tubes réactifs :

- 1 tube QuantiFERON-TB à bouchon violet (MITOGEN)
- 1 tube QuantiFERON-TB à bouchon gris (NIL)
- 1 tube QuantiFERON-TB à bouchon vert (ANTIGEN TB1)
- 1 tube QuantiFERON-TB à bouchon jaune (ANTIGEN TB2)



Figure 10 : Les quatre tubes réactifs du test QuantiFERON-TB Gold plus (HUS, 2017).

Les résultats du test QuantiFERON-TB Gold sont exprimés en unités par millilitre de sang (UI/ml) et une valeur supérieure à 0,34 UI/ml est compatible avec une infection avec *Mycobacterium tuberculosis*.

Des résultats négatifs sont observés chez environ 15 à 20 % des individus porteurs de la bactérie. Un résultat négatif n'exclut donc pas totalement la possibilité d'une infection latente ou active à *Mycobacterium tuberculosis*.

Ce test de dépistage ne permet pas de faire la différence entre une TB latente ou active. D'autres tests notamment l'identification microbiologique de la bactérie sont nécessaires. (BGS, 2019).

7 Le traitement de la tuberculose pulmonaire

L'OMS préconise une stratégie thérapeutique standardisée :

Une association de quatre antibiotiques est généralement utilisée pour initier le traitement des malades tuberculeux, mais ce traitement est long : de six mois à deux ans selon l'état de l'infection et la réponse du patient.

Les médecins disposent de cinq médicaments antituberculeux majeurs (rifampicine, isoniazide, éthambutol, streptomycine, et pyrazinamide). D'autres antituberculeux mineurs, moins actifs et souvent mal tolérés, sont indiqués en cas de multirésistance du BK. Ils sont donc d'indication exceptionnelle (kanamycine, capréomycine, cyclosérine, éthionamide, acide para-aminosalicylique (PAS), thiacétazone) (Young, 2018).

Certains antibiotiques prescrits dans des infections non tuberculeuses ont une bonne activité sur *M. tuberculosis* et constituent un recours en cas de tuberculose multi résistante (amikacine, rifabutine, fluoroquinolone). L'observance du traitement (compliance) est la clé de la guérison (Young, 2018).

Dans la forme pulmonaire, le traitement antituberculeux dure au minimum six mois et se déroule en deux phases :

- La première phase est celle du traitement intensif, d'une durée de deux mois, durant laquelle on associe quotidiennement quatre antibiotiques (trois chez l'enfant) : rifampicine, isoniazide, pyrazinamide et éthambutol (rifampicine, isoniazide et pyrazinamide chez l'enfant). Cette phase a pour objectif de tuer la majorité des bacilles présents dans les lésions, d'éviter la sélection de mutants résistants aux antibiotiques et de supprimer rapidement la contagiosité du malade (Young, 2018).

- Dans une deuxième phase, on associe deux de ces antibiotiques (isoniazide et rifampicine) pendant au moins quatre mois. Cette seconde étape a pour objectif d'assurer la stérilisation complète des lésions, ceci afin d'éviter la rechute de la maladie. Les taux de guérison de ce type de traitement sont de 99 % (Young, 2018).

8 La résistante aux antituberculeux

8-1 La tuberculose multi résistante

Le bacille de la tuberculose peut devenir résistant aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie.

La tuberculose multi résistante (MDR-TB) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les deux antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces. La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante. Dans la plupart des cas, il est possible de guérir de la tuberculose en six mois moyennant l'observance stricte d'un schéma thérapeutique accompagné d'un soutien et d'un encadrement du patient (Pelletier *et al.* ; 2018).

La liste des antibiotiques utilisables dans le cas d'une MDR-TB préconisés par l'OMS sont regroupé dans le tableau 1.

L'utilisation à mauvais escient ou incorrecte des antimicrobiens, l'administration de formules inefficaces de médicaments (le recours à un seul médicament, des médicaments de mauvaise qualité ou mal conservés) et l'arrêt prématuré du traitement

peuvent provoquer des pharmaco résistances susceptibles de se transmettre ensuite, notamment dans les lieux rassemblant un très grand nombre de personnes, comme les prisons ou les hôpitaux (Pelletier *et al.* ; 2018).

Tableau 1 : groupes d'antibiotiques utilisés pour le traitement de la MDR-TB selon l'OMS (WHO, 2011).

| Groupe | Drogue |
|--|---|
| Groupe 1 Première ligne – composés oraux | pyrazinamide éthambutol rifabutine |
| Groupe 2 Composés injectables (aminosides, peptides cycliques) | kanamycine amikacine capreomycine streptomycine |
| Groupe 3 Fluoroquinolones | lévofloxacine moxifloxacine ofloxacine |
| Groupe 4 Deuxième ligne – composés bactériostatiques oraux | acide para-amino-salicylique cyclosérine térizidone éthionamid protionamide |
| Groupe 5 Composés dont l'efficacité dans le traitement de la TB n'est pas clairement définie | clofazimine linéozide amoxicilline+clavulanate thioacétazone imipénème+cilastatine dose élevée d'isoniazide clarithromycine |

MDR-TB sont localisé dans 27 pays. Les quatre pays comptant le plus grand nombre de cas étant la Chine, l'Inde, la Fédération russe et l'Afrique de sud (figure 11).



Figure 11 : Les 27 pays avec le nombre majeur de cas de MDR-TB (WHO, 2011)

8-2 La tuberculose ultra résistante

D'habitude, la TB peut être traitée par une association de quatre médicaments anti-TB standard ou de première ligne. Si ces médicaments sont mal utilisés ou mal administrés, la TB multirésistante (Tuberculose - MR) peut se développer. XDR-TB est l'abréviation anglaise pour la tuberculose ultra-résistante (Tuberculose-UR). La tuberculose-UR est une TB qui est résistante à n'importe quel fluoroquinolone (lévofloxacine, moxifloxacine et ofloxacine) et au moins un des trois médicaments injectables de deuxième ligne (capréomycine, kanamycine et l'amikacine), en plus de la Tuberculose-MR. Cette définition de Tuberculose-UR a été agréée par le groupe de travail mondial de l'OMS sur la Tuberculose-UR en octobre 2006.

La XDR-TB est plus longue à traiter avec les médicaments de deuxième ligne, qui sont plus chers et ont plus d'effets secondaires. Elle peut se développer quand ces médicaments de deuxième ligne sont mal utilisés ou mal administrés et deviennent donc aussi inefficaces. Parce que la Tuberculose-UR est résistante aux médicaments de première ligne et de deuxième ligne, les options de traitement sont sérieusement limitées. Il est donc essentiel que la lutte antituberculeuse soit prise en charge (OMS, 2006).

Fin mars 2011, 69 pays avaient déclaré au moins un cas de XDR-TB (figure 12). L'estimation donnée par l'OMS est le développement de 25 000 nouveaux cas de XDR-TB tous les ans dans le monde (OMS, 2011).

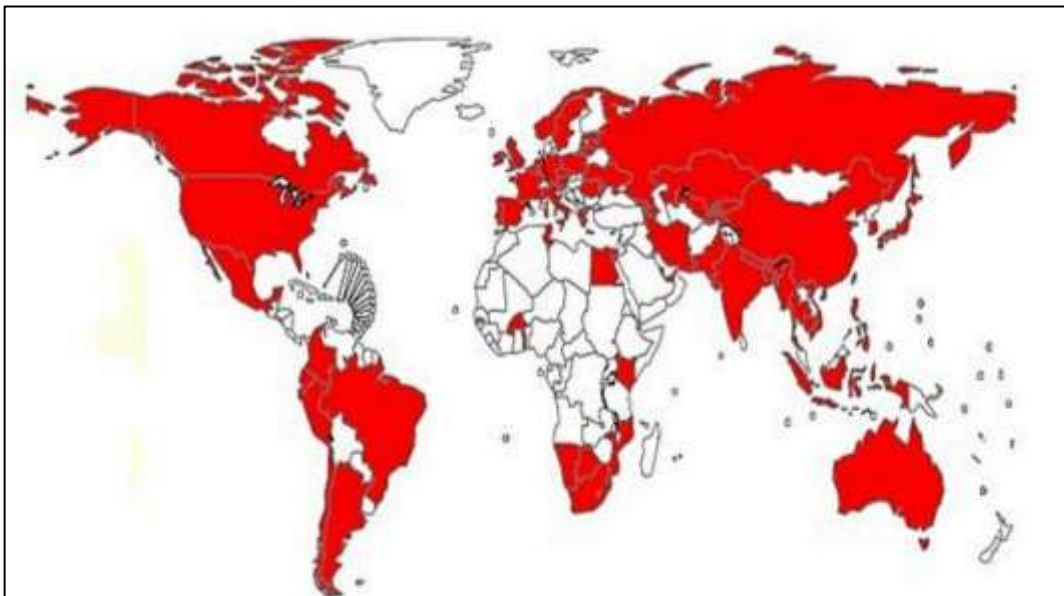


Figure 12 : Les pays qui ont au moins un cas de XDR-TB avant fin mars 2011 (WHO, 2011).

Matériels et méthodes

1 Le lieu et la durée de l'étude

Notre stage pratique de fin d'étude a été réalisé au sein de l'unité de la recherche des BAAR (BK) au Centre Hospitalier Universitaire (C.H.U) Dr. Benbadis de Constantine durant la période allant du 03 Mars au 10 Mai de l'année 2019.

2 Les règles de sécurité au laboratoire de BK

L'unité de la tuberculose est un laboratoire à risque élevé. Toute personne au travail dans le laboratoire doit connaître et appliquer rigoureusement les règlements de sécurité, être au courant des implications et des risques associés à la manipulation en cours et être capable d'intervenir efficacement en cas d'accident.

Le personnel qualifié pour travailler dans l'unité de BK doit toujours porter des vêtements de protection : une bavette médicale, des gants, des blouses et des sur blouses.

La manipulation de tous types d'échantillons destinés à la recherche de BK se fait sous une hotte de sécurité bactériologique (figure 13).



Figure 13 : Hotte de sécurité bactériologique, Air dépoussiéré stérile laminaire (ADS LAMINAIRE). Unité de la recherche des BAAR, C.H.U Dr. Benbadis de Constantine. Photographie prise par téléphone portable HUAWEI P10.

À la fin de chaque séance de lecture, les microscopes sont systématiquement essuyés de toute trace d'huile et sont maintenus couverts de housses pour les protéger de la poussière. Les surfaces et les sols de travail sont désinfectés avec de l'eau de javel. Tous les crachoirs sont jetés dans des sachets spécifiques en plastique hermétique pour

être incinérer. Toutes les lames négatives sont jetées dans un conteneur en plastique approprié pour être incinérer.

Les cultures positives sont gardées pour les antibiogrammes si le test est demandé par le médecin traitant.

3 Le matériel biologique

Notre étude est réalisée sur l'ensemble des échantillons provenant de patients suspectés d'être atteints de la tuberculose pulmonaire. Les échantillons recueillis des patients sont des expectorations bronchiques (les crachats). Il s'agit de sécrétions muqueuses purulentes rejetées par la bouche, émise par un effort de toux vigoureux précédé d'inspirations profondes.

Les échantillons doivent être recueillis le matin au réveil pendant trois jours de suite. Lorsqu'il n'est pas possible d'examiner les échantillons le jour même ils doivent être conservés à + 4°C pour inhiber la multiplication des germes contaminants.

3-1 La réception des échantillons

Les échantillons réceptionnés au niveau du laboratoire doivent être transporté dans des récipients spécifiques appelés crachoirs. Ces derniers doivent être en matière plastique (opaque et résistant aux chocs) avec une large ouverture et un capuchon à vis pour éviter les contaminations. Ils doivent également être identifiés par une étiquette collée sur le corps du crachoir portant les mêmes informations contenues dans la feuille de renseignement (annexe 2) qui sont : le nom, le prénom du patient, l'âge, le service d'envoie et l'examen demandé (figure 14). Toutes ces informations doivent être obligatoirement enregistrées sur le registre du laboratoire en respectant le numéro d'ordre interne des patients (annexe 3).



Figure 14 : Récipient de prélèvement des crachats. Photographie prise par téléphone portable condor Griffé G4 Plus au niveau du C.H.U.

4 La recherche des BAAR par microscopies

4-1 La préparation des frottis

La préparation des frottis s'effectue sur des lames neuves à usage unique bien dégraissées et séchées.

À l'aide d'une pointe de diamant, et sur l'extrémité de la lame on marque le numéro d'ordre d'échantillon correspondant à celui du registre.

Sous une hotte à flux laminaire, il faut ouvrir le crachoir délicatement afin d'éviter la génération d'aérosols. À l'aide d'une anse de platine à usage unique on étale une parcelle mucopurulente ou une parcelle hémorragique de crachat en une couche mince sur la surface de la lame. Par la suite, le frotti est laissé sécher à l'air sous hotte. Une fois le frotti est sec, il sera fixé par la chaleur du Bec Bunsen.

4-2 La coloration des frottis

Les deux méthodes de coloration les plus courantes, qui déterminent la nature acido-alcool-résistance des mycobactéries, sont la coloration de Dugommier à l'auramine et la coloration de Ziehl-Neelsen à la fuchsine (annexe 4). Ces techniques doivent être réalisées par des techniciens formés et expérimentés.

La coloration à l'auramine est une coloration en fluorescence à l'aide d'un automate de coloration des frottis (figure 15). Elle a l'avantage de permettre une lecture plus rapide de la lame et améliore la sensibilité de détection des BAAR. Elle est recommandée dans les laboratoires dont l'activité est importante (≥ 20 lames/lecteur/jour).



Figure 15 : L'automate de coloration des frottis à l'auramine (RAL stainer), Unité de la recherche des BAAR, C.H.U Dr. Benbadis de Constantine. Photographie prise par téléphone portable HUAWEI P10.

Toutes les lames positives, doivent obligatoirement subir une deuxième coloration confirmative plus spécifique qui est la coloration de Ziehl-Neelsen.

4-3 L'examen microscopique

L'examen microscopique des frottis colorés à l'auramine se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence dans une pièce sombre (figure 16). Les BAAR apparaissent en vert/jaune brillant sur un fond rouge orangé. Cette coloration permet une exploration rapide du frottis (3 à 5 minutes); la lecture peut se faire à faible grossissement : x 25 pour un dépistage rapide et x 40 pour confirmation. On doit observer au minimum 30 champs pour déclarer une lame négative (où absence de BAAR).



Figure 16 : Photographie du microscope à fluorescence, ZEISS Axioskop dans la chambre noire, unité de la recherche des BAAR, C.H.U Dr. Benbadis de Constantine. Photographie prise par téléphone portable HUAWEI P10.

L'examen microscopique des lames colorées au Ziehl-Neelsen sont examinées par le microscope optique à l'objectif d'immersion.

Après la mise au point, nous avons déplacé la lame d'une manière systématique du gauche vers la droite en examinant successivement les cent champs microscopiques (100 champs) (figure 17). Si l'on ne trouve aucun BAAR dans les 300 champs de la lame, on déclare la négativité de la lame.

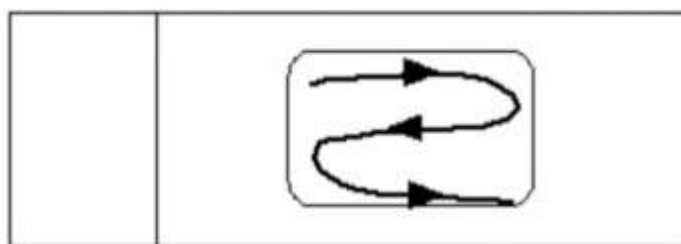


Figure 17 : La lecture en créneau de la lame après coloration de Ziehl- Neelsen.

5 La recherche des mycobactéries par la culture

Löwenstein-Jensen (LJ) est le milieu le plus largement utilisé pour la mise en évidence des mycobactéries par culture (annexe 6). Il s'agit d'une technique très délicate pour le diagnostic en raison de la croissance lente de l'organisme.

5-1 Le traitement des échantillons

Pour la décontamination des échantillons d'expectorations, la méthode à la soude utilisée est celle de Pétrof. Deux volumes de prélèvement sont mis dans un tube conique stérile, auxquels sont ajoutés deux volumes de solution de NaOH à 4% en présence du bleu de bromothymol comme indicateur de pH coloré. Après agitation puis incubation dans une étuve à 37°C pendant 30 minutes, l'action de la solution de décontamination est stoppée par l'addition d'une solution d'acide sulfurique H₂SO₄ à 15% (annexe 5) jusqu'à neutralisation. Le mélange est ensuite centrifugé à 4 000 g pendant 20 minutes. Le culot est utilisé pour l'examen direct et la mise en culture (Oulmi, 2014).

5-2 La culture sur le milieu Lowenstein-Jensen

L'ensemencement du milieu LJ se fait par la technique d'inondation de la suspension d'échantillon, les tubes sont incubés à 37° C pendant 4 à 12 semaines en position inclinée horizontalement et non bien fermés.

Après 48 heures d'incubation, on procède au contrôle de la qualité de décontamination des échantillons. On cherche, à l'œil nue, la présence de colonies autres que celles des mycobactéries ou/et un virage de couleur vert pomme au jaune ou au bleu. Ainsi les tubes qui présentent une contamination sont notés sur le registre du laboratoire et jetés, les autres sont bien revissés et remis à l'étuve. Les tubes sont examinés au moins deux fois par semaine. Les colonies de *M. tuberculosis* sont repérées d'après leurs aspects macroscopiques caractéristiques. Les résultats de la lecture des cultures (négatives, positives et contaminées) après 48 heures, 28 jours, 42 jours et enfin 65 jours d'incubation sont mentionnées sur la feuille des résultats dans le registre du laboratoire (annexe 6).

6 Le test QuantiFERON®-TB Plus

Le test (QFT-plus) nous permet de déceler les infections tuberculeuses latentes afin de les traiter et ainsi éviter l'évolution vers une tuberculose active contagieuse.

Cette partie est réalisée en suivant les recommandations du fournisseur sur la notice QuantiFERON® -TB Gold (QFT®) QIAGEN, <http://www.QuantiFERON.com>

6-1 Le protocole de prélèvement

Débutant par l'étiquetage des tubes, puis le recueil obligatoire du sang veineux jusqu'au trait noir indiqué sur chaque tube du kit. Ensuite, le contenu est agité énergiquement par retournement de 8 à 10 fois en s'assurant que la surface interne des tubes est recouverte de sang. Enfin les tubes sont incubés dans une étuve à 37°C pendant 16 à 24 heures pour la décantation du sang.

6-2 La recherche des infra gamma

Tous les échantillons de plasma et réactifs (sauf le concentré de conjugué 100X) doivent être ramenés à température ambiante ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) avant d'être utilisés. Il faut attendre au moins 60 minutes pour l'équilibration. D'autre part, nous avons reconstitué le standard lyophilisé du kit avec le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette du flacon du standard. La reconstitution du standard au volume indiqué produira une solution à une concentration de 8,0 UI/ml. Nous avons utilisé le standard du Kit reconstitué pour produire une série de dilution à 1 pour 4 de l'IFN- γ dans le diluant vert (DV). Les standards doivent être testés au moins en duplicates, mais dans notre pratique nous avons utilisé la méthode des standards tris plique selon le protocole suivant:

Nous avons étiqueté les quatre tubes « S1 », « S2 », « S3 », « S4 », puis nous avons ajouté 150 μl de diluant vert (DV) à S1 et 210 μl de DV à S2, S3, S4. En suite nous avons ajouté 150 μl du standard du Kit à S1, puis transféré 70 μl de S1 à S2, et en fin transféré 70 μl de S2 à S3. Il faut mélangé soigneusement, dans chaque transfert. Le DV seul sert de standard zéro (S4) l'opération est résumé dans la figure 18.

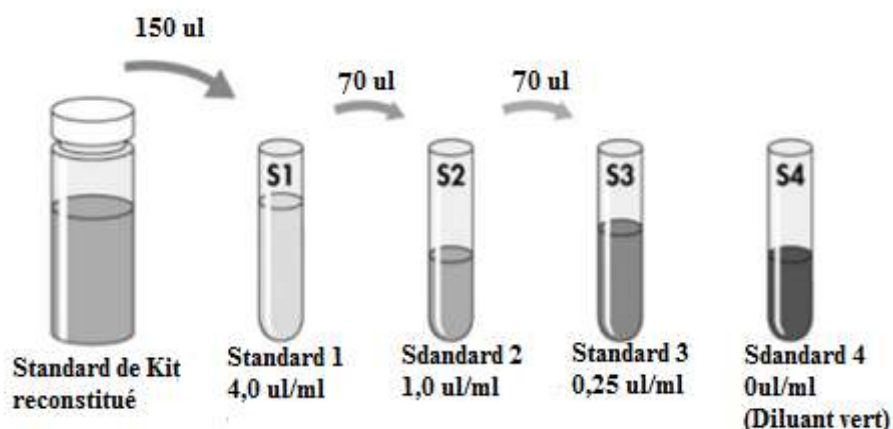


Figure 18 : Préparation des dilutions fraîches du standard de kit pour chaque session ELISA.

D'autre part, il faut reconstituer le concentré de conjugué 100X lyophilisé avec 0,3 ml d'eau déionisée ou distillée. Il faut mélanger doucement pour réduire la formation de mousse et pour garantir une solubilisation complète du conjugué.

À l'aide d'une pipette multicanaux, nous avons ajouté 50 μ l du conjugué concentré prêt à l'emploi fraîchement préparé dans les puits ELISA requis. En suite, nous avons ajouté 50 μ l d'échantillons de plasma de test dans les puits appropriés à l'aide d'une pipette. Enfin, 50 μ l à chaque standard 1 à 4 (figure 19).

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | 1N | 1A | 1M | S1 | S1 | S1 | 13N | 13A | 13M | 21N | 21A | 21M |
| B | 2N | 2A | 2M | S2 | S2 | S2 | 14N | 14A | 14M | 22N | 22A | 22M |
| C | 3N | 3A | 3M | S3 | S3 | S3 | 15N | 15A | 15M | 23N | 23A | 23M |
| D | 4N | 4A | 4M | S4 | S4 | S4 | 16N | 16A | 16M | 24N | 24A | 24M |
| E | 5N | 5A | 5M | 9N | 9A | 9M | 17N | 17A | 17M | 25N | 25A | 25M |
| F | 6N | 6A | 6M | 10N | 10A | 10M | 18N | 18A | 18M | 26N | 26A | 26M |
| G | 7N | 7A | 7M | 11N | 11A | 11M | 19N | 19A | 19M | 27N | 27A | 27M |
| H | 8N | 8A | 8M | 12N | 12A | 12M | 20N | 20A | 20M | 28N | 28A | 28M |

Figure 19 : Configuration d'échantillons recommandée pour les tubes de valeur zéro, antigène TB et mitogène (28 tests par microplaque).

En utilisant un agitateur de microplaque pendant 1 minute, nous avons mélangé soigneusement le conjugué et les échantillons/standards de plasma (figure 20 (a)).

La microplaque est ensuite couverte puis incubé à température ambiante (22 $^{\circ}$ C \pm 5 $^{\circ}$ C) pendant 120 \pm 5 minutes. Après ce temps, les puits sont lavés avec 400 μ l de tampon de lavage concentré prêt à l'emploi pendant au moins 6 cycles (figure 20 (b)).

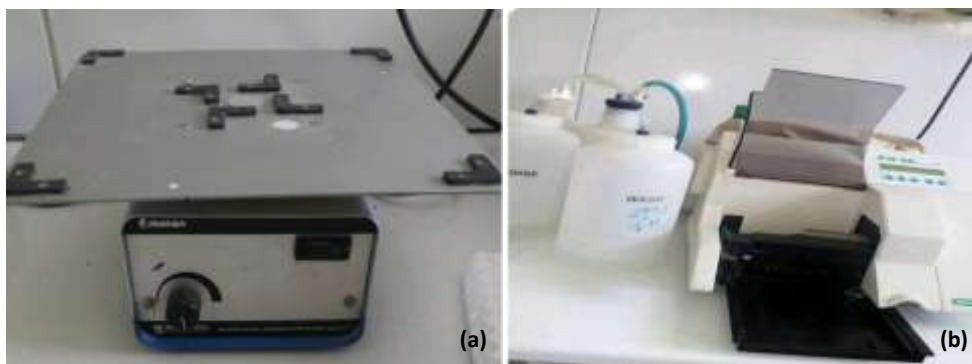


Figure 20 : Appareils utilisés dans la préparation des plaques ELISA. (a) : Agitateur de microtitration 86247, (b) : Laveur de microplaque automatique Bio-RAD. Unité de la recherche des BAAR, C.H.U Dr. Benbadis de Constantine. Photographie prise par téléphone portable condor Griffes G4 Plus.

Afin d'éliminer tout résidu de tampon de lavage, la microplaque est placée face vers le bas sur une serviette absorbante sans peluche, 100 μ l de solution de substrat d'enzyme sont ajoutés dans chaque puits et mélangés soigneusement à l'aide d'un agitateur de microplaque.

Il faut couvrir à nouveau la microplaque avec un couvercle et incuber à température ambiante ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) pendant 30 minutes. Après cela, il faut ajouter 50 μ l de solution de blocage d'enzyme à chaque puits et mélanger.

La mesure de la densité optique (DO) de chaque puits dans les 5 minutes de blocage de la réaction est effectuée à l'aide d'un lecteur de microplaque équipé d'un filtre 450 nm et d'un filtre de référence de 620 nm à 650 nm. Les valeurs DO sont utilisées pour calculer les résultats (Notice QuantiFERON®-TB Plus, Qiagen ; 2013).

6-3 Analyse des résultats

L'analyse des données brutes et le calcul des résultats sont réalisés à l'aide du logiciel QFT disponible sur www.QuantiFERON.com. Ce dernier permet d'effectuer une évaluation du contrôle de qualité du test, génère une courbe standard et fournit un résultat de test pour chaque sujet. Les résultats dérivés des standards doivent être examinés avant d'interpréter les résultats des échantillons du test.

Pour que le dosage ELISA soit valide il faut que :

la valeur de la densité optique (DO) moyenne du standard 1 doit être $\geq 0,600$.

le coefficient de variation (% CV) des valeurs DO des répliques du standard 1 et du standard 2 doit être $\leq 15\%$.

les valeurs DO des répliques pour les standards 3 et 4 ne doivent pas varier de plus de 0,040 unité de densité optique par rapport à leur moyenne.

Le coefficient de corrélation (r) calculé à partir des valeurs d'absorbance moyennes des standards doit être $\geq 0,98$. Le logiciel d'analyse QFT calcule et rapporte ces paramètres de contrôle qualité.

Si les critères ci-dessus ne sont pas respectés, l'analyse est invalide et doit être répétée.

La valeur DO moyenne du standard zéro (diluant vert) doit être $\leq 0,150$. Si la valeur DO moyenne est $> 0,150$, la procédure de lavage de microplaque doit être étudiée (tableau 2) ((Notice QuantiFERON®-TB Plus, 2013).

Tableau 2 : Utilisation des tubes de valeur zéro, antigène TB et mitogène.

| Valeur zéro (UI/ml) | Antigène TB moins valeur zéro (UI/ml) | Mitogène moins valeur zéro (UI/ml)* | Résultat QFT | Rapport/interprétation |
|---------------------|--|-------------------------------------|--------------|--|
| $\leq 8,0$ | $< 0,35$ | $\geq 0,5$ | Négatif | Infection à <i>M. tuberculosis</i> improbable |
| | $\geq 0,35$ et $< 25\%$ de la valeur zéro | $\geq 0,5$ | Négatif | Infection à <i>M. tuberculosis</i> improbable |
| | $\geq 0,35$ et $\geq 25\%$ de la valeur zéro | Tous | Positif† | Infection à <i>M. tuberculosis</i> probable |
| | $< 0,35$ | $< 0,5$ | Indéterminé‡ | Les résultats de la réponse des antigènes TB sont indéterminés |
| | $\geq 0,35$ et $< 25\%$ de la valeur zéro | $< 0,5$ | Indéterminé‡ | Les résultats de la réponse des antigènes TB sont indéterminés |
| $> 8,0$ § | Tous | Tous | Indéterminé‡ | Les résultats de la réponse des antigènes TB sont indéterminés |

7 L'étude rétrospective descriptive

Nous avons effectué une étude du dix septembre 2017 au 30 avril 2019 ; soit une période de 20 mois. Cette étude a porté sur l'ensemble des échantillons envoyés à l'unité de recherche des BK du laboratoire de bactériologie C.H.U Dr. Benbadis de Constantine) et destinés au diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire. Les données (nom, prénom et service) sont recueillies rétrospectivement à partir des registres fournis par les responsables de l'unité.

L'analyse statistique des données a consisté en un calcul des paramètres en utilisant le logiciel Excel version 2007.

Résultats et discussion

L'objectif principal de notre travail de fin d'étude, est de mettre en évidence la présence de *Mycobacterium tuberculosis* dans des échantillons des patients suspectés d'être atteints d'une tuberculose pulmonaire, afin de pouvoir diagnostiquer une tuberculose pulmonaire chez ces patients. L'objectif secondaire est d'étudier le profil épidémiologique de cette maladie infectieuse dans une durée bien définie.

Notre étude a porté sur les échantillons d'origine pulmonaires de trois natures différentes (expectorations, tubage gastrique et liquide d'aspirations bronchiques). Durant les deux mois d'étude (du 3 mars au 30 avril), nous avons recueillis 293 échantillons dont 149 proviennent de patients de sexe masculin et 144 échantillons de patients de sexe féminin. Nous avons également, réalisé une étude rétrospective descriptive de 18 mois (du 10 septembre 2017 au 28 février 2019) où nous avons pu colliger 2245 dossiers de personnes nécessitant une analyse bactériologique des crachats dont 1181 sont des femmes et 1064 sont des hommes.

En général, l'unité reçoit un nombre variable d'échantillons d'origine pulmonaire par mois allant de 80 à 170 échantillons. Cependant, les statistiques obtenues durant les 20 mois d'étude montrent que les mois d'octobre 2017, février, octobre et décembre de l'année 2018 et janvier 2019 ont témoigné le nombre le plus élevé des échantillons examinés (figure 21).

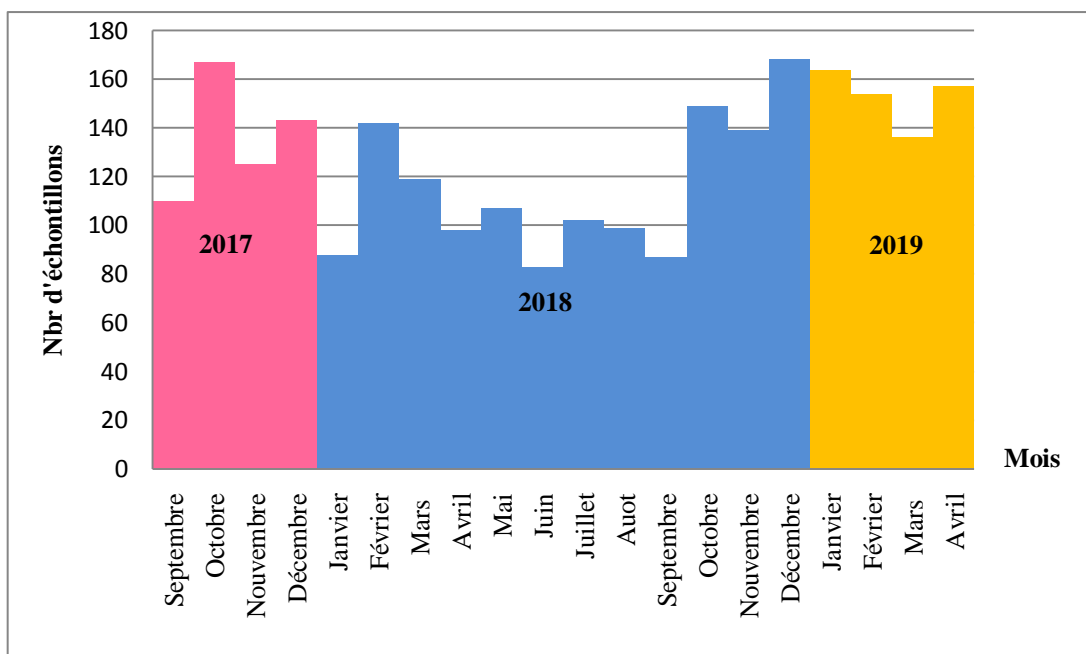


Figure 21 : Le nombre d'échantillons réceptionnés au niveau de l'unité de la tuberculose durant les 20 mois d'étude (laboratoire de microbiologie C.H.U Dr. Benbadis Constantine).

1 Répartition des échantillons selon leur structures d'envoi

Sur les 2538 échantillons reçus au niveau de l'unité, 35,97 % (n = 913) proviennent de malades en traitement ambulatoire (TA) et seulement 1,06 % (n = 27) proviennent de la protection sanitaire (PS). La majorité des échantillons (63,23 %) sont envoyés de différents services de l'hôpital (Pneumologie, Rhumatologie, Infectiologie... etc.). La figure numéro 22 illustre la répartition des échantillons selon leur structure d'envoi.

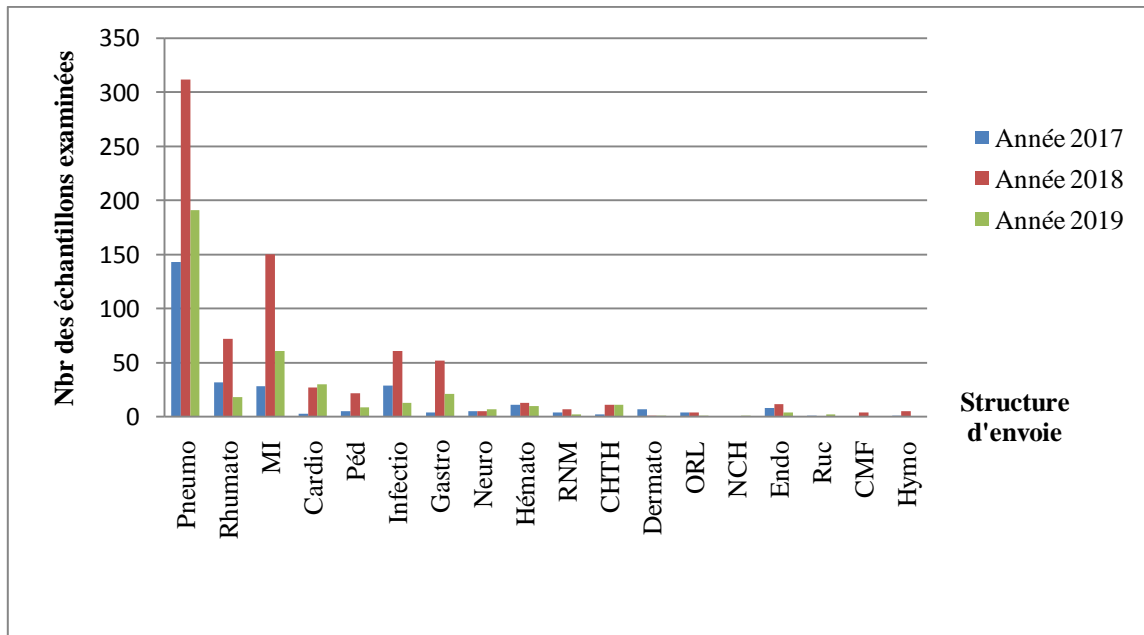


Figure 22 : Le nombre d'échantillons examinés durant les 20 mois d'étude selon le service hospitalier d'envoi.

Pneumo : pneumologie ; Rhumato : rhumatologie ; MI : médecine interne ; Cardio : Cardiologie ; Péd : pédiatrie ; Infectio : : infectiologie ; Gastro : Gastrologie ; Neuro : neurologie ; Hémato : hématologie ; RNM : réanimation médicale ; CHTH : chirurgie thoracique ; Dermato : dermatologie ; ORL : oto-rhino-laryngologie ; NCH : Neurochirurgicale ; Endo : endocrinologie ; Ruc : urgence chirurgicale ; CMF : chirurgie maxillo-faciale ; Hymo : hémodialyse.

Nos échantillons proviennent en grande partie de patients ayant consultés aux services de pneumologie (27,38 %) et de la médecine interne (10,56 %). Les échantillons envoyés des services de rhumatologie, infectiologie, gastrologie et de cardiologie représentent respectivement 5,11 % ; 4,36 % ; 3,42 % et 2,62 %. Les autres services représentent de très faibles pourcentages (annexe 7).

2 Résultats de l'examen microscopique

Après coloration des frottis par Ziehl-Neelsen et examen microscopique à l'objectif d'immersion, les lames à bacilloscopies positives, ont montrées la présence de

fins bacilles roses qui apparaissent nettement sur un fond bleu (figure 23). Les bacilles sont légèrement incurvés, isolés ou regroupés en paires et pour quelques frottis regroupés en amas.

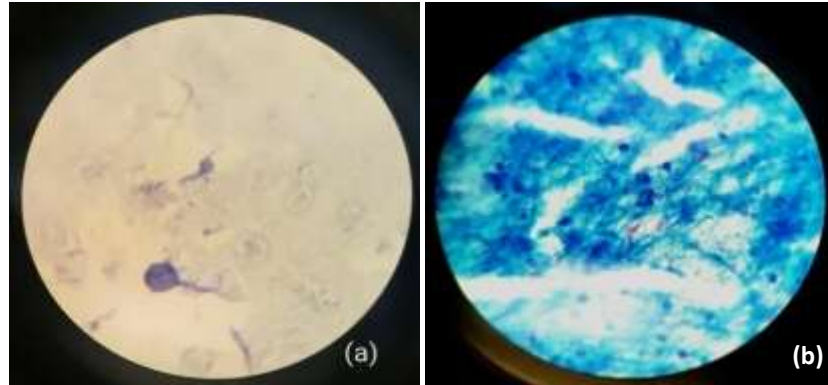


Figure 23 : Résultats de l'examen microscopique des frottis après coloration de Z.N Grossissement x100. Microscope micros austria. **(a) :** lame négative (présence de 0 BAAR /champ), **(b) :** lame positive (> 10 BAAR/champ). Photographie prise par téléphone portable Huawei P10 au niveau du C.H.U.

Les BAAR sont détectées dans les produits pathologiques sur les frottis grâce à leur propriété tinctoriale qui permet aux bacilles de retenir le colorant de la fuchsine. Elle est considérée comme un critère d'identification du genre *Mycobacterium*.

L'examen direct a montré la présence des BAAR pour seulement 4,10 % des échantillons pulmonaires durant les 20 mois d'étude. Cependant, ce taux de positivité varie selon les années et les mois, il est de 0,35 % pendant les quatre mois de l'année 2017, de 3 % en 2018 et de 0,74 % durant les quatre mois de l'année 2019 (tableau 3).

Un examen direct positif dans les prélèvements respiratoires indique que le patient est « bacillifère » et contagieux. Il convient donc d'isoler le patient et de lui donner les antibiotiques appropriés en plus d'un suivi médical.

La négativité des résultats peut être expliquée par l'absence de BAAR dans les échantillons, ou bien la présence des BAAR avec un nombre très faible non détectable (échantillon pauci bacillaire).

Dans ce cas, seul la culture peut confirmer leur présence. Cela peut signifier que les patients ne risquent pas de transmettre le bacille *M. tuberculosis* à leur entourage ; mais lorsque la maladie est négligée, ils peuvent devenir des sources actives d'infection.

Tableau 3 : Résultats de l'examen microscopique par mois obtenus après coloration de Z-N des échantillons pulmonaires.

| Mois | Examen direct | Lames positifs | Lames négatifs | Total |
|---------|---------------|----------------|----------------|-------|
| 2017 | Septembre | 0 | 110 | 110 |
| | Octobre | 4 | 163 | 167 |
| | Novembre | 3 | 122 | 125 |
| | Décembre | 2 | 141 | 143 |
| 2018 | Janvier | 5 | 83 | 88 |
| | Février | 6 | 136 | 142 |
| | Mars | 6 | 113 | 119 |
| | Avril | 11 | 87 | 98 |
| | Mai | 10 | 97 | 107 |
| | Juin | 10 | 73 | 83 |
| | Juillet | 10 | 92 | 102 |
| | Aout | 5 | 94 | 99 |
| | Septembre | 2 | 85 | 87 |
| | Octobre | 3 | 146 | 149 |
| | Novembre | 4 | 135 | 139 |
| | Décembre | 4 | 164 | 168 |
| | 2019 | Janvier | 2 | 162 |
| Février | | 9 | 145 | 154 |
| Mars | | 5 | 131 | 136 |
| Avril | | 3 | 154 | 157 |
| Total | 20 mois | 104 | 2434 | 2538 |

3 Résultats des cultures sur L-J

La culture reste la méthode de référence la plus sensible pour l'isolement en culture du bacille de Koch à partir des échantillons cliniques. L'examen macroscopique des cultures est réalisé après 48 heures, une semaine, un mois et deux mois des ensemencements (figure 24). Les deux premiers examens sont réalisés afin de contrôler la qualité de la décontamination et l'absence de colonies de mycobactéries atypiques à croissance rapide.

La recherche des BK sur milieux de culture est réalisé grâce à l'aspect morphologique caractéristique des colonies et confirmer par une coloration de Ziehl-Neelsen réalisée sur un frottis confectionné à partir d'une colonie prélevée en conditions d'asepsie, il faut vérifier qu'il s'agit bien de BAAR. Un dénombrement des colonies est nécessaire afin d'estimer la densité bacillaire dans les échantillons et par conséquent l'état du malade.

Le résultat est inscrit dans le registre du laboratoire tout en notant le numéro du tube positif correspondant au nom du patient ainsi que le nombre de colonies, si elles sont dénombrables ou pas.

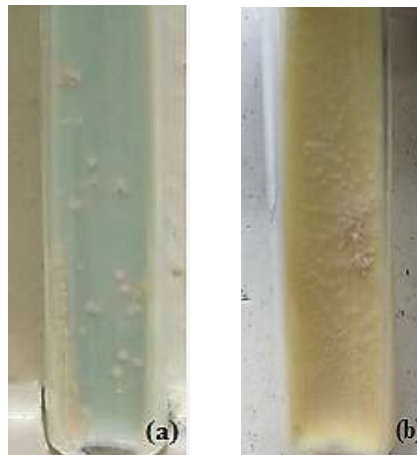


Figure 24 : Aspects des cultures sur milieux Lowenstein-Jensen après 42 jours d’incubation à 37° C. Photographie prise par téléphone portable Huawei P10 au niveau du C.H.U. **(a) :** culture dénombrable, **(b) :** culture indénombrable.

Les résultats des cultures sur le milieu L-J en combinaison avec les résultats de l’examen microscopique, résumés dans le tableau numéro 4, peuvent être classés en trois catégories :

- Bacilloscopie positive, culture positive.
- Bacilloscopie positive, culture négative.
- Bacilloscopie négative, culture positive.

Tableau 4 : Résultats des examens microbiologique sur une période de 20 mois (10 septembre 2017 au 30 avril 2019).

| Année / Catégorise | 2017 (4 mois) | 2018 (12 mois) | 2019 (4 mois) | Total | Pourcentage |
|------------------------|------------------|-------------------|------------------|-------|-------------|
| Lame (+) /culture (+) | 4 | 24 | 5 | 33 | 31,73 % |
| Lame (+) / culture (-) | 3 | 35 | 6 | 44 | 42,30 % |
| Lame (-) /culture (+) | 2 | 17 | 8 | 27 | 25,96 % |
| Total | 9 | 76 | 19 | 104 | 100 % |

D’après les résultats affichés dans le tableau 4, La culture a permis de poser le diagnostic de tuberculose pulmonaire dans 33 cas (31,73 %) qui étaient positive à

l'examen directe ce qui a confirmé les résultats de ce dernier d'une part et aidé à une préliminaire identification du germe responsable de l'infection d'autre part.

L'apport de la culture positive avec une bacilloscopie négative dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire était dans 27 cas. Ce résultat révèle que 25,96 % des échantillons de TBP diagnostiqués étaient pauci bacillaires.

Dans notre étude, 44 cas (42,30 %) de tuberculose pulmonaire à microscopie positive et culture négative ont été détectés. Une bacilloscopie faussement positive peut être due à la présence de particules acido-alcool-résistantes qui ressemblent à des BK ou bien à la présence de bacilles non vivants dans les échantillons pathologique.

4 Paramètres épidémiologique de la population étudiée

4-1 Répartition des cas positifs selon leur structures d'envoi

Sur les 104 cas positifs diagnostiqués au niveau de l'unité, en distingue 45 cas proviennent des traitements ambulatoires, un seul cas pour l'établissement de santé publique de proximité et 58 cas proviennent de différents services de l'hôpital : 50 cas en pneumologie, 4 cas en médecine interne, et un seul cas pour chaque'un des services : rhumatologie, endocrinologie, réanimation médicale et pédiatrie. La figure numéro 25 illustre la répartition des cas positifs selon leur structure d'envoi.

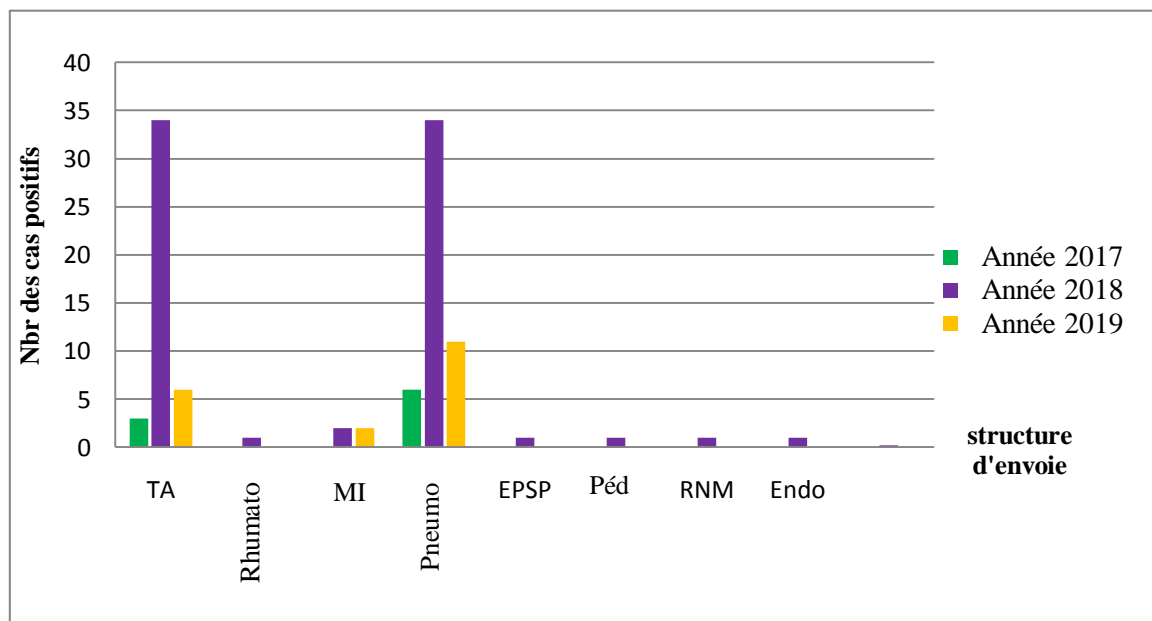


Figure 25 : Répartition des cas positifs, durant les 20 mois d'étude, selon leur structure d'envoi.

TA : traitement ambulatoire ; Rhumato : rhumatologie ; MI : médecine interne ; Pneumo : pneumologie ; EPSP : établissement de santé publique de proximité ; Péd : pédiatrie ; RNM : réanimation médicale ; Endo : endocrinologie.

4-2 La prévalence de la tuberculose pulmonaire

La prévalence renseigne sur le nombre des personnes atteintes par une maladie ou tout autre évènement. Elle comptabilise à la fois les nouveaux cas et ceux qui sont anciennement diagnostiqués à un moment précis.

Sur les 2538 échantillons analysés durant les 20 mois d'étude, seulement 104 ont présenté une positivité en faveur d'une tuberculose pulmonaire soit une prévalence de 4,10 %.

Les résultats illustrés dans la figure 26, font ressortir le service de pneumologie avec le plus grand nombre de cas positive, 50 cas sur un total de 705 échantillons examinés. Malgré que le secteur du TA représente le nombre le plus élevé d'échantillons examinés (912 cas), il révèle seulement 45 cas positifs. Le service de médecine interne (MI) avec quatre cas positifs sur un total de 268 échantillons examinés.

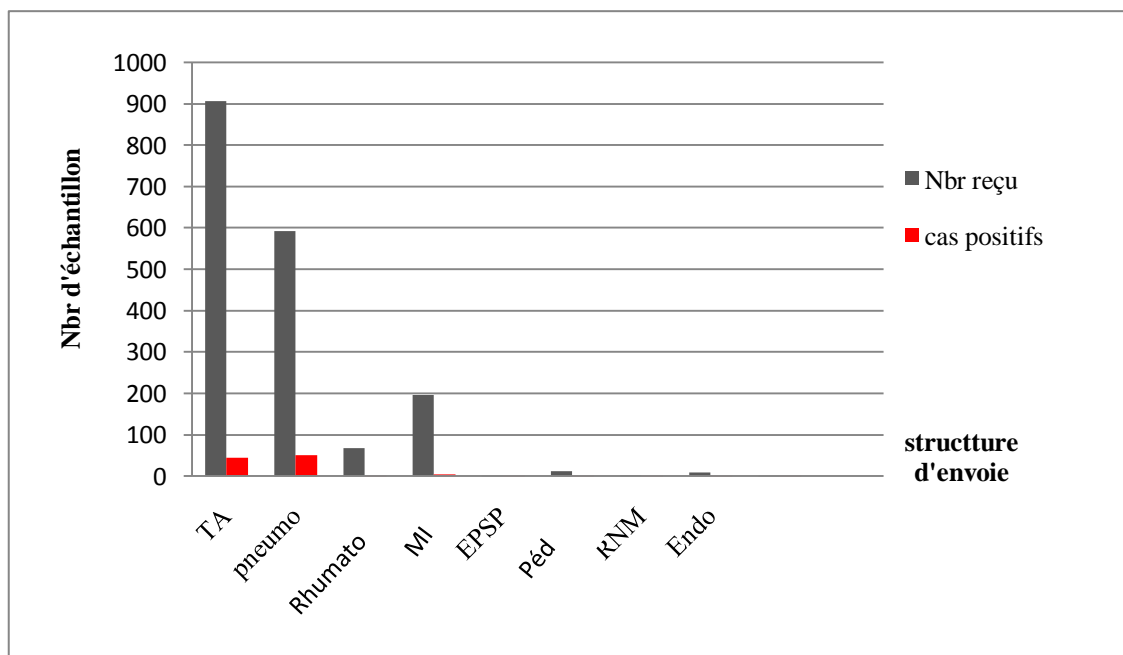


Figure 26 : Répartition des cas positifs par rapport au nombre reçu des échantillons selon leur structure d'envoi (durant les 20 mois d'étude).

TA : traitement ambulatoire ; Pneumo : pneumologie ; MI: médecine interne ; Péd : pédiatrie ; Endo : endocrinologie ; RNM : réanimation médicale ; Rhumato : rhumatologie.

On note trois autre cas positif, un du service de réanimation médical sur un total de 13 ; un du service de la pédiatrie sur un total de 36 ; et un cas envoyé par un établissement publique de santé de proximité.

4-3 Répartition des cas positifs selon le sexe

Bien que le plus souvent, la tuberculose fait terrain chez les hommes plus que les femmes (en raison d'antécédents de tabagisme, de maladies professionnelles respiratoires...etc.).

Les résultats de notre étude font état d'une prédominance chez le sexe féminin avec 51,92% des cas positifs obtenue correspondant à 54 patientes sur les 1325 échantillons réceptionnés enregistrée en TA et le service de pneumologie avec une absence total dans les autres services.

Contrairement à ceux de sexe masculin, qui ont fait l'objet de 48,07% soit 50 patients enregistrés sur un total de 1213 cas examiné. Les résultats de notre étude sont résumés dans la figure ci-dessous (figure 27).

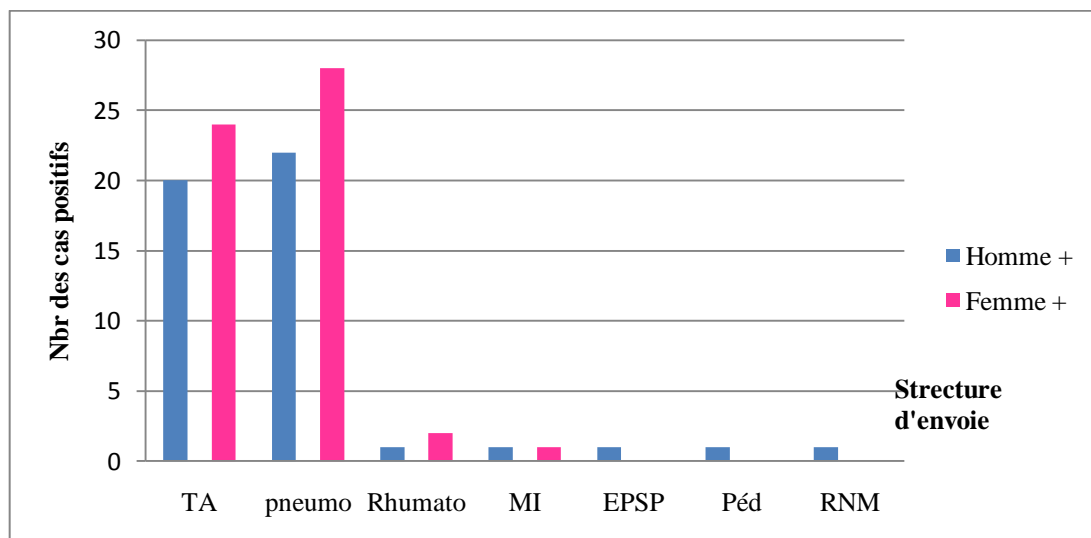


Figure 27 : Répartition des cas positifs selon le sexe. Résultats de 20 mois d'étude.

TA : traitement ambulatoire ; Pneumo : pneumologie ; MI : médecine interne ; Péd : pédiatrie ; RNM : réanimation médicale ; Rhumato : rhumatologie.

4-4 Répartition des cas positifs selon la charge des BAAR et le sexe

Chez les patients ayant une tuberculose pulmonaire, le degré de gravité de la maladie est déterminé par le nombre des bacilles observés en microscope à l'examen direct.

Tableau 5 : Expression des résultats de l'examen microscopique

| Rapport | Nombre de BAAR observés | |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| | Après coloration de Ziehl-Neelsen | Après coloration d'auramine |
| Absence de BAAR | 0 | 0 |
| Douteuse | 1-2/200 champs | 1-9/frottis |
| + | 1-9/100 champs | 1-9/ 10 champs |
| ++ | 1-9/10 champs | 1-9/ champs |
| +++ | 1-9/champs | 10-99/ champs |
| ++++ | >10/ champs | >100/ champs |

Dans notre étude, la prédominance des patients à BAAR+++, BAAR++++ et à BAAR ++ est enregistré chez le sexe féminin avec 22,08 %, 14,29 % et 12,99 % respectivement.

Alors que chez les patients où la maladie est contagieuse (BAAR +++) sont principalement des hommes avec 2, 60 %. La figure 28 illustre la répartition des cas positifs selon le degré de gravité (charge des BAAR) et le sexe.

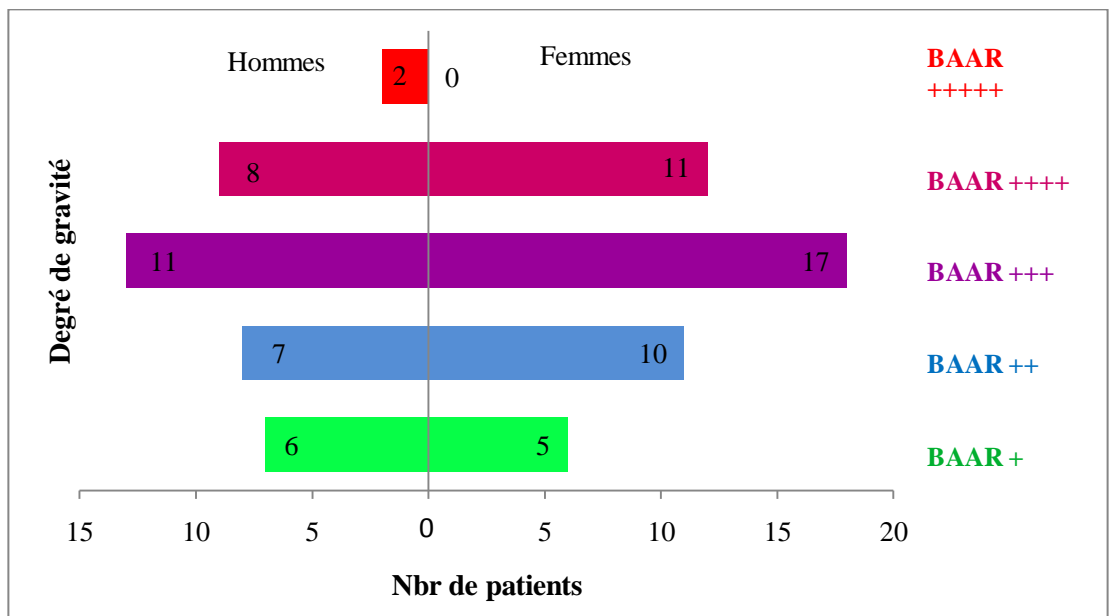


Figure 28 : La répartition des cas positifs selon la charge des BAAR et le sexe. Résultats de 20 mois d'étude.

De manière générale, les hommes font face à un risque plus élevé de contracter la maladie que les femmes pour des raisons propres au genre. Par contre dans notre étude les femmes ont été les plus touchées par la maladie, probablement en raison du manque d'intérêt pour la santé.

Généralement, elles attendent plus longtemps avant d'être diagnostiquées et traitées.

4-5 Étude comparative

4-5-1 Comparaison du dernier quadrimestre des deux années 2017 et 2018

Le nombre de cas positifs dépistés dans les quatre derniers mois de l'année 2017 est comparé à celui de la même période de l'année 2018 est illustré par la figure ci dessous (figure 29).

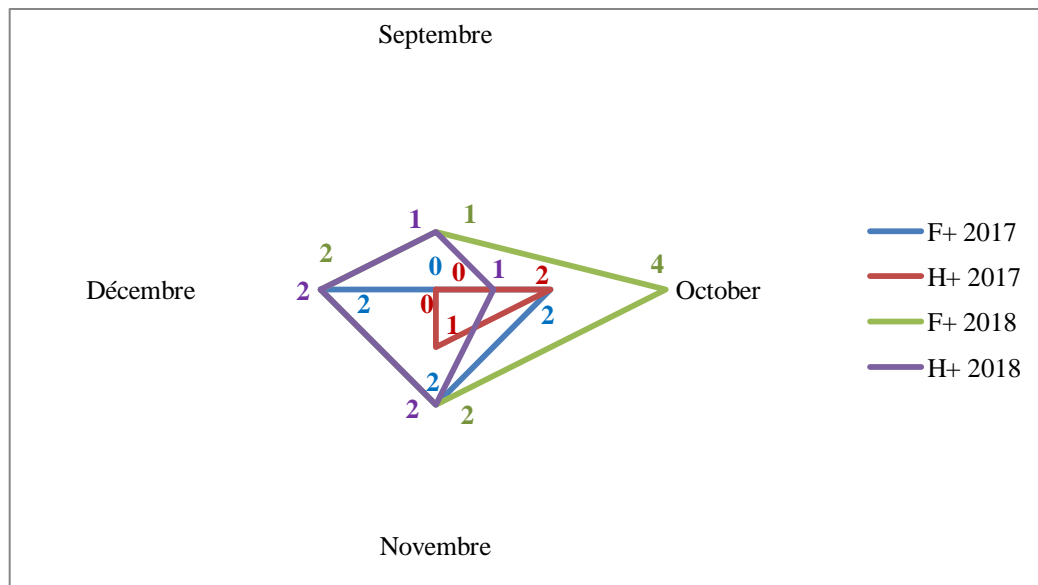


Figure 29 : Comparaison du nombre de cas positifs selon le sexe durant les quatre derniers mois des années 2017 et 2018.
F+ : femme positive ; H+ : homme positive

Nous constatons que la majorité des cas positifs enregistrée durant le mois d'octobre de l'année 2018 sont des femmes (n = 4). À l'inverse, dans les mois de novembre et décembre nous avons enregistré deux cas chez le sexe féminin en 2017 et 2018 ainsi que pour les hommes en 2018.

4-5-2 Comparaison du premier quadrimestre des deux années 2018 et 2019

La figure 30 illustre la comparaison du nombre des cas positifs selon le sexe durant les quatre premiers mois des années 2018 et 2019.

Nous montre que le nombre des cas positifs enregistrés durant les mois de janvier et avril (5, 7 respectivement) de l'année 2018 sont majoritairement des femmes.

Chez les hommes nous avons recensé au même nombre des cas positifs (n = 6) dans les mois de février et avril de l'année 2018 et 2019.

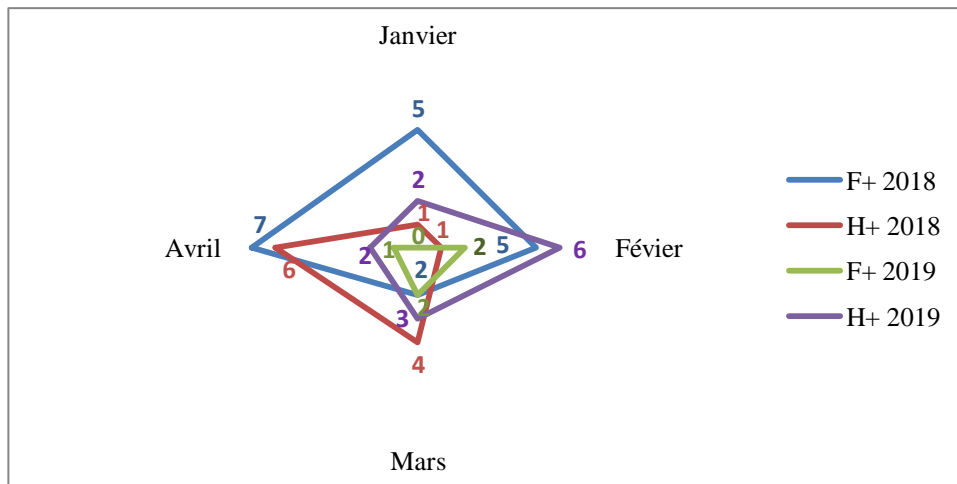


Figure 30 : Comparaison du nombre de cas positifs selon le sexe durant les quatre premiers mois des années 2018 et 2019.

F+ : femme positive ; H+ : homme positive.

5 Le test QuantiFERON ®

Dans le cas d'une infection tuberculeuse pulmonaire, la contamination par inhalation est interhumaine. Une infection tuberculeuse latente est toujours asymptomatique. En effet, la prolifération de *M. tuberculosis* est arrêtée dans 90 % des cas par les défenses immunitaires de l'hôte. L'induction d'une réponse protectrice se traduit par la synthèse de cytokines notamment d'interféron gamma (IFN γ). Pour le diagnostic d'une infection tuberculeuse latente, il est possible de réaliser des tests de détection de l'interféron γ (test QuantiFERON ®). Les résultats de ce dernier génèrent une courbe standard et fournissent un résultat de test pour chaque sujet (annexe 8).

L'analyse des résultats représentés dans la figure 31 montre que le nombre de patients de sexe masculin atteints d'infection latente est de 13. Ce nombre est supérieur à celui des patientes (sexe féminin) qui est de 7. La positivité des résultats du test QuantiFERON ® signifie que ces patients nécessitent un traitement médicamenteux préventif. D'habitude, il s'agit d'une prise d'INH durant six à neuf mois si le BK du cas-index y est sensible (degré de protection 60-90%). L'administration de ce traitement et son suivi se réalisent de préférence en milieu spécialisé (CSH, 2011).

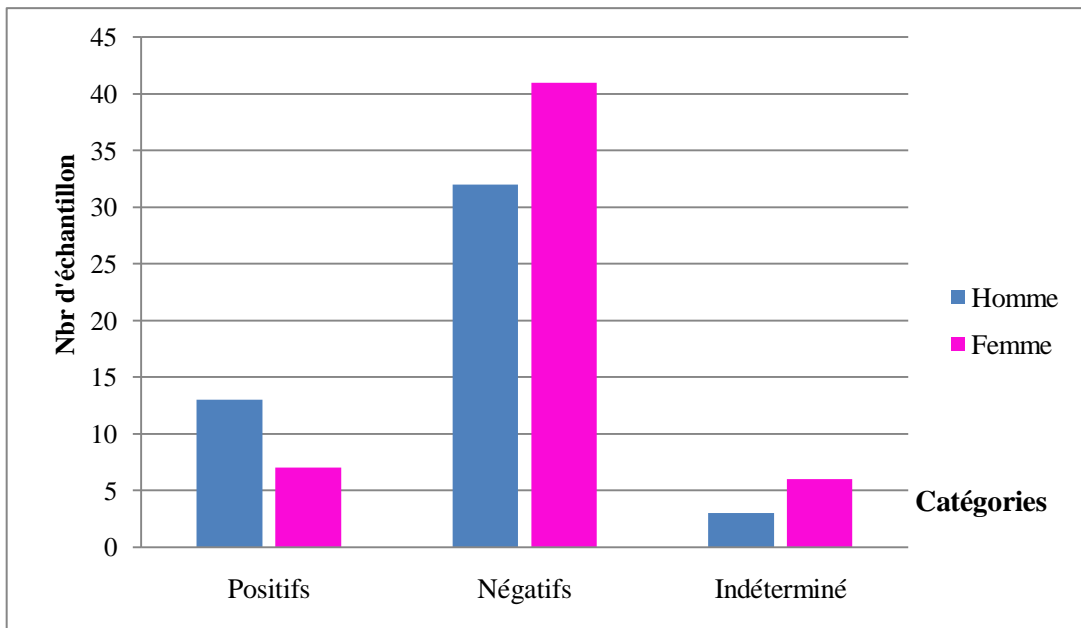


Figure 31 : Résultats du test QTF-plus au niveau du C.H.U.

Contrairement à la catégorie résultats positifs, les résultats des deux catégories dites négatif et indéterminé du test QuantiFERON[®] montrent la supériorité du nombre de patients de sexe féminin par rapport à celui des patients de sexe masculin.

En cas de résultat indéterminé, on ne peut conclure puisque les raisons peuvent être diverses (erreurs de manipulation ou autres). Dans ces cas il est recommandé de refaire le test et de garder le patient en observation rapprochée.

Conclusion

La tuberculose est l'une des dix premières causes de mortalité dans le monde entier, malgré l'existence d'un programme de lutte antituberculeux. Elle constitue encore un problème sérieux et courant dans les pays en voie de développement, cependant l'Algérie a été l'un des pays précurseurs dans la lutte contre cette maladie infectieuse. On assiste même à la résurgence de cette dernière, dont les causes seraient étroitement liées à l'émergence de souches multirésistantes (MDR-TB) et ultrarésistantes (XDR-TB) aux antibiotiques (OMS, 2018).

L'objectif principal de notre travail est la mise en évidence de l'agent causal de la maladie (*M. tuberculosis*) où nous mettons en exergue le diagnostic bactériologique conventionnel du bacille de Koch (coloration à l'auramine, coloration confirmative de Z-N et un examen de certitude sur milieu L-J) et l'utilisation des outils moléculaires (test QuantiFERON®-TB Plus qui permet la détection de l'infection latente de la TB chez les patients immunodéprimés) impliqués dans ce qui est appelé : diagnostic microbiologique.

Notre stage pratique a été effectué au sein de l'unité de la tuberculose, laboratoire de bactériologie C.H.U Dr. Benbadis de Constantine. Il a porté sur l'analyse des échantillons d'origine pulmonaire de 3 natures différentes (expectoration, tubage gastrique et liquide d'aspiration bronchique). Durant une période de deux mois (de 03 mars au 30 avril) où nous avons recueilli 293 échantillons dont 149 proviennent de patients de sexe masculin et 144 échantillons de patients de sexe féminin. Nous avons également, réalisé une étude rétrospective descriptive de 18 mois (de 10 septembre 2017 au 28 février 2019) où nous avons pu colliger 2245 dossiers de personnes nécessitant une analyse bactériologique des crachats dont 1181 sont des femmes et 1064 sont des hommes.

Sur les 2538 dossiers analysés durant les 20 mois d'étude, seulement 104 ont présenté une positivité en faveur d'une tuberculose pulmonaire soit une prévalence de 4,10 % ; en distinguant 45 cas proviennent des traitements ambulatoires, un seul cas pour l'établissement de santé publique et de proximité et 58 cas proviennent de différents services de l'hôpital : 50 cas du service de pneumologie, 4 cas de la médecine interne, et un seul cas pour chacun des services : rhumatologie, endocrinologie, réanimation médicale et pédiatrie. Ces résultats font ressortir une prédominance chez le sexe féminin avec 51,92% des cas positifs (n = 54 patients différents) contre 48,07% de sexes masculins (n = 50 patients différents),

Notre étude fait apparaître clairement que les techniques conventionnelles de microscopie et de culture demeurent indispensables pour le diagnostic de certitude de la tuberculose maladie. Néanmoins, l'évènement de nouveaux outils qui utilisent des techniques moléculaires (test QuantiFERON®-TB plus) dans la pratique clinique de routine, permet de réduire considérablement le délai du diagnostic bactériologique, d'accélérer la prise en charge des patients allant même à la détection rapide des infections latentes de la TB.

Références bibliographique

Ait-Khaled N. ; Alarcón E. ; Armengol R. ; Bissell K. ; Boillot F. et al. (2010). Prise en charge de la tuberculose : guide des éléments essentiels pour une bonne pratique. Paris, France : Union International contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoire. p (84).

Alihlassa S. (2018). Comprendre l'épidémiologie de la tuberculose en Algérie. Revue des Maladies Respiratoires. N° 35. p (234-235).

Aubry P. et Gaüzère B-A. (2018). Médecine tropicale, tuberculose.

Bédossa A. ; Carbonelle B. ; Dailloux M. ; Lebrun L. ; Maugein J. et Pernot C. (2003). Mycobactéries, Mycobactérioses. Cahier de Formation. Biologie médicale. Bioforma. N°29. p (158).

Bouheraoua H. (2013). La tuberculose en 2011-2012 dans le service de médecin de l'établissement public de santé national de fresnes (EPSNF). Thèse pour obtenir le diplôme d'état de docteur en médecine : Médecine générale. Paris : Université de Diderot- Paris7. p (124).

Buchillet D. (2001). Tuberculose et santé publique : les multiple facteurs impliqué dans l'adhésion au traitement. n°19. p (71-90). [En ligne]. (Page consulté le 21/11/2018). www.cain.info/revue-autreparte-2001-3-page-71.htm.

Cazivassilio D. (2018). Primo-infection tuberculeuse. Maladies infectieuses. [En ligne]. (Page consulté le 19/02/2019). www.doctorcliv.com/mala_die/primo-infection_tuberculeuse.aspx.

Cole S.T. ; Brosch R. et al. (1998). Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. Nature 393 (6685). p (537- 44).

Decoster A. et al. (2018). Bactériologie Virologie Immunologie, Bactériologie. anne.decoster.free.fr.

Good R.C. and Shinnick T. M. (1998). Mycobacterium. In: "Topley's and Wilson's microbiology and microbial infections, systematic bacteriology." Collier A.B.L. and Susman M. (ed), 9th ed, Edward Arnold, London. p (496-576).

<https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00029>.

Huchon G. (1994). Tuberculose. Paris : ESTEM.

Institut de vielle sanitaire (2016). Maladie à déclaration obligatoire (Tuberculose). invs.santepubliquefrance.fr/dossiers-thematique/Maladies-infectieuses/maladies-a-daclaration-obligatoire/tuberculose.

Jawetz E. ; Melnick J. L. et Adelberg E. A. (1968). Review of medical microbiology. Blackwell Scientific. Publication. Oxford and Edinburgh. Lange medical Publication.

Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière (2012). Manuel de la lutte antituberculeuse à l'usage des personnes médicaux. Algérie : ANDS.

Ministère des solidarités et de la santé (2017). Maladie infectieuse tuberculose [solodarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-infectieuse/article/la-tuberculose](https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-infectieuse/article/la-tuberculose).

Nacef L. (2019). La tuberculose pulmonaire commune. Service de pneumologie. Blida. www.unive-blida.dz/cours-de-la-tuberculose-pulmonaire-Copie.pdf.

Notice QuantiFERON®-TBGold (QFT®) QIAGEN. <http://www.QuantiFERON.com>.

Organisation mondiale de la santé (2014). Rapport 2014 sur la lutte contre la tuberculose dans le monde.

Organisation Mondiale de la Santé (2018). Campagnes mondiales de santé publique de l'OMS Journée mondiale de lutte contre la tuberculose 2018. <http://www.who.int/campaigns/tb-day/2018/event/fr/>.

Organisation Mondiale de la Santé (2019). Tuberculose (TB), Populations vulnérables et lutte antituberculeuse. Tuberculose et sexospécificité. Page consulté le 20 juin 2019. https://www.who.int/tb/challenges/gender/page_1/fr/

Oulmi L. (2014). Étude des infections causées par les actinomycètes aérobies autre que les mycobacteries dans la région de Constantine. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat. Constantine 1-Alger. p (34).

Outbrain (2012). Aujourd'hui, l'éphéméride d'Archimède. 24 Mars 1882- Découverte du bacille de la tuberculose. [En ligne]. (Page consulté le 20/05/2019). aujourd'hui.over-blog.fr/article-24-mars-1882-découverte-du-bacille-de-la-tuberculose-102161304.html.

Pelletier A. (2018). La tuberculose multirésistante. Revue : Doctissimo. [En ligne]. (Page consulté le 20/11/2019). www.doctissimo.fr/sante/vaccin-vaccination/tuberculose/tuberculose-multi-resistante

Staub T. et al. ; (2011). Le diagnostique de l'infection tuberculeuse latente par les tests de détection de la production d'interféron gamma. Recommandation. Conseil supérieur d'hygiène. Section des maladies transmissibles. Tests IGRAs. P(1).


Tortora g. j. ; Funke B. R. et Cas ch. L. (2003). Introduction à la Microbiologie, la maladie infectieuse des systèmes respiratoires, Renouveau pédagogique Inc, canada. p (731-732-733).

Wiley J. (2015). En association avec Bergey's manuelle trust sur la systématique des archées et des bactéries. Mycobacterium.

Young I. (2018). Tuberculose : une des maladies contagieuses les plus meurtrières. [En ligne]. (Page consulté le 24/02/2019). www.pourquoidoctor.fr/MaladiePkoidoc/740-Tuberculose-une-des-maladies-contagieuse-les-plus-meurtrieres-au-monde/p-569-DIAGNOSTIQUE.Tuberculose/amp.

Annexes

Annexe 2 : Un exemplaire d'une feuille de renseignement


WILAYA DE CONSTANTINE
CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DR. BENBADIS - CONSTANTINE

SERVICE **EXAMEN N° /**

Médecin traitant :
DU REGISTRE DU LABORATOIRE

RESULTAT

Examen demandé :

Nom du malade :

Age :

Salle :

Renseignements cliniques :

Constantine, le :

LE MEDECIN TRAITANT **L'OPERATEUR**

Annexe 4

Coloration à l'auramine

Acide-alcool

| | |
|----------------------------------|---------|
| Alcool..... | 1500 ml |
| H ₂ O distillée | 500ml |
| NaCl..... | 20 g |
| HCl (acide chloridrique) | 20 ml |

Auramine

| | |
|----------------------------------|---------|
| Auramine | 3g |
| Acide phéniqué | 10 ml |
| H ₂ O distillée | 1000 ml |

Permanganate de potassium

| | |
|----------------------------------|---------|
| KMnO ₄ | 1g |
| H ₂ O distillée | 1000 ml |

La technique

Coloration des frottis : Placer les frottis sur un support en métal et recouvrir en totalité d'auramine phéniqué et laisser agir pendant 15 à 20 minutes sans chauffer (ou 10 minutes après avoir chauffé). Rincer à l'eau du robinet.

Décoloration des frottis : Recouvrir les frottis de solution d'acide alcool pendant 4 minutes, puis rincer à l'eau de robinet.

Recoloration des frottis : Recouvrir les frottis par une solution de permanganate de potassium à 1 %, laisser agir une minute et enfin sécher.

Coloration de Ziehl Nelsen

| | |
|------------------------|---------|
| Fuchsine basique | 10 mg |
| Alcool à 95..... | 100 ml |
| Phénol aqueux | 55 ml |
| Eau distillée | 1000 ml |

La technique

Coloration : Placer les lames sur un support en métal et recouvrir en totalité de fuchsine de Ziehl filtrée sur papier.

À l'aide d'un coton monté sur une tige trappé dans l'alcool et flambé, passer la flamme sous les lames et arrêter immédiatement de chauffer jusqu'à l'émission de vapeur. Laisser agir pendant trois minutes, chauffer les lames une deuxième fois puis une troisième fois et laisser agir à chaque fois trois minutes. Rejeter la fuchsine et laver la lame à l'eau de robinet.

Décoloration à l'acide-alcool : Recouvrir les lames d'acide sulfurique dilué à 25 % et laisser agir pendant trois minutes. Après lavage à l'eau, recouvrir les lames d'alcool à 90° pendant cinq minutes. Une fois rincés, les frottis sont incolores ou légèrement teintés en rose.

Contre coloration au bleu de méthylène : Recouvrir les frottis par une solution de bleu de méthylène filtrée sur papier filtre et laisser réagir pendant 30 secondes à une minute. Rincer les lames à l'eau de robinet et laisser sécher à l'air libre.

Annexe 5

La composition du milieu Löwenstein-Jensen

| | |
|---|---------|
| Purée de pomme de terre..... | 30 g |
| Asparagine | 3,6 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2, 4 g |
| Citrate de magnésium | 0,6 g |
| Vert de malachite | 0,4 g |
| MgSO ₄ . 7H ₂ O | 0,24 g |
| Oeuf entier homogénéisé | 1.0 ml |
| Glycérol | 12.0 ml |

Technique

Gélose inclinée en tubes. Milieu Prêt à l'emploi.

Les réactifs de la décontamination**La soude NaOH à 4%**

| | |
|-----------------------|---------|
| NaOH..... | 40 g |
| H ₂ O..... | 1 litre |

Stériliser à l'autoclave.

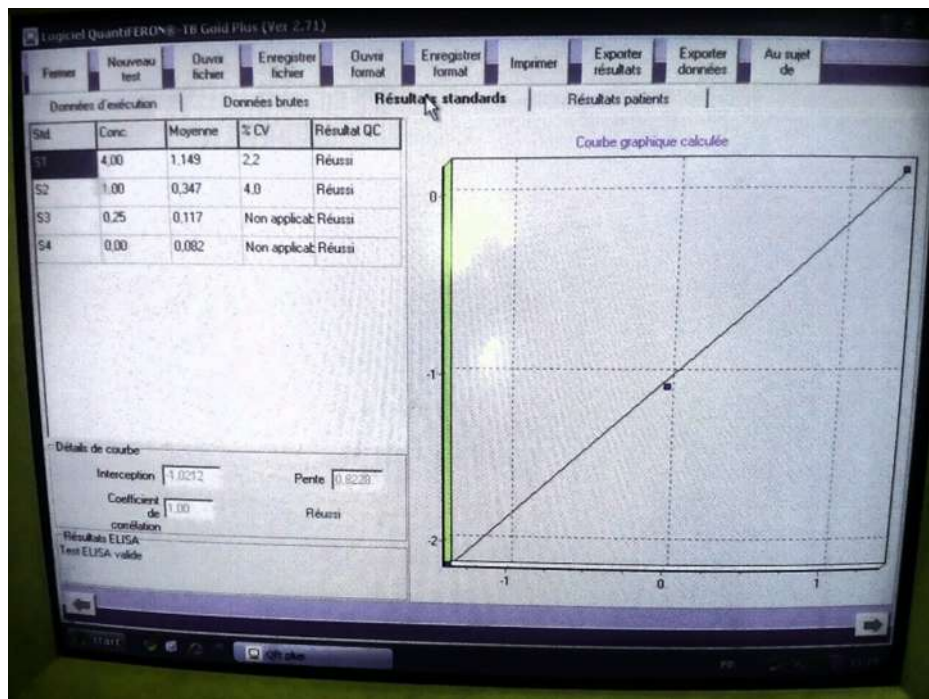
Acide sulfurique 1/4 H₂SO₄ 1/4

| | |
|--------------------------------------|--------|
| H ₂ O..... | 750 ml |
| H ₂ SO ₄ | 250 ml |

Annexe 7: Tableau des pourcentages

| Structure d'envoi | Pourcentage d'échantillon réceptionné (%) |
|--------------------------|--|
| Pédiatre | 1,80 |
| Hématologie | 1,61 |
| Chirurgie thoracique | 1,18 |
| Endocrinologie | 1,18 |
| Neurologie | 0,82 |
| Réanimation médicale | 0,58 |
| Dermatologie | 0,43 |
| Urgence médicale | 0,35 |
| Ortho-rhino-laryngologie | 0,35 |
| Neurochirurgie | 0,04 |
| Maxillo-faciale | 0,24 |
| Hémodialyse | 0,24 |
| Urgence chirurgicale | 0,16 |

Annexe 8



a : Les résultats de la courbe étalon du test QuantiFERON®-TB plus.

| ID patient | Titre | Tb1 | Tb2 | Moyenne | Tb1-M | Tb2-M | Moyenne-M | Résultat |
|------------|-------|------|------|---------|-------|-------|-----------|----------|
| 00 1 | 1.28 | 0.15 | 0.14 | > 10% | 1.13 | 1.14 | > 10% | NEGATIF |
| 00 2 | 0.03 | 0.04 | 0.04 | > 10% | 0.05 | 0.05 | > 10% | NEGATIF |
| 00 3 | 0.12 | 0.09 | 0.10 | > 10% | 0.03 | 0.16 | > 10% | NEGATIF |
| 00 4 | 0.56 | 2.33 | 1.70 | > 10% | 1.37 | 1.62 | > 10% | POSITIF |
| 00 5 | 0.10 | 0.09 | 0.05 | > 10% | 0.05 | 0.05 | > 10% | NEGATIF |
| 00 6 | 0.32 | 0.70 | 0.12 | > 10% | 0.01 | 0.00 | > 10% | NEGATIF |
| 00 7 | 0.11 | 0.08 | 0.06 | > 10% | 0.01 | 0.03 | > 10% | NEGATIF |
| 00 8 | 2.40 | 2.71 | 2.48 | > 10% | 0.22 | 0.01 | > 10% | NEGATIF |
| 00 9 | 0.27 | 0.40 | 0.40 | > 10% | 0.22 | 0.30 | > 10% | POSITIF |
| 00 10 | 0.04 | 0.05 | 0.08 | > 10% | 0.01 | 0.02 | > 10% | NEGATIF |
| 00 11 | 0.05 | 0.06 | 0.06 | > 10% | 0.01 | 0.03 | > 10% | NEGATIF |
| 00 12 | 0.12 | 0.15 | 0.19 | > 10% | 0.03 | 0.07 | > 10% | NEGATIF |
| 00 13 | 0.23 | 0.25 | 0.24 | > 10% | 0.02 | 0.01 | > 10% | NEGATIF |
| 00 14 | 0.22 | 0.46 | 0.34 | > 10% | 0.24 | 0.12 | > 10% | NEGATIF |

b : Exemples des résultats du test QuantiFERON®-TB plus.

Année universitaire : 2018/2019

**Présenté par : AHMED BOUMAZA khaoula
ZERMANE amina**

**La tuberculose pulmonaire à l'unité de la tuberculose laboratoire de
microbiologie CHU Dr. Benbadis Constantine. Étude rétrospective de Vingt
mois**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie microbienne

La tuberculose est une maladie infectieuse potentiellement mortelle due à une bactérie dénommée *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch (BK). Le BK infecte essentiellement l'appareil respiratoire où la tuberculose pulmonaire représente un peu plus de 70 % des cas de tuberculose. Notre stage pratique de fin d'étude a été réalisé au sein de l'unité la tuberculose au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Dr. Benbadis de Constantine. Notre objectif était de rechercher *M. tuberculosis* dans les produits pathologiques, par des méthodes conventionnelles du diagnostic bactériologique d'une tuberculose respiratoire maladie, et réalisée une étude rétrospective descriptive sur une période de 20 mois. La recherche de bacilles acido-alcool-résistants par microscopie après coloration à l'auramine (confirmation par celle de Ziehl-Neelsen), et la mise en culture sur milieu Löwenstein-Jensen constituent les méthodes de référence que nous avons employée pour son diagnostic microbiologique. À travers cette étude, nos résultats ont déclaré 104 cas de tuberculoses à localisation pulmonaire. Une légère prédominance est observée chez les femmes avec 51,92% (n= 54) contre 48,07% chez les hommes (n=50). Les techniques traditionnelles de microscopie et de culture restent indispensables pour un diagnostic de certitude de cette maladie infectieuse. Toutefois, il serait plus utile d'introduire de nouveaux outils moléculaire (test QuantiFERON®-TB Plus qui permet la détection de l'infection latente de la TB) dans la pratique clinique de routine afin de diminuer le délai du diagnostic microbiologique, allant même jusqu'à la détection rapide de la résistance aux antituberculeux. Le QuantiFERON®-TB Plus nous a permis de détecter 20 cas positifs sur les 92 tests réalisés dont 13 cas de sexe masculin et 7 cas de sexe féminin.

Mots clés : Tuberculose pulmonaire, *Mycobacterium tuberculosis*, bacille de Koch, diagnostic microbiologique.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de génie microbiologique et applications

Jury d'évaluation :

Président du jury : SAMRA Zahia (Pr. – Univ 3 Constantine).
Rapporteur : OULMI Lamia (MCB - UFM Constantine).
Examineur : ALATOU Radia (MCA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 09/07/2019