



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 : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

**Diagnostic microbiologique de la tuberculose pulmonaire au Laboratoire
d'Hygiène de la Wilaya de Constantine. Étude rétrospective de trois ans**

Présenté et soutenu par : *NACER Latifa*

Le : 01/07/2018

LAKHEL Nihad

Jury d'évaluation :

Président du jury : *HAMIDECHI M. Abdelhafid* (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : *OULMI Lamia* (Maître de conférences B - UFM Constantine).

Examineur : *MIHOUBI Ilhem* (Professeur - UFM Constantine).

*Année universitaire
2017 – 2018*

REMERCIEMENTS

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

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.

Monsieur HAMIDECHI M. A., Professeur à l'Université des Frères Mentouri-Constantine de nous avoir faites l'honneur d'accepter la présidence du jury de mémoire.

Madame MIHOUBI I., Professeur à l'Université des Frères Mentouri-Constantine d'avoir accepté d'examiner et de valoriser ce modeste travail.

Monsieur KHELIFA F., Responsable de l'Annexe de l'Institut Pasteur de Constantine, Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine pour nous accueille dans son laboratoire.

Nous tenons également à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine pour leur aide, leur conseils et pour les moyens qu'ils ont mis à notre disposition, et leur assistance à la réalisation de ce stage sans oublier Madame Atika et Madame Linda, qui ont 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.

DEDICACES

À mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mes chers et adorables frères et sœurs

Raoina, Meriem, Nabil et Abderahime : en témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

À toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

À ma très chère amie et binôme, Nihad.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi.

Latifa

DEDICACES

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tous simplement que : Je dédie cette mémoire de master à :

À Ma tendre Mère

Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À Mon très cher Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

À mes chères adorables sœurs

Amani et Lyna Dhoha, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

À Mon grand-père et à Ma grand- mère

Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

À toutes mes chères tantes surtout ma tante Nadjoua pour leurs soutiens tout au long de mon parcours universitaire, veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

À ma très chère adorable amie et binôme, Latifa.

À tous ceux qui me sont chers et qui m'aiment.

Nihad

Résumé

La tuberculose est une maladie infectieuse provoquée par une mycobactérie du complexe tuberculeux principalement *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch, l'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations et représente la source habituelle de transmission. Elle demeure encore un problème de santé publique dans le monde et en particulier en Algérie. Au cours de notre stage réalisé au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine, 474 échantillons pulmonaires ont été testés par bacilloscopie en utilisant la coloration de Ziehl-Neelsen qui permet de mettre en évidence la présence des bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) dans les crachats. Huit cas ont été diagnostiqués positifs. Ils proviennent majoritairement de CHU, avec une prédominance masculine (62,5 %). L'étude rétrospective descriptive, a porté sur 3845 dossiers de personnes nécessitant une analyse bactériologique des crachats, colligés au cours des trois années 2015, 2016 et 2017. Quatre-vingt-trois patients ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 2,16 %. Nos résultats montrent également une prédominance masculine (63,68 %) avec un sexe ratio (M/F) de 2,30. L'infection touche majoritairement le groupe d'âge entre 15 et 54 ans avec un pourcentage de 84,62 %.

Mots clés: Tuberculose pulmonaire, *Mycobacterium tuberculosis*, Coloration de Ziehl-Neelsen, bacilloscopie.

Abstract

Tuberculosis is an infectious disease caused by mycobacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC), mainly *Mycobacterium tuberculosis* or Koch's bacillus. Pulmonary involvement is the most common site and is the usual source of transmission. It remains a public health problem in the world and in particular in Algeria. During our internship at the Health Laboratory of the Wilaya of Constantine, 474 samples were tested by sputum smear using Ziehl-Neelsen staining to identify the acid-fast bacilli (AFB) in sputum. Eight cases were diagnosed positive which are mainly from CHUs, with a male predominance (62.5%). The descriptive retrospective study focused on, 3845 patient files requiring bacteriological analysis of sputum, collected during the three years 2015, 2016 and 2017. Eighty three patients were bacilloscopy positive with 2.16% of prevalence. The results show a male predominance (63.68%) with a sex ratio (M/F) of 2.30. The infection affects mainly the age group between 15 and 54 with 84.62%.

Key words: pulmonary tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, Ziehl-Neelsen staining, bacilloscopy

ملخص

السل مرض معدي ناجم عن بكتريا تنتمي إلى المعقد السلي *Mycobacterium tuberculosis* complexe بصورة خاصة *Mycobacterium tuberculosis* والمعروفة بعصيات كوخ. تعتبر الإصابة الرئوية من أكثر الإصابات شيوعا و هي الناقل الأساسي للمرض. مرض السل لا يزال مشكلة صحية في العالم و خاصة في الجزائر. خلال تربصنا الذي أجري على مستوى المخبر الولائي للصحة و النظافة بولاية قسنطينة, قمنا بمعاينة مجهرية 474 بلغم لأشخاص مشتبه بها باستعمال تقنية Ziehl-Neelsen للتلوين التي تسمح بإظهار وجود العصيات المقاومة للحمض و الكحول داخل العينات. تم الكشف عن ثمان حالات إيجابية معظمها من المركز الإستشفائي الجامعي ابن باديس و كانت الأغلبية للذكور بنسبة 62,50 % و من جهة أخرى, قمنا بدراسة إستيعادية ل 3845 ملف لأشخاص تمت معاينتهم على مستوى الوحدة جمعت خلال ثلاث سنوات (2016, 2015 و 2017). خلال هذه الفترة تم تسجيل ثلاث و ثمانون حالة سل بنسبة تقدر ب 2,15 %. كشفت النتائج على أغلبية الإصابة لدى الذكور بنسبة 63,68 % مع تقدير لنسبة الجنس (M/F) ب 2,30. تعد الفئة العمرية ما بين 15 و 54 عاما الأكثر تضررا بنسبة 84,62 %.

كلمات البحث : السل الرئوي, *Mycobacterium tuberculosis*, تقنية Ziehl-Neelsen, الكشف المجهري للبلغم.

Table des matières

Remerciements	
Résumés	
Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iii
Introduction	1
Étude bibliographique	
1 Historique	3
2 La tuberculose.....	4
2-1 L'infection tuberculeuse	4
2-2 La tuberculose pulmonaire.....	5
2-2-1 La primo-infection	5
2-2-2 La tuberculose pulmonaire commune.....	5
2-3 La tuberculose extra-pulmonaire	6
2-3-1 La méningite tuberculeuse	6
2-3-2 La pleurésie tuberculeuse.....	6
2-3-3 La tuberculose ganglionnaire.....	6
2-3-4 La tuberculose ostéo-articulaire.....	7
2-3-5 La tuberculose digestive	7
2-3-6 La tuberculose urogénitale.....	7
3 Épidémiologie de la tuberculose.....	7
3-1 Épidémiologie de la tuberculose dans le monde.....	7
3-2 Épidémiologie de la tuberculose en Afrique et en Algérie.....	9
3-3 Les facteurs modifiants l'épidémiologie de la tuberculose	10
4 Les mycobactéries	11
4-1 Classification et nomenclature des mycobactéries	11
4-2 Caractéristiques générales de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
4-2-1 Caractères morphologiques.....	12
4-2-2 Caractères cultureux	13

4-2-3 Caractères biochimiques	14
4-2-4 Caractères génétiques	14
5 Transmission.....	14
6 Diagnostic de la tuberculose.....	15
6-1 Diagnostic clinique	15
6-1-1 L'intradermo-réaction (IDR)	16
6-1-2 La radiographie pulmonaire.....	17
6-2 Diagnostic bactériologique	17
6-2-1 Coloration de Ziehl-Neelsen.....	17
6-2-2 Coloration à l'auramine	18
6-3 Diagnostic après culture.....	18
7 La lutte contre la tuberculose.....	19
7-1 Prévention par le BCG.....	19
7-2 Traitement curatives par les chimiothérapies	19
7-2-1 Chimiothérapie standardisée de première intention.....	20
7-2-2 Chimiothérapie standardisée de seconde ligne	20

Matériel et méthodes

1 Lieu et durée de l'étude	21
2 Matériel biologique.....	21
2-1 Réception des échantillons.....	21
2-2 Enregistrement des échantillons	22
2-3 Recueil au niveau de la pailleasse	22
3 Biosécurité	22
4 Recherche des BAAR.....	23
4-1 Préparation des frottis	23
4-2 Coloration de Ziehl-Neelsen à chaud.....	23
5 Examen microscopique.....	24
6 Conservation des échantillons	25
7 Destruction des lames négatives et stockage des lames positives	25
8 Désinfection du site de travail	26
9 Étude rétrospective descriptive.....	26

Résultats et discussion

1 Recueil des échantillons	27
2 Origine des échantillons	27
3 Recherche des BAAR	28
4 Étude rétrospective descriptive	30
4-1 La prévalence de la tuberculose pulmonaire.....	32
4-2 Paramètres épidémiologique de la population étudiée	33
4-2-1 Répartition des cas positifs selon le sexe.....	33
4-2-2 Répartition des cas positifs selon la tranche d'âge	34
4-2-3 Répartition des cas positifs selon la tranche d'âge et le sexe	35
4-2-4 Répartition des cas positifs selon la charge des BAAR.....	37
4-2-5 Répartition des cas positifs selon la charge en BAAR et le sexe	38
Conclusion	27
Références bibliographiques.....	39
Annexes.....	41

Liste des abréviations

ARN : Acide ribonucléique

ATB/ATBs : Antibiotique/ antibiotiques

BAAR : Bacille acido-alcool- résistants

BCG : Bacilles de Calmette et Guérin

BK : Bacilles de Koch

EMB : Ethambutol

ERC : Établissement de Réadaptation Constantine

FQs : Fluoroquinolones ou Quinolones

IDR : Intradermo-réaction

INH : Isoniazide

L.H.W.C : Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine

M. : *Mycobacterium*

MNT : Mycobactéries non tuberculeuses

OMS : Organisation mondiale de la santé

PZA : Pyrazinamide

RIF : Rifampicine

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

T A : Traitement ambulatoire

TB : Tuberculose

TB-MDR : Tuberculose Multi Drug Resistant (Multirésistance)

TP : Tuberculose pulmonaire

VIH: Virus d'immunodéficience humaine.

WHO: World health organisation

XDR: Extensively Drug Resistant (Ultrarésistance)

Z-N: Ziehl- Neelsen

Liste des tableaux

Tableau 1: Interprétation du test à la tuberculine.	17
Tableau 2: Notation des résultats.	25
Tableau 3: Résultats de l'examen microscopique après coloration de Z-N des échantillons pulmonaires obtenus par mois.	29
Tableau 4: Répartition des cas positifs selon le groupe d'âge.	34
Tableau 5: Répartition des cas positifs selon l'âge et le sexe durant les trois ans.	36

Liste des figures

Figure 1: Les plus fréquentes localisations anatomiques de la tuberculose.....	5
Figure 2: Répartition de l'incidence mondiale de la tuberculose par 100 000 habitants ...	8
Figure 3: L'incidence de la tuberculose estimée dans le monde par 100 000 habitants ..	9
Figure 4: Evolution du taux de la tuberculose en Algérie.	10
Figure 5: Arbre phylogénique selon la méthodes des distance NJ des espèces du complexe tuberculeux.	11
Figure 6: Structure de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
Figure 7: Structure de la paroi des Mycobactéries.	13
Figure 8: Aspect des colonies du <i>M. tuberculosis</i> sur milieu de Lowenstien Jensen. ...	14
Figure 9: Mode de transmission majeur interhumaine de la tuberculose.	15
Figure 10: Tableau clinique résumant la symptomatologie de la tuberculose pulmonaire	16
Figure 11: Test IDR.	16
Figure 12: Image infiltrative des deux sommets plumonaire avec du lobe supérieur droit matérialisé par l'ascension de la branche droite de l'artère pulmonaire.	17
Figure 13: Aspect des BAAR après coloration.....	18
Figure 14: Récipient de prélèvement des expectorations bronchiques.....	21
Figure 15: Hotte de sécurité bactériologique de classe 1	22
Figure 16: La lecture en créneau de la lame après coloration de Ziehl-Neelsen.	24
Figure 17: Répartition des échantillons selon la provenance	28
Figure 18: Résultats de l'examen microscopique des frottis après coloration de Z.N... ..	28
Figure 19: Taux des cas positifs obtenus par mois.	30
Figure 20: Répartition du nombre d'échantillons examinés au niveau du L.H.W.C par mois durant les trois ans.....	31
Figure 21: La prévalence de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive au L.H.W.C durant les rois ans.....	32
Figure 22: Répartition des cas positifs selon le sexe, par mois durant les trois ans.	33
Figure 23: Répartition des cas positifs selon le sexe pendant les trois ans.....	34
Figure 24: Répartition des cas positifs selon e groupe d'âge.	35
Figure 25: Représentation des cas positifs selon l'âge et le sexe.	37

Figure 26: Répartition des patients à bacilloscopie positive selon la charge des BAAR dans les frottis.	37
Figure 27: Répartition de la charge des BAAR selon le sexe.....	38

Introduction

La tuberculose est une maladie infectieuse transmissible et non immunisante provoquée par une mycobactérie du complexe tuberculeux principalement l'espèce *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch du nom du professeur Robert Koch qui l'a isolé en 1882. Cette maladie, inoculable et curable connue depuis l'antiquité comme étant une pathologie associée à une importante morbidité et mortalité, conserve encore de nos jours son actualité.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la tuberculose est la neuvième cause de décès au plan mondial devant l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). En 2016, l'OMS avait annoncé que 10,4 millions de personnes ont contracté cette maladie durant cette année et 1.3 million sont mortes. Elle demeure une crise de santé publique et une menace pour la sécurité sanitaire.

Cette maladie infectieuse peut affecter toutes les parties du corps, mais la forme pulmonaire est la plus fréquente des localisations et représente la source habituelle de transmission. Elle reste une maladie sociale par excellence, vue essentiellement pour le groupe d'âge économiquement productif de 15 à 54 ans.

Malgré les efforts de préventions ainsi que la gratuité des traitements, la tuberculose était et reste à nos jours un problème de santé publique en Algérie. Des différentes actions ont été entreprises notamment le diagnostic de la tuberculose et la disponibilité des médicaments. Le programme national de lutte contre ce fléau requiert un ensemble des objectifs afin de réduire la transmission de la tuberculose dans la population algérienne et de diminuer la morbidité et la mortalité liée à cette maladie.

Dans ce manuscrit, nous donnons dans un premier temps le profil épidémiologique de la maladie, quelques généralités concernant la tuberculose, l'agent causal responsable de cette pathologie et sa transmission où nous mettons en exergue le diagnostic bactériologique de la tuberculose maladie ainsi que son traitement prophylactique et curatif.

Dans un second temps, nous exposons notre méthodologie de travail basée sur le diagnostic bacilloscopique des échantillons réceptionnés au niveau de l'unité de la recherche des BAAR (BK) du laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine et les résultats obtenus qui ont été confrontés aux données de la littérature.

Dans notre travail, nous nous sommes fixé pour objectifs :

en premier lieu, le diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire par la recherche des bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) dans les crachats en faisant

appel à l'examen microscopique des échantillons après coloration de Ziehl-Neelsen à chaud,

en second lieu, la réalisation de deux études, l'une prospective sur une durée de quatre mois (Janvier, Février, Mars et Avril 2018) et une autre rétrospective descriptive durant une période de trois ans afin d'estimer la prévalence de la maladie sur le total des patients suspectés d'être atteints de tuberculose durant cette période, ainsi que les caractéristiques de la population étudiée.

Étude bibliographique

1 Historique

La tuberculose est une maladie infectieuse au long cours aux manifestations très divers qui affecte les hommes et les animaux (Chiali, 2014). Elle a été l'un des grands fléaux connue par l'humanité depuis des époques antiques. Cette maladie a été appelée par de nombreux noms, « peste blanche », « grande faucheuse », « consommation » ou encore « phtisie » (Hassani et Laalaouani, 2014).

Vraisemblablement d'origine bovine, les scientifiques ont relèvé des traces de lésions de cette maladie sur des momies égyptiennes, dans la littérature chinoise, en Inde et plus tard dans le nouveau monde sur une momie précolombienne du VIII^{ème} siècle (Moreau et Saluzzo, 2017).

Si elle avait déjà été très bien décrite du temps d'Hippocrate, il a fallu attendre 1882 pour que Robert Koch découvre et cultive le germe responsable de cette terrible maladie. Ce microorganisme a été dénommé le bacille de Koch (BK) en l'honneur de celui qui l'a mis en évidence (Fares, 2018).

À la fin de VIII^{ème} siècle et au début de IX^{ème} siècle, la tuberculose devient un véritable fléau ; à cette époque la cure hygiéno-diététique et le repos dans les établissements spécialisés étaient la seule chance de guérison pour les tuberculeux, car il n'existait pas encore de traitement médicaux (Fares, 2018).

Ce n'est qu'en 1908 que les scientifiques Français Albert Calmette et Camille Guérin ont isolé le bacille de Koch de plusieurs milieux où il avait perdu son pouvoir pathogène mais conservé sa capacité à induire une réponse immunitaire. Ceci a mené à la découverte d'un vaccin reposant sur l'injection de bacilles tuberculeux vivants mais de virulence atténuée appelé BCG « Bacilles de Calmette et Guérin » (Mandal, 2017).

Des antibiotiques ont été utilisés contre la tuberculose pour la première fois en 1944 après que le microbiologiste Américain Waksman avait découvert le premier antibiotique actif contre le bacille tuberculeux appelé la streptomycine. Les vingt années qui suivent ont témoigné la découverte d'autres médicaments avec le même effet antituberculeux que la streptomycine qui sont l'isoniazide (1952), l'éthambutol (1961) et la rifampicine (1965) (Fares, 2018).

La disponibilité d'un traitement efficace a eu un impact favorable sur l'évolution de la tuberculose. Cependant, la régression du nombre des cas avait commencé avant même la découverte des antibiotiques, ceci est suite à l'amélioration des conditions de vie de la population. Ce fait indique parfaitement le caractère social de la maladie où l'apparition et l'évolution sont essentiellement liées à la pauvreté et à la promiscuité qui en découle très souvent (Fares, 2018).

2 La tuberculose

2-1 L'infection tuberculeuse

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par un micro-organisme aérobic à croissance lente de la famille Mycobacteriaceae. Cette dernière, comprend des formes pathogènes pour l'homme et l'animal, des formes occasionnellement pathogènes et des formes saprophytes non pathogènes. La bactérie la plus souvent à l'origine de la tuberculose humaine est *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis* ou bacille de Koch ou BK), qui fait partie des mycobactéries du complexe tuberculeux comprenant également *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti* et *Mycobacterium canettii* (Brändli *et al.*, 2007).

L'infection tuberculeuse résulte de la première pénétration du bacille tuberculeux dans un organisme indemne de tout contact antérieur (Huchon, 1994). Le seul signe de l'infection tuberculeuse est la réaction tuberculique ou la sensibilisation des lymphocytes.

L'atteinte pulmonaire est la plus fréquente et représente 80 % des localisations tuberculeuses, c'est pratiquement la seule localisation qui représente la source habituelle de transmission de la tuberculose. À partir de la localisation pulmonaire initiale, le bacille tuberculeux se multiplie et gagne d'autres parties du corps via le système sanguin, le système lymphatique, les voies aériennes, ou par propagation directe à d'autres organes (Aït-Khaled *et al.*, 2010).

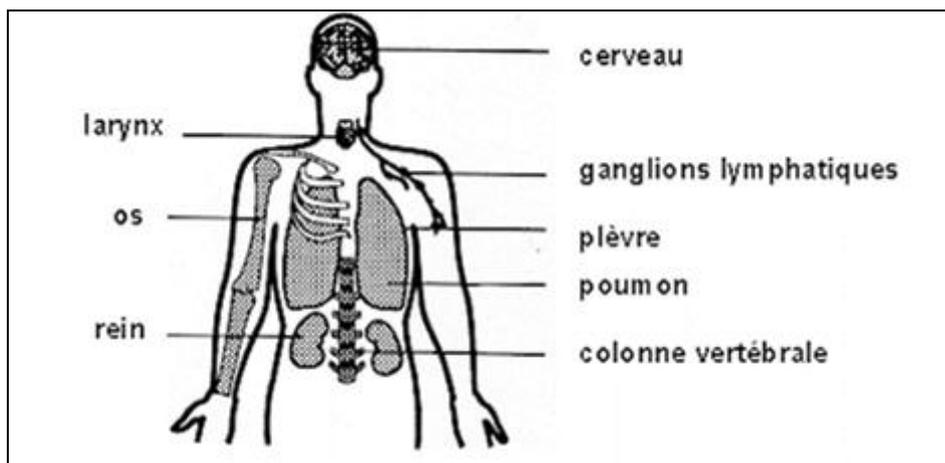


Figure 1: Les plus fréquentes localisations anatomiques de la tuberculose. http://m.20-bal.com/pars_docs/refs/8/7020/7020_html_2fc136a.png

2-2 La tuberculose pulmonaire

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 de 15 jours, de signes radiologiques et biologiques.

Elle est due soit à une réinfection endogène à distance d'une primo-infection non traitée (cas le plus fréquent) ; soit à une réinfection exogène massive (plus rarement) (Docplayer, 2015).

2-2-1 La primo-infection

Dans la majorité des cas, la primo-infection tuberculeuse aboutit au contrôle de la réplication du bacille grâce à la mise en place de la réponse immune retardée (3 à 9 semaines après le comptage). L'importance du foyer pulmonaire initiale peut laisser une cicatrice radiologique. Plus rarement, la réponse immunitaire est dépassée et le bacille tuberculeux disséminé dès ce stade de primo-infection (Meyssonier, 2012).

2-2-2 La tuberculose pulmonaire commune

C'est une forme de tuberculose pulmonaire post primaire, caractérisée par une combinaison de lésions exsudatives menant à la caséification et à la formation de cavernes et de lésions productives évoluant vers la fibrose.

Elle est la plus fréquente et représente 80 % des localisations tuberculeuses. C'est pratiquement la seule localisation permettant la transmission de la tuberculose.

Elle est la résultante soit de manière rare d'une aggravation progressive du foyer initial de la primo-infection soit d'une infection exogène à partir d'un sujet contagieux, soit

d'une réinfection endogène à partir de foyers tuberculeux latents ganglionnaires ou parenchymateux où le bacille tuberculeux peut persister toute la vie à l'état dormant. Il peut s'agir, également, d'une tuberculose pulmonaire insuffisamment ou non traitée, ayant laissé en place des bacilles (Coulibaly, 2011).

2-3 La tuberculose extra-pulmonaire

Elle représente environ 25 % des cas déclarés. Elles peuvent être associées ou non aux formes pulmonaires. L'infection des différents organes par voie hématogène, lymphatique ou aérienne, peut se traduire par une localisation prédominante alors que le foyer initial a déjà disparu. Le diagnostic repose sur l'isolement de *M. tuberculosis* complexe sur les prélèvements, ou sur l'anatomie pathologique (Bouheraoua, 2013).

2-3-1 La méningite tuberculeuse

L'atteinte du système nerveux central représente environ 5 % de tous les cas de tuberculose extra-pulmonaire est ceci aussi bien chez l'homme que chez la femme. La méningite tuberculeuse survient classiquement surtout chez l'enfant de moins de 5 ans ; elle est le résultat soit d'un ensemencement méningé et de la prolifération du bacille tuberculeux, soit d'une rupture d'un vieux foyer tuberculeux (Huchon, 1994).

2-3-2 La pleurésie tuberculeuse

Elle est en général unilatérale, mais peut être bilatérale dans un quart des cas. Elle est isolée ou associée à l'atteinte d'une autre séreuse ou à une tuberculose pulmonaire. Le liquide est citrin, séro-fibrineux, riche en lymphocytes. La pleurésie hémorragique et le pneumothorax sont peu fréquents. Le BK recherché par l'examen direct ou la culture est rarement retrouvé. La biopsie pleurale à l'aiguille d'Abrams permet un diagnostic rapide lorsqu'elle montre des granulomes caséeux (Traore, 2011).

2-3-3 La tuberculose ganglionnaire

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

Ces formes plus généralisées sont décrites en particulier dans l'infection par le VIH au stade du syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) (Bouheraoua, 2013).

2-3-4 La tuberculose ostéo-articulaire

La forme la plus fréquente est le mal de pott qui est l'atteinte de la partie antérieure du corps vertébral. Le BK peut atteindre une ou plusieurs vertèbres par voie hématogène. Il provoque une nécrose caséuse des bords ou du stroma des corps vertébraux qui s'effondre et déforme le rachis avec apparition d'une gibbosité. La moelle et les racines nerveuses peuvent être lésées par des abcès intra rachidiens ou des lésions osseuses (Traore, 2011).

2-3-5 La tuberculose digestive

La contamination du tube digestif se fait par déglutition de sécrétions contaminées. L'ensemble du tube digestif peut être atteint de la bouche à l'anus, avec des lésions pouvant aller de l'ulcération à la masse pseudotumorale. La maladie peut évoluer vers l'hémorragie, l'obstruction, la fistulisation, la perforation et causer des troubles sévères de mal absorption (Bouheraoua, 2013).

2-3-6 La tuberculose urogénitale

La localisation rénale est fréquente. Elle peut rester longtemps asymptomatique avant l'apparition de signes et symptômes génito-urinaires : dysurie, pollakiurie, nycturie, douleurs lombaires ou abdominales, sensibilité/œdème des testicules ou épидидymite ou hématurie. L'état général est le plus souvent conservé. Environ 20 % des patients présentes des symptômes constitutionnels.

Chez la femme, la contamination de l'appareil génital peut également se faire par voie hématogène. Alors que, chez les hommes la localisation génitale est secondaire à une localisation rénale (Varaine et Rich, 2014).

3 Épidémiologie de la tuberculose

3-1 Épidémiologie de la tuberculose dans le monde

Malgré les grands progrès réalisés au cours des dernières décennies, la tuberculose, responsable de 4500 décès par jour, reste la principale cause infectieuse de mortalité dans le monde (OMS, 2018).

En 2016, 6,3 millions de nouveaux cas de tuberculose ont été signalés (contre 6,1 millions en 2015), soit 61 % de l'incidence estimée (10,4 millions), dont 90 % sont des adultes, 65 % des personnes de sexe masculin, et 10 % des personnes vivants avec

le VIH (dont 74 % d'Africains). Parmi ces cas, 56 % venaient de cinq pays : l'Inde, l'Indonésie, la Chine, les Philippines et le Pakistan (OMS, 2017).

La figure suivante représente la répartition de l'incidence mondiale de la tuberculose par 100000 habitants (OMS, 2016).

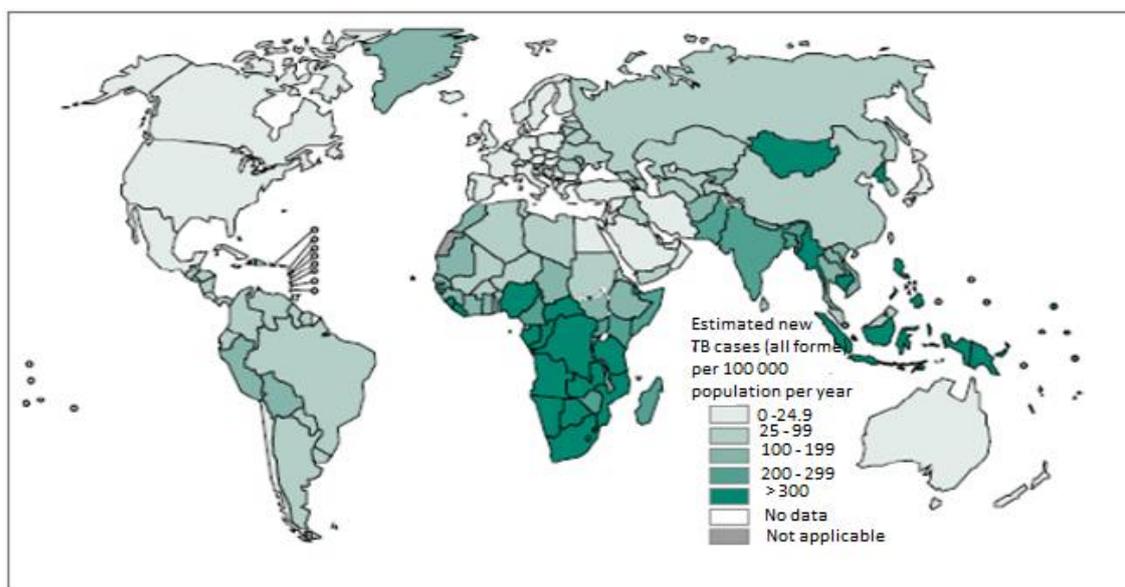


Figure 2: Répartition de l'incidence mondiale de la tuberculose par 100 000 habitants (WHO, 2016).

Le rapport de l'OMS sur la tuberculose dans le monde s'inscrit dans le cadre des stratégies mondiales et qui recommande la lutte contre la tuberculose et des cibles qui leur sont associés d'une part, et des objectifs de développement plus généraux d'autre part.

Parmi les cibles fixées dans la stratégie pour mettre fin à la tuberculose figurent notamment une réduction de 90 % du nombre de décès imputable à cette maladie et une réduction de 80% de l'incidence de la tuberculose (nouveaux cas par an), d'ici à 2030, par rapport à ce qui a été enregistré en 2015 (figure 2).

Pour atteindre ces objectifs, il a fallu prodiguer des services de soins et de prévention dans le cadre plus général de la couverture sanitaire universelle, engager une action multisectorielle face aux déterminants socioéconomiques de la tuberculose et à ses conséquences, et réaliser d'ici à 2025 des avancées technologiques permettant de faire reculer les taux d'incidence plus rapidement que par le passé (OMS, 2017).

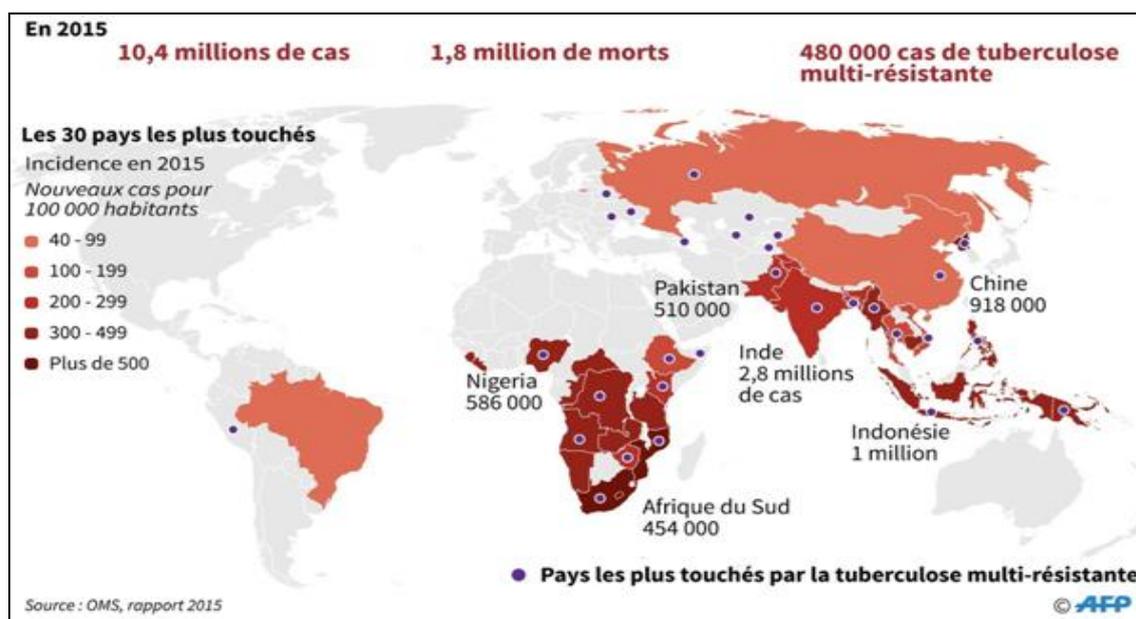


Figure 3: L'incidence de la tuberculose estimée dans le monde par 100 000 habitants (OMS, 2015)

3-2 Épidémiologie de la tuberculose en Afrique et en Algérie

La situation de la tuberculose en Afrique est la plus préoccupante, particulièrement en Afrique sub-saharienne. En effet, on estime qu'avec un risque annuel d'infection de 1,5 à 2,5 % la majorité des adultes ont été infecté par les germes appartenant à l'espèce *M. tuberculosis* et pourra donc développer une maladie tuberculeuse (Bouvet, 1995).

En Algérie, plusieurs périodes de l'évolution de situation épidémiologique de la tuberculose ont été identifiées (figure 3) et qui correspondent à des changements socioéconomiques ou à la prise en charge de la maladie (Alihalassa, 2018).

Avant l'indépendance, l'incidence de la tuberculose tournait autour de 300 cas pour 100 000 habitants. Au lendemain de l'indépendance et jusqu'à la fin des années quatre-vingts, 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.

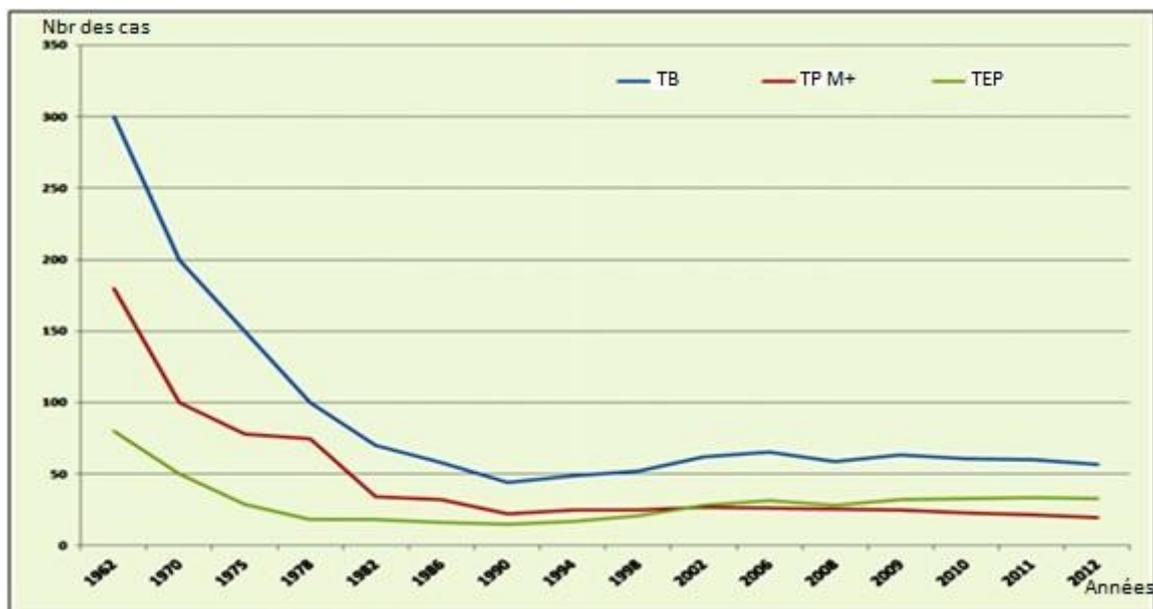


Figure 4: Evolution du taux de la tuberculose en Algérie (Alihalassa, 2018).

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. Durant cette période, l'incidence de la tuberculose extra pulmonaire (TEP) déclarée augmente rapidement dépassant de loin celle de la source de la maladie (TP) ces dernières années (Alihalassa, 2018).

3-3 Les facteurs modifiants l'épidémiologie de la tuberculose

- Les facteurs socio-économiques

Depuis 1850, l'incidence et la mortalité de la tuberculose ont diminué de 5 à 6 % par an. Cette amélioration est contemporaine du développement socio-économique des populations. La tuberculose est une maladie liée à la pauvreté où plus de 95 % des cas sont enregistrés dans les pays en développement et dans les populations pauvres, alors que dans les pays industrialisés, elle touche généralement les groupes sociaux les plus défavorisés (Varaine et Rich, 2014).

- L'infection par le VIH

L'immunodépression induite par le VIH est un facteur de risque majeur de progression de l'infection tuberculeuse vers une TB évolutive et a un impact important

sur l'épidémiologie de la TB. Après l'infection par *M. tuberculosis*, le risque de développer une TB évolutive au cours de la vie est d'environ 10 %. Toutefois, chez les patients co-infectés par le VIH et *M. tuberculosis*, ce risque est d'environ 10 % par an (Varaine et Rich, 2014).

- La résistance aux antibiotiques

De façon concomitante à la résurgence de la tuberculose, la majorité des pays en voie de développement et certains groupes de population des pays industrialisés ont assistés à une augmentation de la fréquence de la résistance aux antituberculeux ce qui est expliqué par l'accès limité aux structures de soins (malades sans domicile fixe, toxicomanes, immigrés...) (Loïez-Durocher *et al.*, 2000).

4 Les mycobactéries

4-1 Classification et nomenclature des mycobactéries

Le terme *Mycobacterium* provient de deux racines empruntées au grec « *Myces* » pour champignons et « *Bakterion* » petit bâton (Carbonnelle *et al.*, 2003).

Les bactéries du genre *Mycobacterium* appartiennent à la famille des Mycobacteriaceae classée dans l'ordre des Actinomycetales (figure 5) dont le pseudomycélium rudimentaire se présente habituellement sous forme de petits bacilles, immobiles, non sporulés ayant parfois des éléments renflés, cunéiformes ou ramifiés.

Ces bactéries sont caractérisées par une propriété tinctoriale particulière : l'aptitude à conserver la coloration malgré l'action combinée de l'alcool et des acides dilués : elles sont dites acido-alcool-résistantes (Chiali, 2014).

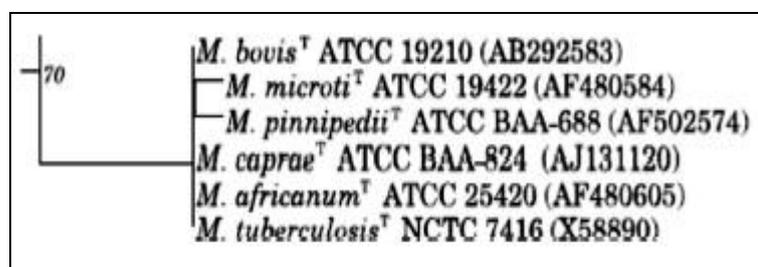


Figure 1: Arbre phylogénique selon la méthode des distances NJ construit d'après séquences du gène qui code pour le 16S rRNA qui montre la position phylogénique des espèces type du complexe tuberculeux (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2012).

Les mycobactéries responsables de la tuberculose humaine sont divisées en trois grands groupes :

- Complexe *Mycobacterium tuberculosis* : ce groupe comprend *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* et *M. canetti*. Elles peuvent provoquer la "tuberculose" (TB) chez l'homme. Les cas de TB sont dus en grande majorité à *M. tuberculosis*, les autres organismes étant relativement rares.

- *Mycobacterium leprae* est l'agent causal de la lèpre.

- Mycobactéries non tuberculeuses (MNT) : ce groupe comprend toutes les autres mycobactéries potentiellement pathogènes pour l'être humain (Varaine et Rich, 2014).

4-2 Caractéristiques générales de *Mycobacterium tuberculosis*

4-2-1 Caractères morphologiques

Mycobacterium tuberculosis est un parasite strict de l'homme, il est le principal agent causal de la tuberculose humaine. Il n'est pas présent dans l'environnement sauf en cas de contamination accidentelle des produits par l'homme infecté (Chiali, 2014).

En microscope optique, *M. tuberculosis* apparaît sous forme d'un bacille fin (bâtonnet) à extrémités arrondies, légèrement incurvé, mesurant 2 à 5 μm de long sur 0,2 à 0,3 μm de largeur (figure 6). Il est immobile, incapable de former des spores, des conidies ou des capsules.

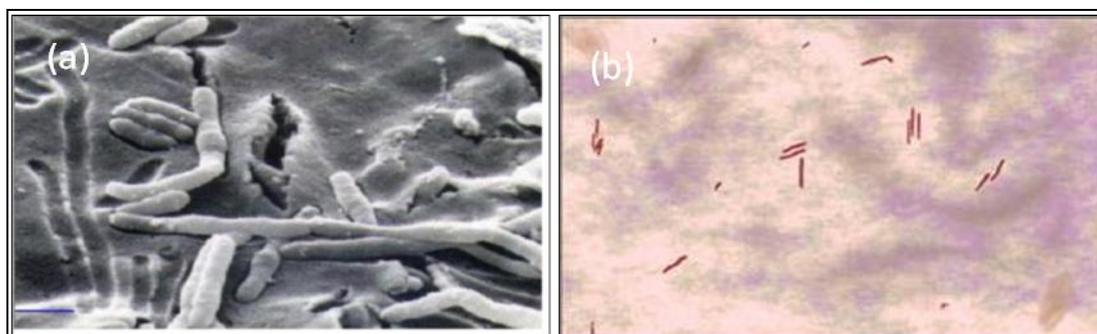


Figure 2: Structure de *Mycobacterium tuberculosis*, (a) l'aspect en bâtonnet de *M. tuberculosis* en microscopie électronique; (b) vue en microscopie optique de *M. tuberculosis* (Hassani et Laalouani, 2014).

En tant que procaryote, les mycobactéries ont une structure physique commune à celle des autres cellules à paroi bi-membranée : présence de deux membranes superposées, la membrane interne ou membrane cytoplasmique et la membrane externe ou enveloppe cellulaire encore appelée paroi cellulaire. La paroi des mycobactéries présente une constitution biochimique exceptionnelle en phospholipides et en lipopolysaccharides. Celle-ci confère aux cellules la résistance à la lyse osmotique et à l'action de la plupart des détergents et acides usuels (Kevin et Alame, 2016).

Les mycobactéries sont constituées d'une grande quantité de lipides : ceux-ci représentent environ 60 % de la paroi.

La structure de base est représentée par un peptidoglycane lié d'une manière covalente avec un lipopolysaccharide : le mycolate d'arabinogalactane. Les sucres qui le constituent sont l'arabinose et le galactose attachés par des liaisons esters à des lipides spéciaux : les acides mycoliques. Ces acides mycoliques sont d'énormes molécules d'acides gras ramifiés de 60 à 90 atomes de carbone. Ce sont ces acides mycoliques qui confèrent aux mycobactéries leurs propriétés acido-résistantes.

L'agencement des principaux constituants de la paroi de *M. tuberculosis* peut se concevoir de la manière suivante : au-delà de la membrane cytoplasmique le peptidoglycane forme la structure de base. Ensuite vient le polymère d'arabinogalactane qui rattache le peptidoglycane aux acides mycoliques qui sont situés dans la partie la plus externe de la paroi (figure 7) (Chiali, 2014).

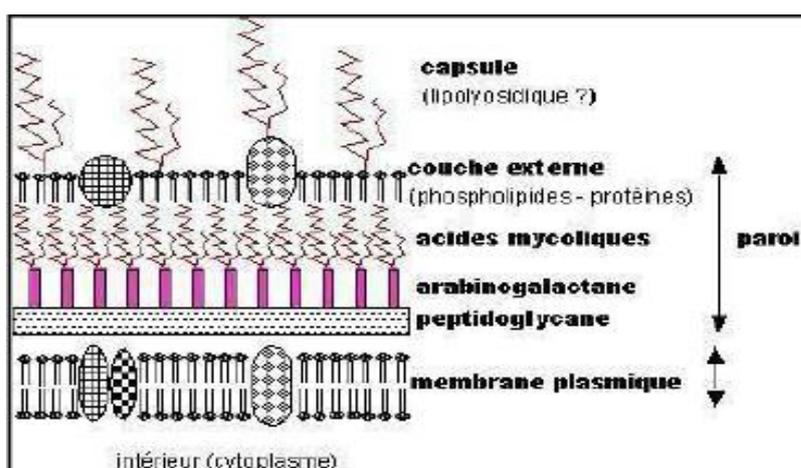


Figure 3: Structure de la paroi des Mycobactéries (Chiali, 2014).

4-2-2 Caractères cultureux

Les mycobactéries tuberculeuses se caractérisent par leurs exigences nutritives, aspect caractéristique des colonies et lenteur de croissance ; ce sont des germes aérobies stricts, toute diminution en apport d'oxygène entrave leurs cultures. La température optimale de croissance est de 35 à 37 °C, le pH physiologique est de 6,9 (Hassani et Laalouani, 2014).

M. tuberculosis ne cultive pas sur les milieux de cultures ordinaires ; parmi les nombreux milieux de cultures qui ont été utilisés, le milieu le plus utilisé est celui de Lowenstien Jensen en raison de sa grande sensibilité.

Lors de la primo culture, les colonies du *M. tuberculosis* s'y développent en moyenne en 21 à 28 jours. Les colonies apparaissent opaques, arrondies, de couleur crème. En se développant, elles prennent un aspect rugueux et verruqueux torsadé en « chou-fleur » (figure 8).

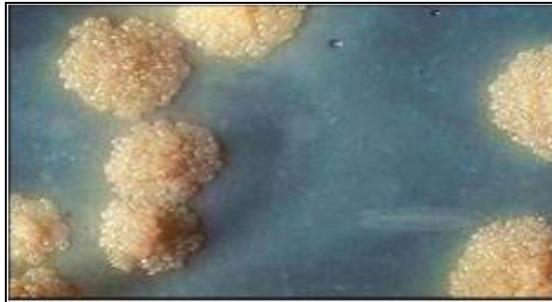


Figure 4: Aspect des colonies du *M. tuberculosis* sur milieu de Lowenstein Jensen (Chiali, 2014).

4-2-3 Caractères biochimiques

Les mycobactéries sont des aérobies stricts, qui possèdent à la fois l'enzyme la nitrate réductase qui réduit les nitrates en nitrites et une catalase active qui décompose l'eau oxygénée en libérant l' O_2 . Elles synthétisent une quantité importante d'acide nicotinique dont la présence révélée par le bromure cyanogène à 10 % et l'alanine.

4-2-4 Caractères génétiques

Le génome de la souche *M. tuberculosis* a été entièrement séquencé, il comprend plus de 4.4 méga bases correspondant à 4000 gènes des protéines et 50 gènes codant des acides ribonucléiques.

Le *M. tuberculosis* est caractérisé par la présence d'un seul opéron d'ARN, ce qui contribuerait à expliquer la lenteur de la multiplication et de croissance du bacille. La stabilité génétique est remarquable avec un niveau de variation allénique très faible (Waaziz, 2015).

5 Transmission

Dans le cas d'une tuberculose pulmonaire, la transmission du bacille est interhumaine et s'effectue essentiellement par voie aérienne. En toussant, en parlant ou en éternuant (figure 9).

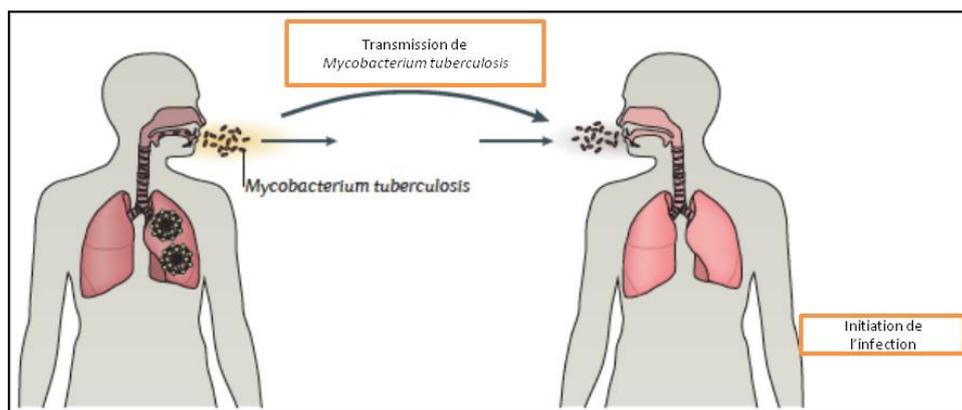


Figure 5: Mode de transmission majeur interhumaine de la tuberculose.

Le patient produit des gouttelettes infectieuses qui peuvent rester en suspension en air pendant plusieurs heures. La contamination se fait lors de l'inhalation des gouttelettes infectieuses (Waaziz, 2015).

Les autres modes de transmission sont beaucoup moins fréquents, l'inoculation muqueuse ou cutanée est rare, toutefois des cas ont été observés chez les personnels de laboratoire. La contamination digestive par *M. bovis* peut survenir par la consommation de lait de vache contaminé (Waaziz, 2015).

6 Diagnostic de la tuberculose

6-1 Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique de la TB consiste à observer les manifestations de la maladie tuberculeuse chez le malade (figure 10). Certaines comme la toux persistante de plus de 14 jours consécutifs au moins associée à une perte de poids sont des signes évocateurs tandis que, d'autres symptômes tels que la fatigue généralisée, les sueurs nocturnes et les douleurs thoraciques viennent renforcer encore plus la présomption d'une TBP active. Cependant les personnes ayant une TB latente ne présentent pas ces manifestations cliniques et restent à risque de développer une tuberculose maladie au cours de leur vie (Kevin et Alame, 2016).

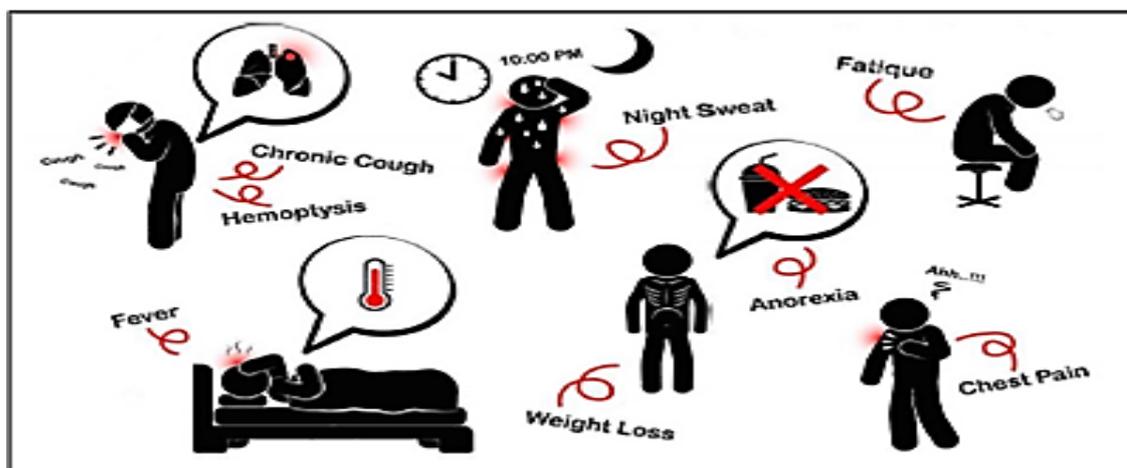


Figure 6: Tableau clinique résumant la symptomatologie de la tuberculose pulmonaire
<https://thumbs.dreamstime.com/z/sympt-mes-de-tuberculose-51202074.jpg>.

6-1-1 L'intradermo-réaction (IDR)

Le test de Mantoux, ou intradermoréaction à la tuberculine, est un examen cutané. Il explore la réaction d'hypersensibilité retardée induite par les antigènes mycobactériens (*M. tuberculosis* complex, BCG et certaines mycobactéries atypiques). C'est le seul test réellement quantitatif. Il consiste en l'injection intradermique de 0,1 ml de la solution de tuberculine à 10 unités au niveau de la face antérieure de l'avant-bras ou préférentiellement à la face externe du deltoïde (figure 11-a). L'injection doit être strictement intradermique et exsangue. La réalisation d'une papule "en peau d'orange" affirme le caractère intradermique de l'injection. La lecture se fait à partir de la 72^{ème} heure avec mesure de la zone d'induration, bien qu'elle puisse être différée jusqu'au 5^{ème} jour chez les sujets âgés pour lesquels la réaction peut se développer plus lentement (figure 11-b) (Majdaoui, 2016).

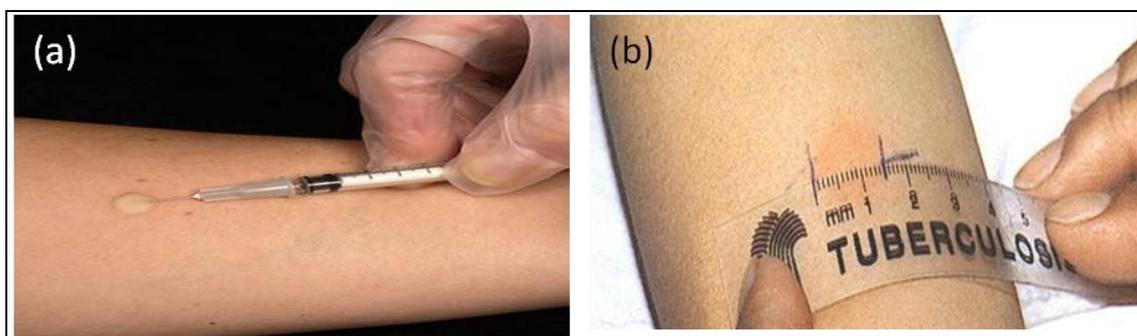


Figure 7: Test IDR, (a): technique d'injection intradermique; (b): technique d'interprétation d'une intradermoréaction à la tuberculine.

(a) : http://www.maxisciences.com/tuberculose/test-et-depistage-de-la-tuberculose_art29070.html ; (b) : https://www.ecodibergamo.it/stories/Cronaca/tubercolosi-un-caso-alle-medietest-sugli-alunni-di-una-classe_1103234_11/.

L'interprétation des résultats doit être réalisée en fonction des antécédents vaccinaux (tableau 1) (Bouklata, 2016).

Tableau 1: Interprétation du test à la tuberculine.

Diamètre (mm)	Signification clinique de l'infection tuberculeuse
< 5	Négative
5 à 10	Possible mais peu probable aux mycobactéries atypiques ou <i>M.bovis-BCG</i> ➡ à répéter le test 2 mois plus tard
>10	Positive : infection tuberculeuse probable

6-1-2 La radiographie pulmonaire

L'examen d'imagerie est souvent suffisant pour le diagnostic de la tuberculose. Les images les plus typiques sont : opacités nodulaires plus ou moins confluentes, infiltrations péri-broncho vasculaires et cavitations.

Les localisations classiques sont le segment postérieur du lobe supérieur ou segment apical du lobe inférieur (figure 12) (Diawara, 2012).

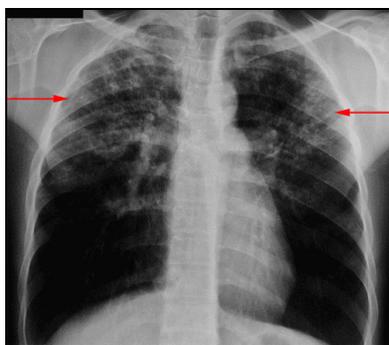


Figure 8: Image infiltrative des deux sommets pulmonaire avec du lobe supérieur droit matérialisé par l'ascension de la branche droite de l'artère pulmonaire (plus haute que la branche gauche).

http://www.respir.com/doc/abonne/base/ImagerieRT_Tuberculose.asp

6-2 Diagnostic bactériologique

Les espèces du genre *Mycobacterium* sont difficilement colorées par la coloration de Gram. Le principe des colorations (Ziehl-Neelsen, auramine) des mycobactéries repose sur la propriété d'acido-alcool-résistance (Denis *et al.*, 2011).

6-2-1 Coloration de Ziehl-Neelsen

Le frottis est recouvert de fuschine phéniquée, puis chauffé pour être coloré. Il est ensuite décoloré successivement par de l'acide sulfurique et de l'alcool. Tout le

frottis devra être décoloré complètement puis recoloré avec du bleu de méthylène (annexe 1).

Le bacille tuberculeux est coloré en rouge par la fuschine et cette coloration résiste à l'acide et à l'alcool, d'où le nom de Bacille Acido-Alcool-Résistant (BAAR).

Au microscope optique les bacilles tuberculeux apparaissent comme de fins bâtonnets rouges légèrement incurvés, plus ou moins granuleux, isolés par paire ou en amas, se détachant nettement du fond bleu de la préparation (figure 13-a) (Coulibaly, 2011).

6-2-2 Coloration à l'auramine

Le principe est le même, seulement pour cette coloration la fuschine est remplacée par l'auramine, observés au microscope à fluorescence, sous la lumière bleue ou rayonnement UV, les BAAR apparaissent comme des bâtonnets jaune vert brillants sur fond sombre (figure13-b).

C'est pourquoi les frottis colorés par l'auramine peuvent être examinés avec un objectif de faible grossissement(x 25). La surface de chaque champ microscopique observé étant 16 fois plus grande qu'avec un objectif à immersion (x 100) ; l'examen microscopique est plus rapide, plus aisé, et plus sensible (Coulibaly, 2011).

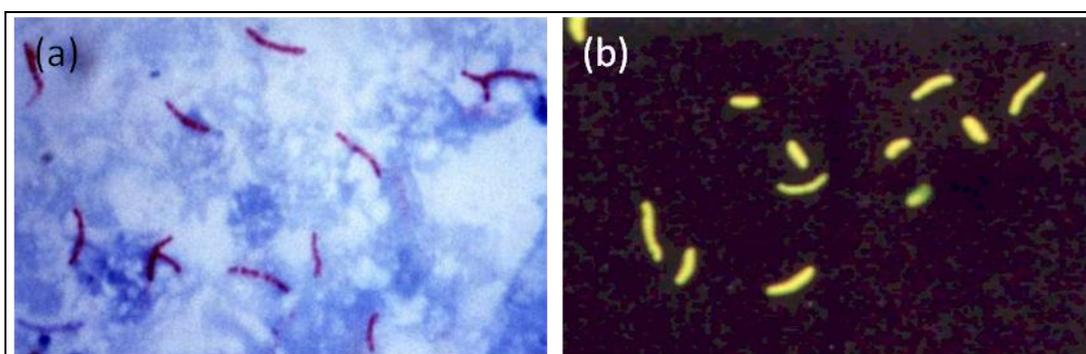


Figure 9: Aspect des BAAR après coloration: (a) de Ziehl-Neelsen; (b) à l'auramine
(a) : <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/tuberculosis>.

(b) : <https://atomscientific.com/product/TB-Fluorescent-Stain-Kit-II-Auramine-Rhodamine-P-henol>.

6-3 Diagnostic après culture

L'obtention d'une culture est actuellement le moyen le plus sûr d'établir le diagnostic bactériologique de la tuberculose et des mycobactérioses. Elle permet d'identifier l'espèce, de réaliser l'étude de sa sensibilité aux antibiotiques et même de mettre en œuvre des études épidémiologiques.

C'est un moyen sensible car, théoriquement, tout bacille viable donne naissance à une descendance. La culture est l'élément auquel sont comparées les autres méthodes. Quelle que soit la méthode de culture retenue, la nécessité d'utiliser des milieux enrichis

et la croissance lente des mycobactéries, font qu'il est indispensable, avant d'ensemencer les prélèvements provenant de cavités ouvertes, il faut décontaminer les échantillons afin de se débarrasser des micro-organismes commensaux dont la croissance plus rapides empêcherait celle des mycobactéries (Chiali, 2014).

Sur les milieux solides à base d'œufs (Löwenstein-Jensen et Coletsos), la culture primaire est obtenue en moyenne au terme de deux à quatre semaines d'incubation.

La culture en milieux liquides améliore la croissance soit en moyenne cinq à 14 jours, selon la richesse de l'échantillon clinique (Kevin et Alame, 2016).

7 La lutte contre la tuberculose

7-1 Prévention par le BCG

Le BCG est un vaccin préparé à partir de bacilles tuberculeux bovins. Ces derniers sont vivants mais ont perdu leur virulence. Le BCG n'empêche pas l'infection par le bacille tuberculeux mais protège les enfants contre les formes graves de la maladie (méningite, formes disséminées...). La protection de l'adulte est controversée (environ un cas sur deux) ; il a donc peu d'impact sur l'épidémiologie (Traore, 2005).

Le BCG est contre-indiqué en cas de déficits immunitaires congénitaux ou acquis touchant l'immunité cellulaire. Et temporairement en cas de maladie dermatologique étendue évolutive (eczéma en période suintante) (Aitouslimane, 2017).

7-2 Traitement curatives par les chimiothérapies

Le traitement curatif consiste à soigner le malade tuberculeux en faisant usage d'antibiotiques (ATBs) substances naturelles ou synthétiques ayant un effet inhibiteur sur la croissance des mycobactéries tuberculeuses.

Les schémas thérapeutiques recommandés par l'OMS sont basés sur l'utilisation d'une gamme restreinte d'ATBs dont les actions bactéricide et bactériostatique impactent à la fois les bacilles en croissance et les formes dormants. Mais, face aux phénomènes de plus en plus fréquents de la tuberculose multirésistante (TB-MDR) et la tuberculose ultrarésistante (XDR), les gammes limitées de combinaisons thérapeutiques permises par la vingtaine d'antituberculeux disponible ne sont pas toujours efficaces.

On dénombre trois principales combinaisons thérapeutiques antituberculeuses adaptées aux germes sensibles (traitement de première ligne) et aux germes MDR et XDR (traitement de seconde ligne) (Kevin et Alame, 2016).

7-2-1 Chimiothérapie standardisée de première intention

Le traitement de première ligne est administré aux patients ayant une TB à germes sensibles. L'antibiothérapie s'étale sur une période de 6 mois et se subdivise en deux phases distinctes :

- La phase intensive, de 2 mois, comprend l'utilisation simultanée de la RIF, L'INH, le PZA et l'EMB.
- La phase dite de continuation, de 4 mois, avec uniquement la RIF et l'INH.

Le choix d'administrer quatre ATBs lors de la phase intensive est motivé par la présence d'une population bacillaire importante au site de l'infection qui comporte des bacilles pouvant être résistants à un ATB. La quadrithérapie vise à prévenir la sélection des bacilles résistants. Par contre, la phase de continuation est menée avec deux ATBs car le risque d'acquisition de résistances aux ATB y est moindre du fait d'une population bacillaire qui a été considérablement réduite lors de la phase intensive (Kevin et Alame, 2016).

7-2-2 Chimiothérapie standardisée de seconde ligne

La chimiothérapie de seconde ligne est destinée à traiter les TB à germes MDR, c'est-à-dire ayant acquis la double résistance à la RIF et l'INH, antituberculeux de première ligne. Il existe plusieurs combinaisons médicamenteuses spécifiquement optimisées contre les TB à germes MDR et XDR, respectivement. Ces régimes sont établis par la combinaison de différents ATBs des groupes deux (les agents injectables), trois (les FQs), quatre (les agents oraux bactériostatiques de seconde ligne) et cinq (agents à rôle indéterminé dans le traitement de la TB) (Kevin et Alame, 2016).

Matériel et méthodes

1 Lieu et durée de l'étude

Cette étude a été réalisée durant la période allant du 01 janvier 2018 au 30 avril de l'année 2018. Au cours de ces trois mois, nous avons effectué un stage pratique à l'unité de la recherche des BAAR (BK) au sein du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine (situé à la cité Mentouri Daksi).

2 Matériel biologique

Notre étude a porté sur l'ensemble des échantillons provenant des patients suspectés d'être atteints de la tuberculose pulmonaire. L'échantillon recueilli des patients est une expectoration bronchique (les crachats) qui est un amas de sécrétion provenant des bronches émis par un effort de toux vigoureux précédé d'une inspiration profonde.

L'échantillon doit être recueilli le matin au réveil pendant trois jours de suite. Il y'a en effet plus de chance de trouver des bacilles dans trois échantillons de crachats différents que dans un ou deux échantillons seulement.

2-1 Réception des échantillons

Selon les recommandations de l'Institut Pasteur d'Algérie, les échantillons réceptionnés au niveau du laboratoire doivent être transporté dans des récipients spécifiques appelés crachoirs (figure 14). 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 le nom, le prénom du patient, l'âge et la date du recueil.



Figure 10: Récipient de prélèvement des expectorations bronchiques

Dans le cas où les crachoirs sont envoyés au laboratoire par des centres de collecte périphériques il faut (selon les recommandations de l'Institut Pasteur d'Algérie) :

- Demander la liste portant les informations concernant les malades correspondants (cette liste doit être remise en main propre par le transporteur ou bien fixée sur la face extérieure de la boîte) aux crachoirs.
- Ouvrir la boîte de transport.
- Vérifier le bon état des crachoirs (Boulahbal *et al.*, 1990).

2-2 Enregistrement des échantillons

Lors de la réception des échantillons, nous avons enregistré les informations correspondants à chaque échantillon sur le registre du laboratoire et sur la feuille de renseignement (annexe 2) en respectant le numéro d'ordre interne, le nom et le prénom, l'âge, le service, l'examen demandé ainsi que la séquence des prélèvements (pour le premier, le deuxième ou le troisième prélèvement).

2-3 Recueil au niveau de la paillasse

Lors de la réception au niveau de la paillasse, nous avons vérifié les informations de chaque patient portées sur l'étiquette et la feuille de renseignement puis nous les avons enregistré sur le registre de l'unité en mentionnant le numéro d'ordre interne, le nom, le prénom et l'âge du patient, ainsi que le service.

3 Biosécurité

La biosécurité est indispensable au niveau du laboratoire de la tuberculose afin d'éviter toute contamination contagieuse du personnel du laboratoire.

Il est important de porter une blouse et une sur-blouse, des gants pour les mains et une bavette médicale pour éviter la contamination par voie respiratoire. La manipulation des crachats s'effectue obligatoirement sous une hotte de sécurité bactériologique, classe 1 (type BK).



Figure 11: Hotte de sécurité bactériologique de classe 1, type BK 1, E.S.T FLUFRANCE

4 Recherche des BAAR

4-1 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 correspond à celle 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 rigide et préalablement stérilisée, on étale une parcelle mucopurulente ou une parcelle hémorragique de crachat en une couche mince et sur une surface rectangulaire de 3cm / 2cm. Par la suite, le frotti est laissé sécher à l'air sous hotte et l'anse de platine est immédiatement flambée.

Une fois le frotti est sec, il sera fixé par deux à trois passages au-dessous de la flamme du Bec Bunsen.

4-2 Coloration de Ziehl-Neelsen à chaud

- Coloration à la fuchsine de Ziehl

Nous avons placé les lames sur un support en métal et nous les avons recouvertes en totalité de fuchsine de Ziehl filtrée sur papier. Nous avons laissé agir pendant 10 minutes tout en chauffant les lames deux fois toutes les trois minutes jusqu'à émission de vapeur, en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant.

Si nécessaire, il faut rajouter de la fuchsine pour que les lames soient toujours recouvertes.

Après coloration, l'excès de la fuchsine est rejeté et les lames sont rincées à l'eau du robinet. Il faut éviter le détachement du frottis.

- Décoloration à l'acide-alcool

Nous avons recouvert les lames d'acide sulfurique dilué à 25 % et nous les avons laissé agir pendant trois minutes. Après lavage à l'eau, les lames sont recouvertes 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

Nous avons recoloré les frottis par une solution de bleu de méthylène filtrée sur papier filtre et nous avons laissé réagir pendant 30 secondes à une minute. Les lames sont ensuite rincées à l'eau du robinet et laissées sécher à l'air libre.

5 Examen microscopique

Une fois les lames séchées, elles sont examinées par le microscope optique à l'objectif d'immersion (x100).

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).

Lorsque les champs situés sur la première longueur de la lame sont examinés, on déplace d'avant en arrière le chariot de quelques millimètres et on recommence à parcourir une nouvelle longueur de la lame de droite à gauche (figure 15) ; si le frottis est toujours négatif on lit une 3^{ème} longueur (Boulahbal *et al.*, 1990).

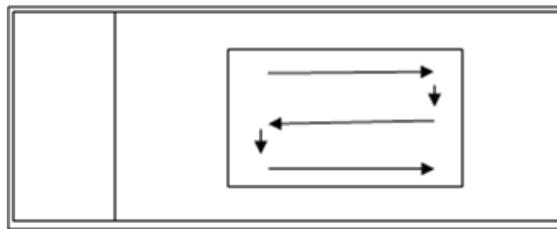


Figure 12: La lecture en créneau de la lame après coloration de Ziehl-Neelsen.

Si l'on ne trouve aucun BAAR dans les 300 champs de la lame, on déclare la négativité de la lame.

Si la lame présente des BAAR, on compte tous les bacilles ainsi observés sur 10, 20 ou 100 champs selon que le frottis est très riche (fortement positif +++), moyennement riche (moyennement positif ++), pauvre (faiblement positif +) ou lame douteuse (\pm , et donc l'examen est à refaire). Ainsi nous avons suivi les recommandations du Ministère de la Santé Publique (tableau 2). En effet, le nombre de bacilles présents dans l'expectoration d'un malade est en relation directe avec son degré de contagiosité. Pour cette raison, le résultat est exprimé de façon quantitative (Ait-Khaled et Enarson, 1999).

Tableau 2: Notation des résultats (MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE, 2001).

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

Une fois la lecture terminée, les résultats sont reportés sur le registre sur la ligne correspondant au numéro d'ordre interne des patients puis sur les feuilles de réponse rendu au médecin traitant (annexe 3).

6 Conservation des échantillons

Quelles que soient les précautions prises pour le recueil, les prélèvements d'origine pulmonaire sont contaminés par les germes qui pullulent dans le rhinopharynx et dans la bouche.

Lorsqu'il n'est pas possible d'examiner les échantillons le jour même, ils doivent être conservés à + 4°C pour inhiber la multiplication de ces germes qui risquent de nuire à la vitalité des bacilles.

7 Destruction des lames négatives et stockage des lames positives

Une fois la lecture des lames est terminée, toutes les lames négatives sont rejetées dans un bidon en plastique approprié pour être incinérer.

Les lames positives sont recouvertes d'un papier sur lequel sont mentionnées les coordonnées du patient (nom et prénom), la date de l'examen microbiologique de l'échantillon et le nombre des BAAR retrouvés par champ ; puis on les stocke dans des boites spécifiques en tant que références.

8 Désinfection du site de travail

À la fin de chaque séance de lecture, le microscope est systématiquement essuyé de toute trace d'huile et est maintenu couvert d'une housse pour le protéger de la poussière.

Les surfaces et les sols de travail sont désinfectés habituellement avec de l'eau de javel. S'il y a eu une ou des lames positives, la désinfection s'effectue par des lampes à vapeur à mercure dites « germicides » donnant un rayonnement riche en UV.

Tous les crachoirs qui ont été utilisés sont déplacés vers le nettoyage. Les crachoirs correspondant aux bacilloscopiques positifs sont immergés dans une solution de formol pendant un jour afin de détruire les bacilles. Ces crachoirs sont mis dans un sachet plastique hermétique pour être incinérés.

9 Étude rétrospective descriptive

Nous avons effectué une étude rétrospective allant du 01 janvier 2015 au 31 décembre 2017 ; soit une période de 3 ans. Cette étude a porté sur l'ensemble des échantillons destinés au diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire.

Les données (nom, prénom, âge et service) sont recueillies rétrospectivement à partir des registres fournis par les responsables de l'unité de la recherche des BAAR (BK) du L.H.W.C.

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

Résultats et discussion

Durant les trois mois de stage, nous avons étudié tous les échantillons envoyés pour un diagnostic bactériologique de la tuberculose et qui ont été reçus au niveau de l'unité de la recherche des BAAR (BK) du L.H.W.C.

L'objectif principal de notre travail de master, est de mettre en évidence la présence de *Mycobacterium tuberculosis* dans les crachats des patients suspectés d'être atteints d'une tuberculose pulmonaire, afin de définir qu'il s'agit d'une infection tuberculeuse ou pas.

L'objectif secondaire est de déterminer la fréquence et le profil épidémiologique de la tuberculose pulmonaire dans le L. H.W.C., Cité Mentouri Daksi.

1 Recueil des échantillons

Les échantillons réceptionnés au niveau de l'unité de la recherche des BAAR (BK) (L.H.W.C.) sont d'origine pulmonaire : essentiellement des expectorations.

Sur un total de 474 échantillons réceptionnés, 65 sont récoltés durant le mois de janvier, 94 durant le mois de février 117 et 198 échantillons durant les mois de mars et avril respectivement.

Nos échantillons s'agissent exclusivement des crachats puisque ils sont les plus riches en BK émiés suite à un effort de toux ; pour cette raison, il est nécessaire d'examiner au moins trois échantillons successifs pour chaque patient.

Le nombre des échantillons varie d'un mois à un autre où le mois d'avril a témoigné le nombre le plus élevé des échantillons réceptionnés. Ceci peut être expliqué par la demande de certaines administrations de réaliser l'examen microscopique des crachats pour le contrôle des employeurs au cours de leur travail.

2 Origine des échantillons

Les échantillons réceptionnés proviennent de différentes structures de soins (CHU, secteur sanitaire et TA) et de différentes administrations. La figure 18 illustre la répartition des échantillons selon leur provenance.

Nos échantillons proviennent en grande partie de patients ayant consultés au niveau de C.H.U Benbadis de Constantine avec 48,52 %. Ils proviennent également de différentes administrations : université avec 18,99 %, l'Établissement de Réadaptation Constantine (E.R.C) avec 10,97 % et la police avec 7,38 %. Les échantillons des patients en ambulatoire représentent 8,23 %.

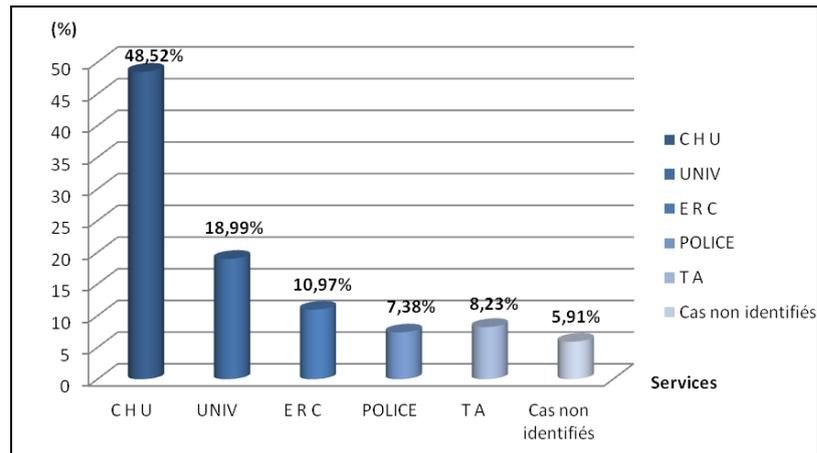


Figure 13: Répartition des échantillons selon la provenance

Les échantillons provenant de C.H.U ainsi que ceux des E.R.C et du traitement ambulatoire (T.A) correspondant à des patients présentant des symptômes respiratoires durables : toux persistante, crachats de couleur inhabituelle ou sanguinolentes, douleurs dans la poitrine à la respiration ou pendant la toux en plus d'une perte d'appétit et de poids.

Alors que, les échantillons provenant de l'université et de la police sont ceux des patients destinés au contrôle sanitaire pour le recrutement et le contrôle au cours de leur travail.

3 Recherche des BAAR

Après coloration de 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 16). Les bacilles sont légèrement incurvés, isolés ou regroupés en paires et pour quelques frottis regroupés en amas.

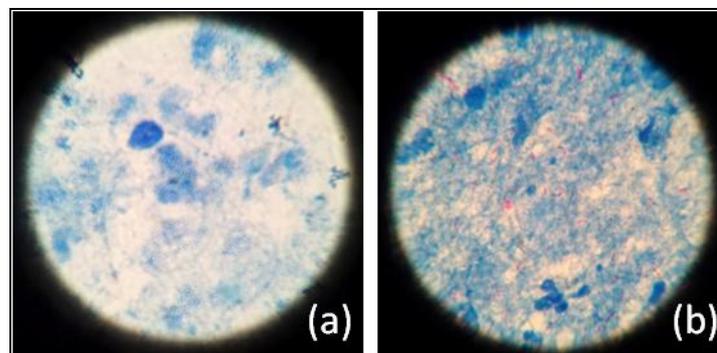


Figure 14: Résultats de l'examen microscopique des frottis après coloration de Z.N Grossissement x100, Microscope (OLYMPUS CH 20). Photographie prise par appareil photo SAMSUNG au niveau du .H.W.C; (a) lame négative (présence de 0 BAAR /champ), (b) lame positive (présence plus de 60 BAAR/champ).

Les BAAR retiennent le colorant de la fuchsine malgré l'action décolorante de l'acide et de l'alcool : c'est l'acido-alcool-résistance. Cette propriété permet la détection des BAAR au microscope sur des frottis de produits pathologiques. Elle est considérée comme un critère d'identification du genre *Mycobacterium* grâce à la composition particulière et complexe de leur paroi riche en lipides essentiellement les acides mycoliques.

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

Mois	Janvier	Févier	Mars	Avril	Total
Bacilloscopie					
Positive	00	02	03	03	08
Négative	65	92	114	195	466
Total	65	94	117	198	474

La bacilloscopie a montré la présence de BAAR pour seulement 1,63 % des échantillons pulmonaires durant les quatre mois d'étude. Cependant, ce taux de positivité varie d'un mois à un autre, il est de 0 % en janvier ; de 2,13 % en février et de 2,56 % et 1,52 % durant les mois de mars et d'avril respectivement (figure 19).

La bacilloscopie positive signifie que le patient est bacillifère. Cela veut dire que le patient a une tuberculose pulmonaire et peut être contagieux surtout si la lame est fortement positive. En effet, ce dernier est considéré comme la principale source d'infection et de transmission de la maladie. Il doit être immédiatement mis en isolement respiratoire. Son traitement permet de briser la chaîne de transmission du bacille de la tuberculose.

La négativité des résultats peut être due à la croissance lente de la bactérie; par conséquent, le développement de la maladie est plus lent. Cela peut signifier que les patients ne risquent pas de transmettre le bacille *M. tuberculosis* à leur entourage ; mais lorsqu'ils sont négligés, ils peuvent devenir des sources actives d'infection et qui peuvent être confirmés par la culture seulement.

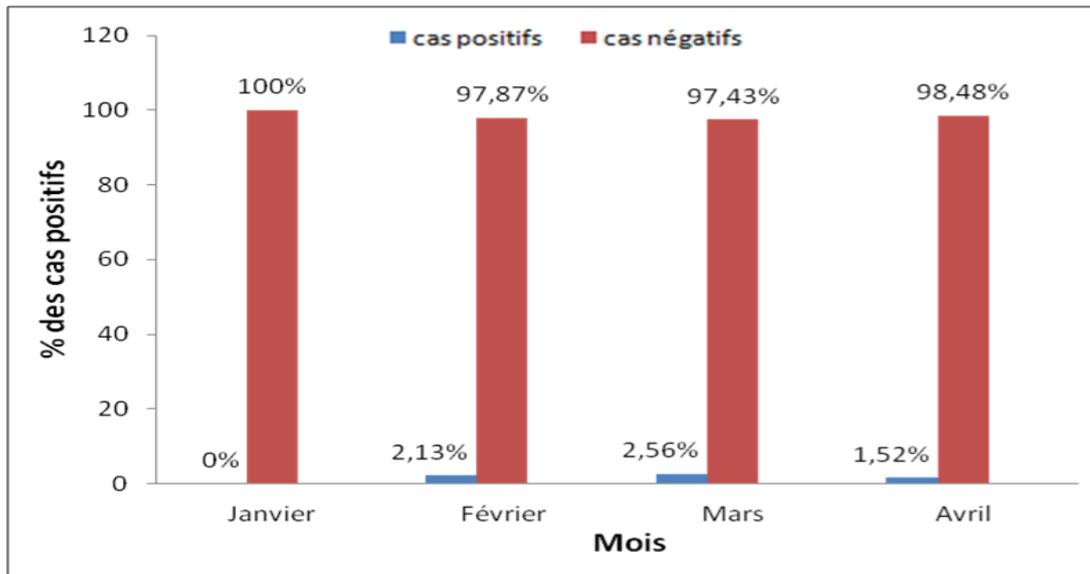


Figure 15: Taux des cas positifs obtenus par mois.

Durant les quatre mois, la majorité des cas enregistrés (sept cas) sont des patients ayant consultés au niveau de CHU dont trois femmes et quatre hommes. Seulement un cas (homme) a consulté au service du traitement ambulatoire. Nous avons marqué une prédominance masculine de 62,5 % avec un sexe ratio (M/F) de 1,67.

En pratique, l'examen microscopique des échantillons après la coloration de Z-N permet de dépister 60 à 80 % des cas positifs. Cet examen, peu coûteux et rapide, permet une approximation quantitative du nombre de germes excrétés (nombre de BAAR par champ).

Le diagnostic microbiologique de la tuberculose est essentiellement orienté par l'examen microscopique et qui révèle les formes les plus contagieuses de la tuberculose pulmonaire.

4 Étude rétrospective descriptive

Toujours dans le cadre de la préparation de notre mémoire de Master, nous avons mené une étude rétrospective de trois ans : du 01^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2017.

À partir des registres du L.H.W.C, nous avons pu colliger 3845 dossiers de patients nécessitant une analyse bactériologique des crachats dont 2407 sont des hommes et 1438 sont des femmes. Pour l'année 2015, l'unité a réalisé 1476 examens soit un pourcentage de 38,39 %. Durant l'année 2016, 977 examens ont été réalisés et 1392 examens en l'année 2017 soit des pourcentages de 25,41 % et de 36,20 % respectivement.

La diminution de la fréquence des cas diagnostiqués pour la tuberculose pulmonaire durant l'année 2016 peut être expliquée par la nécessité du diagnostic et l'efficacité du traitement antituberculeux. Ces résultats concorde avec celles de Alihlassa où il montre que 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 (Alihlassa, 2018).

Cependant, l'augmentation de cette fréquence en 2017 peut être due à l'effet du brassage des populations ces dernières années.

La figure 20 représente la répartition par mois, des échantillons examinés au niveau du L.H.W.C durant les trois ans de l'étude.

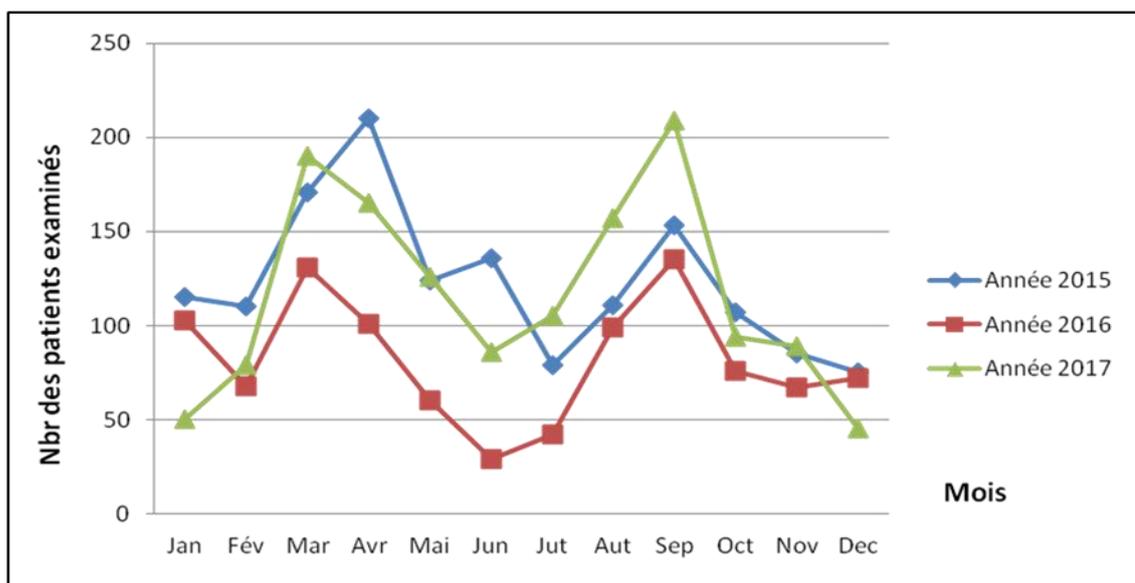


Figure 16: Répartition du nombre d'échantillons examinés au niveau du L.H.W.C par mois durant les trois ans.

En général, le laboratoire H.W.C reçoit un nombre variable d'échantillons par mois allant de 29 à 210 échantillons. Cependant, les statistiques obtenues durant les trois ans montrent que les mois de Mars, Avril et Septembre ont témoigné le nombre le plus élevé des échantillons examinés. Cette constatation peut être expliquée par la demande de certaines administrations de réaliser l'examen microscopique des crachats pour le recrutement aux emplois, le contrôle des employeurs au cours du travail (les cuisiniers), les inscriptions pédagogiques (étudiants résident dans les universités) et les concours professionnels (exemple le concours de recrutement dans la police).

4-1 La prévalence de la tuberculose pulmonaire

La prévalence renseigne sur le nombre de 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 3845 échantillons analysés durant les trois ans d'étude, seulement 83 ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 2,15 % (figure 21).

Au niveau du L.H.W.C, la prévalence de la tuberculose pulmonaire était de 2,44 % (n= 36) en 2015, 1,74 % (n= 17) en 2016 et 2,16 % (n= 30) en 2017. Cette prévalence est plus élevée durant 2015 suivie de celle de 2017 alors que 2016 a montré une faible prévalence.

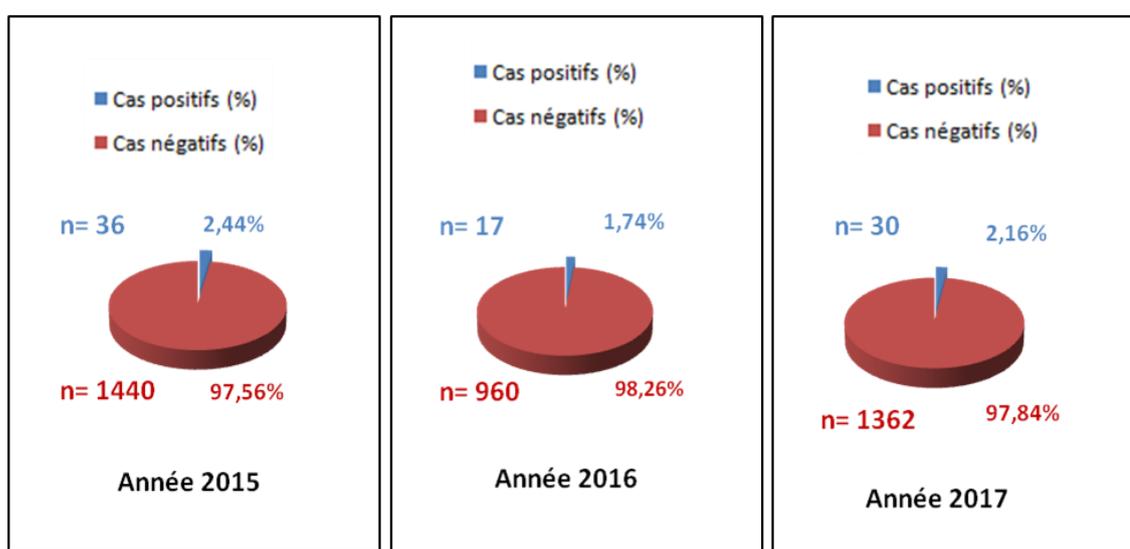


Figure 17: La prévalence de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive au L.H.W.C durant les trois ans.

Si on compare nos prévalences avec les prévalences des trois années précédentes 2012, 2013 et 2014 qui sont de 1,74 %, 2,04 % et 2,44 % respectivement, on constate que la prévalence de la tuberculose pulmonaire est en augmentation, alors qu'elle est stable durant les années 2014 et 2015. Ces prévalences obtenues sont peu négligeable par apport à celles déclarées dans les pays à forte et à faible incidence.

Dans la plupart des pays en voie de développement le taux de prévalence reste toujours élevé comme le cas de Nigeria où il est estimé de 586 cas pour 100 000 habitants en 2015, ce qui est attribuable principalement à la pauvreté, à la croissance démographique associée par les phénomènes de migration, l'augmentation des cas tuberculeux dans les zones de l'épidémie de VIH, la paupérisation des services de santé liée à la négligence des autorités sanitaires vis-à-vis de la lutte contre la tuberculose.

Alors que, dans les pays développés ce taux est faible comme le cas de Namibie où il est estimé de 12 cas pour 100 000 habitants, ceci est grâce au bon niveau de vie et d'hygiène et à la facilité de l'accès aux soins.

Selon les recommandations de la direction de la prévention (Ministère de la Santé), le programme national de lutte antituberculeuse a pour but général de réduire la transmission du bacille de la tuberculose dans la population algérienne, et de diminuer progressivement la morbidité et la mortalité liées à la tuberculose jusqu'à ce que cette dernière ne représente plus un problème majeur de santé publique (Ministère de la santé publique, 2011).

4-2 Paramètres épidémiologique de la population étudiée

4-2-1 Répartition des cas positifs selon le sexe

Notre étude consiste à démontrer selon le sexe, le nombre de patients suspectés chaque mois pendant trois ans, en faisant ressortir les cas positifs. Les résultats de notre étude sont résumés dans la figure ci-dessous.

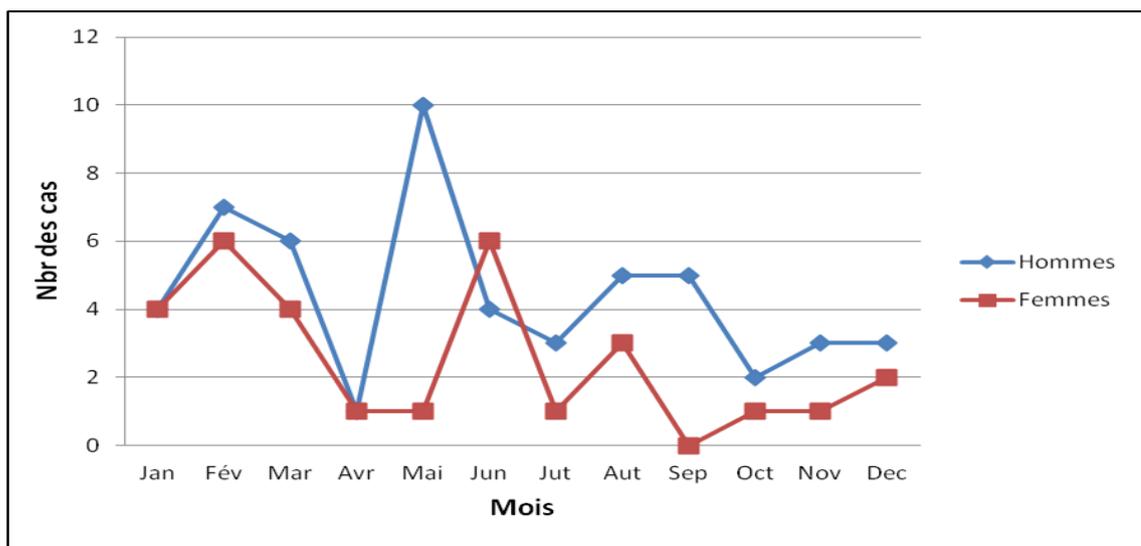


Figure 18: Répartition des cas positifs selon le sexe, par mois durant les trois ans.

Ces résultats montrent que 53 patients de sexe masculin ont été diagnostiqués positifs pour la tuberculose pulmonaire, après mise en évidence du bacille de Koch par examen direct alors que chez le sexe féminin, 30 cas ont été enregistrés par bacilloscopie positive. La répartition des cas positifs selon le sexe par mois a montré qu'il n'y a pas un effet significatif de saison.

Dans cette étude, nous avons constaté que la tuberculose pulmonaire touche plus les hommes avec un pourcentage de 63,86 % des cas par apport à 36,14 % des cas de

sexe féminin avec un sexe ratio (M/F) de 2,30 (figure 23). La prédominance masculine peut être expliquée par l'exposition aux facteurs de risques tels que l'antécédent de tabagisme, alcoolisme, consommation de drogues et des maladies respiratoires professionnelles.

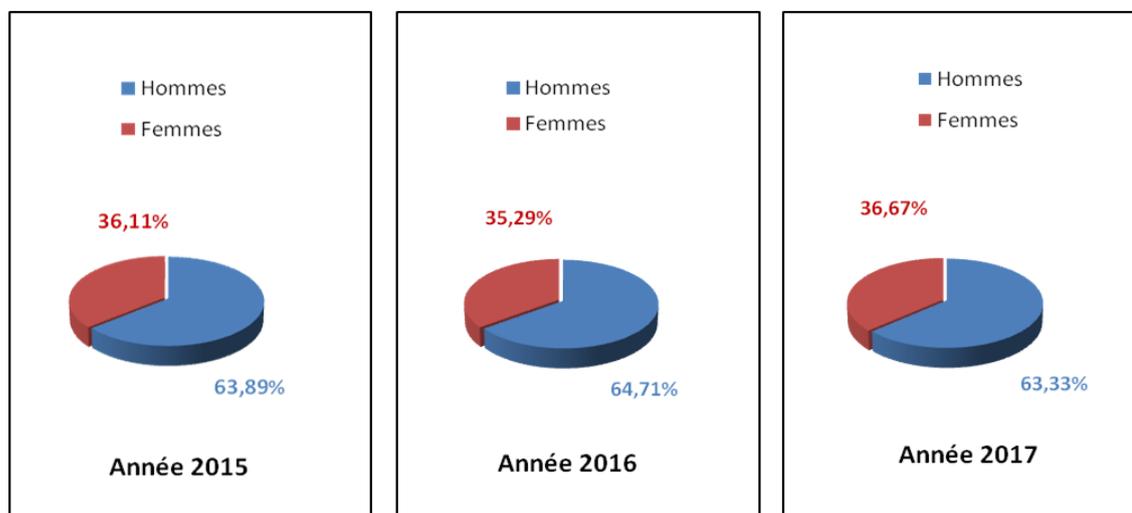


Figure 19: Répartition des cas positifs selon le sexe pendant les trois ans.

Ces résultats rejoignent la tendance mondiale où l'observation de l'incidence de la tuberculose selon le genre montre qu'elle est toujours élevée chez les hommes.

4-2-2 Répartition des cas positifs selon la tranche d'âge

La répartition des patients à bacilloscopie positive selon le groupe d'âge est représentée dans le tableau suivant.

Tableau 4: Répartition des cas positifs selon la classe d'âge.

Âge	[0-14]	[15-24]	[25- 34]	[35- 44]	[45- 54]	[55- 64]	≥ 65	Total
Nombre	00	18	26	05	17	05	07	78*
%	00	23,08	33,33	6,41	21,80	6,41	8,97	100

*5 cas non identifiés

La tuberculose est une maladie qui touche toute les tranches d'âge de la vie des individus.

Ce paramètre a été précisé dans 78 cas identifiés et 5 cas non identifiés. Tous les âges ont été concernés par la tuberculose sauf chez les enfants âgés de moins de 14 ans.

Nous avons enregistré une prédominance dans la tranche d'âge de 15 à 54 avec 84,62 % (figure 24).

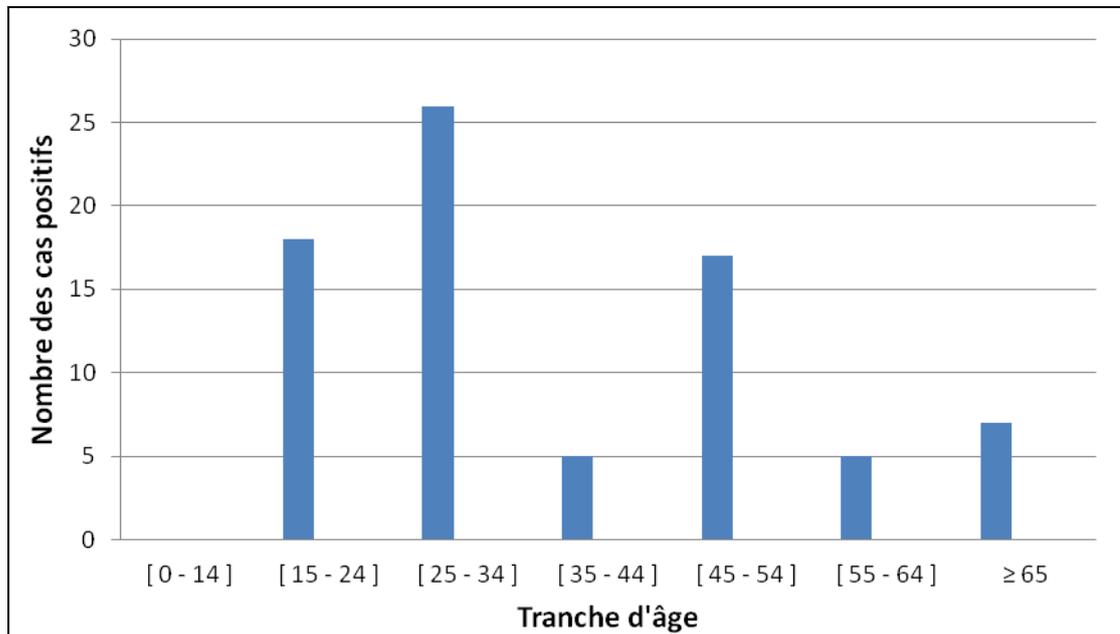


Figure 20: Répartition des cas positifs selon e groupe d'âge.

L'âge des patients diagnostiqués durant cette étude a été un facteur important dans la sensibilité à l'infection par le bacille de Koch. Ainsi, nous avons constaté que les enfants moins de 14 ans ont été les moins touchés, cela est due à une meilleure prise en charge par les moyens de prévention telle que la vaccination par le BCG.

Ces résultats ont montré que les sujets âgés de 25 à 34 ans et de 45 à 54 ans ont été les plus touchés avec des pourcentages de 33,33 % et 21,80 % respectivement. Ces groupes d'âge constituent la force la plus active de la population et aussi sujettes aux migrations et aux facteurs de contagion par la tuberculose.

Chez les patients âgés de 54 à 64 ans et plus de 65 ans ont été diagnostiqués positifs avec 6,41 % et 8,97 % respectivement. Ces sujets représentent un groupe vulnérable et à risque à toutes les infections, ce qui est expliqué par l'affaiblissement du système immunitaire et les différentes maladies chronique associées.

4-2-3 Répartition des cas positifs selon la tranche d'âge et le sexe

La tuberculose est une infection concernée par les deux genres masculin et féminin qui peut toucher toute les tranches d'âge de leur vie. Le tableau numéro cinq montre la situation de la tuberculose selon l'âge et le sexe.

Dans notre étude, les patientes enregistrées du genre féminin sont âgées entre 15 ans et 76 ans avec une moyenne d'âge de 37 ans. Alors que pour le genre masculin, ils sont âgés entre 15 ans et 79 ans dont la moyenne d'âge a été de 41 ans.

Tableau 5: Répartition des cas positifs selon l'âge et le sexe durant les trois ans.

Sexe \ Âge	Âge							
	[0-14]	[15-24]	[25- 34]	[35- 44]	[45- 54]	[55- 64]	≥ 65	Total
Femmes	00	09	09	01	05	01	03	28*
Hommes	00	09	17	04	12	04	04	50*

*2 cas non identifiés (femmes) ; *3 cas non identifiés (hommes).

Les hommes prennent encore la prédominance avec 64,10 %, alors que les femmes représentent que 35,90 % où la tranche d'âge la plus touchée est celle située entre 15 e 54 ans avec 84,86 %. On note aussi que la maladie est rare chez les enfants âgés moins de 14 ans et plus ou moins rare chez les sujets âgés de plus de 65 ans avec 15,14 % (figure 25) seulement, tandis que la maladie touche essentiellement la catégorie des jeunes adultes actifs ayant une situation socio-économique défavorable.

Nous avons remarqué que les adultes jeunes âgés de 25 à 34 ans sont les plus touchés par la tuberculose, ceci est certainement dû au dynamisme de cette population et leur force productive où le niveau de vie est bas et les conditions de travail défavorables, ainsi que sa grande exposition à la contamination par le *M. tuberculosis*.

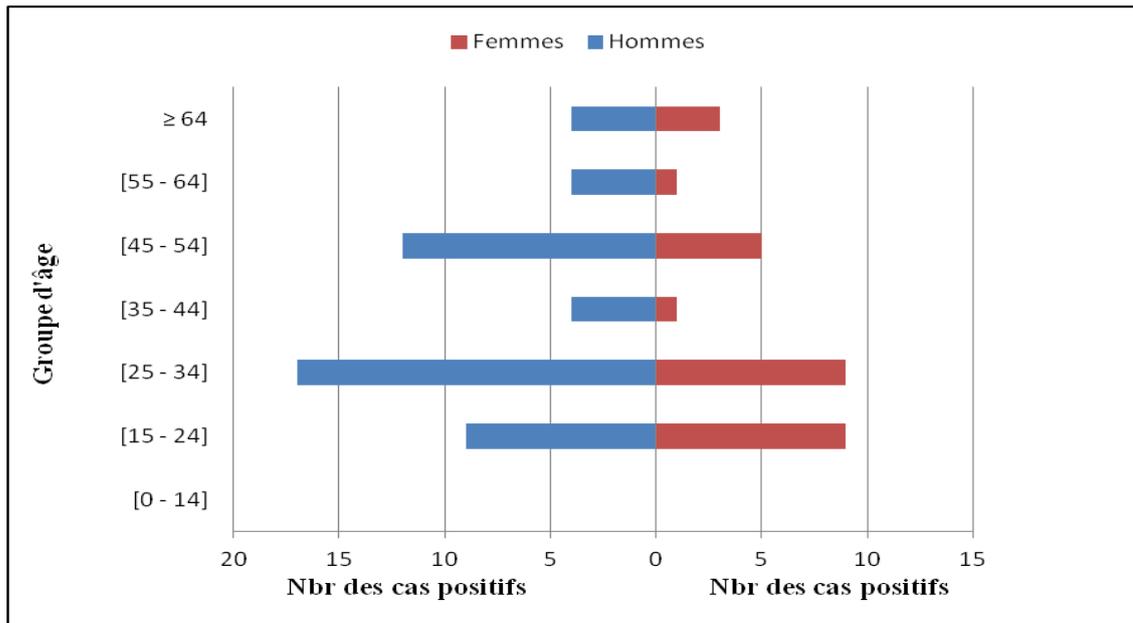


Figure 21: Représentation des cas positifs selon l'âge et le sexe.

4-2-4 Répartition des cas positifs selon la charge des BAAR

La figure 26 représente la répartition des patients à bacilloscopie positive selon la charge en BAAR dans les frottis. Cette figure permet de montrer que les patients à BAAR +++ (45,79 %) et à BAAR ++++ (48,19 %) sont les plus fréquents, alors que la fréquence des patients à BAAR ++ et BAAR +++++ est moindre avec des pourcentages de 3,61% et 2,41 % respectivement.

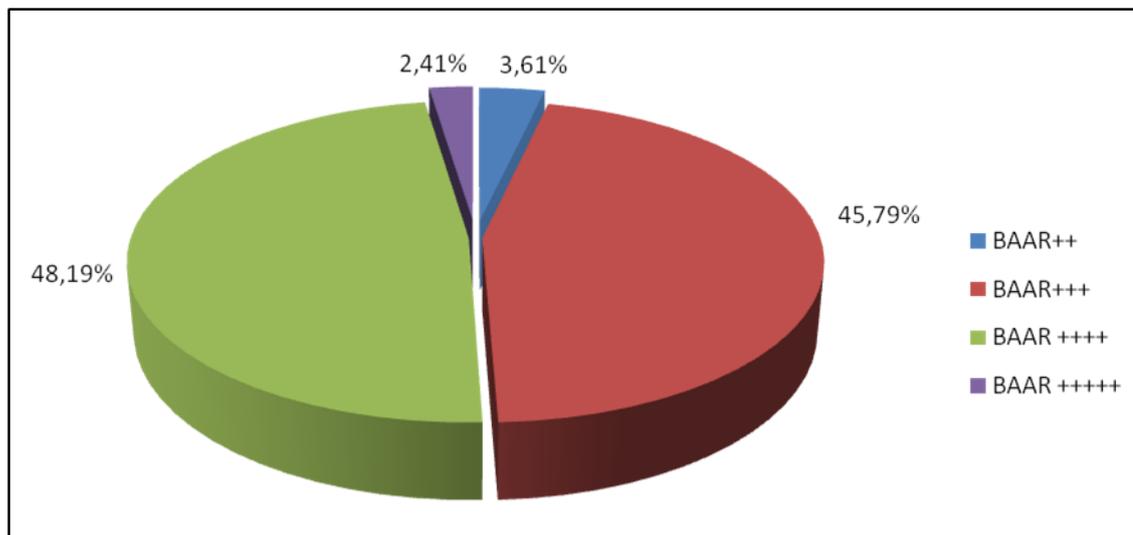


Figure 22: Répartition des patients à bacilloscopie positive selon la charge des BAAR dans les frottis.

Chez les patients ayant une tuberculose pulmonaire, la charge bactérienne est déterminée par le nombre des bacilles observés en microscope à l'examen direct. Dans notre étude, les patients à BAAR+++ et à BAAR++++ sont les prédominants avec

93,98% ; ces patients peuvent constituer une source de transmission du bacille et la dissémination de la maladie dans leurs entourage.

Le nombre élevé des BAAR trouvés à l'examen microscopique peut traduire l'évolution de la maladie et par conséquent la contagiosité de patient. Ceci peut être dû au mauvais suivi du traitement ou à la difficulté de l'accès aux soins.

Les patients à BAAR++ ont une faible fréquence (3,61 %), cette fréquence est traduite par le début de l'infection tuberculeuse ou par la diminution de la charge des bacilles au cours d'un traitement antituberculeux. Alors que les patients à BAAR+++++ présentent une fréquence de 2,41 % cela peut être expliqué par le stade avancé de maladie ou bien d'un échec thérapeutique après une résistance des bacilles aux antituberculeux.

4-2-5 Répartition des cas positifs selon la charge en BAAR et le sexe

La figure 27 représente la répartition de la charge des BAAR en fonction du sexe.

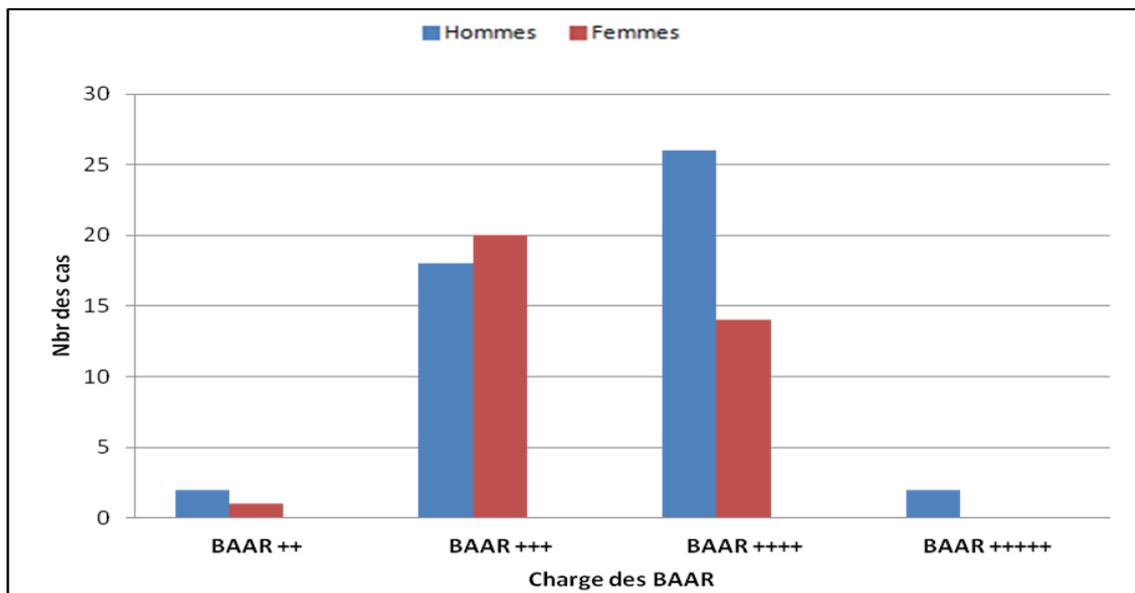


Figure 23: Répartition de la charge des BAR selon le sexe.

Dans cette étude, les patients à BAAR++, BAAR+++++ et à BAAR+++++ sont majoritairement du genre masculin avec 66,66 %, 65 % et 100 % respectivement ; alors que chez les patients à BAAR+++ sont principalement des femmes avec 63 %.

De manière générale, les hommes (à BAAR++, BAAR+++++ et à BAAR+++++) font face à un risque plus élevé de contracter la maladie que les femmes pour des

raisons propres au genre ; ils sont plus susceptibles de travailler dans des chantiers de construction qui les exposent à des particules ainsi que le déplacement pour le travail, ce qui peut causer des interruptions de traitement antituberculeux.

Alors que, chez les femmes (à BAAR+++), ont probablement un accès plus limité aux services de lutte et de prévention que les hommes. La tuberculose provoque un rejet social plus important chez les femmes, elles attendent généralement plus longtemps avant d'être diagnostiquées et traitées.

Conclusion

Malgré l'existence d'un programme de lutte antituberculeux, la tuberculose demeure un défi majeur de santé publique. 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.

Notre stage pratique de trois mois (04 Février au 30 Avril 2018), réalisé au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine a porté sur les objectifs suivants : suivre le diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire par bacilloscopie ainsi que la réalisation de deux études, une prospective durant trois mois et une autre rétrospective descriptive durant trois ans afin de décrire la prévalence de la maladie au niveau du laboratoire.

Durant notre stage, nous avons reçus 474 crachats provenant de différentes structures de soins (C.H.U et traitement ambulatoire) et de différentes administrations (l'université, l'établissement de réadaptation de Constantine et la police) à visés diagnostique. Les échantillons proviennent en grande partie de patients ayant consultés au niveau de C.H.U Benbadis de Constantine avec 48,52 %. La recherche des bacilles acido-alcool-résistant par la coloration de Ziehl-Neelsen a montré la présence de huit cas positifs soit une prévalence de 1,69 % dont sept cas envoyés de CHU et un seul cas de traitement ambulatoire. Nous avons marqué une prédominance masculine de 62,5 % avec un sexe ratio (M/F) de 1,67.

Nous avons, également, réalisé une étude rétrospective descriptive de trois ans (2015, 2016 et 2017) où nous avons pu colliger 3845 dossiers de personnes nécessitant une analyse bactériologique des crachats. Les résultats obtenus dans cette étude ont montrés que les mois de Mars, Avril et Septembre ont témoigné le nombre le plus élevé des échantillons examinés.

Sur l'ensemble, seulement 83 patients ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 2,15 %. Nos résultats ont fait part d'une prédominance masculine (63,68 %) que féminine avec une fréquence de 36,14 % et un sexe ratio (M/F) de 2,30. Nous avons constaté que la maladie touche majoritairement le groupe d'âge 15 à 54 ans.

Parallèlement, nous avons pu à travers les 83 cas à bacilloscopie positive, suivre l'évolution de la maladie par la charge bactérienne à l'examen microscopique.

Notre étude fait apparaître que les techniques conventionnelles de l'examen microscopique et de culture demeurent indispensables pour le diagnostic de certitude de la tuberculose maladie, cependant le manque de réalisation de culture et des tests de résistances bactériens constitue les limites de cette étude.

Cependant, une suite de ces travaux est indispensable afin d'avoir une étude complète et généralisée sur cette maladie et leur agent causal *M. tuberculosis*. Il serait important d'augmenter le nombre d'échantillons afin d'établir une situation épidémiologique significative, de procéder à la culture des cas positifs pour mener à l'identification de l'espèce causale et pour mieux déterminer les résistances primaires et secondaires des souches aux antituberculeux.

L'avènement des nouveaux outils (moléculaires) dans la pratique clinique de routine serait plus utile afin d'optimiser la lutte contre la tuberculose en diminuant le délai du diagnostic, allant même jusqu'à la détection rapide de la résistance aux antituberculeux.

Références bibliographiques

Ait-Khaled N. et D-A. Enarson (1999). Tuberculose. Manuel pour les étudiants en médecine. Union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires : Organisation Mondiale de la Santé 1999.

Ait-Khaled N. ; Alarcón E. ; Armengol R. ; Bissell K. ; Boillot F. ; Caminero J-A. ; Chiang C-Y. ; Clevenbergh P. ; Dlodlo R. ; Enarson D-A. ; Enarson P. ; Fujiwara P-I. ; Harries A-D. ; Heldal E. ; Hinderaker S-G. ; Lienhardt C. ; Monedero I. ; Rieder H-L. ; Rusen I-D. ; Trébucq A. ; Van Deun A. et N. Wilson (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.

Aitouslimane Y. (2017). Aspect épidémiologique et clinique de la tuberculose extra pulmonaire. Expérience du service de médecine interne de l'hôpital militaire Moulay Ismaïl de Meknes (à propos de 16 cas). Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Maroc : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, p 150.

Kevin A. et E. Alame (2016). Les infections à mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* à Libreville : profil des résistances aux antibiotiques et diversité génétique. Thèse de doctorat : Microbiologie et Parasitologie. Paris : Université Sorbonne Paris Cité, p 164.

Alihlassa S. (2018). Comprendre l'épidémiologie de la tuberculose en Algérie. *Revue des Maladies Respiratoires*, (N° 35), A234-A235.

Bouheraoua H. (2013). La tuberculose en 2011-2012 dans le service de médecine 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.

Bouklata N. (2016). Les bacilles tuberculeux circulants au Maroc pendant la période 2010-2012 : caractérisation phénotypique de la résistance & typage moléculaire. Thèse de doctorat : Microbiologie et Biologie Moléculaire. Maroc : Université Mohammed V, p 165.

Boulahbal F. et P. Chaulet (2004). La tuberculose en Afrique. *Épidémiologie et mesures de lutte. Médecine Tropicale*, 64 (N° 3), 224-228.

Bouvet E. (1995). *Épidémiologie de la tuberculose dans le monde. Revue française des laboratoires*. (N° 273), 53-56.

Brändli O. ; Desgrandchamps D. ; Gabathuler U. ; Helbling P. ; Müller M. ; Nadal D. ; Nicolet G. ; Quadri F. ; Rieder H. ; Rochat T. ; Zimmerli S. ; et J-P. Zellweger (2007). Manuel de la tuberculose. Suisse : Ligue pulmonaire suisse et Office fédéral de la sante publique. p 80.

Carbonelle B. ; Dailoux M. ; Lebrun L. ; Maugein J. ; et C. Pernet (2003). Biologie médicale. Mycobactéries, Mycobactérioses. Cahier de Formation. Édition Bioforma.

Chiali A. (2014). Apport de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) dans le diagnostic de la tuberculose cutanée. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en sciences médicales : Dermatologie. Algérie : Université d'Oran, p 220.

Coulibaly A. (2011). Étude descriptive des cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive dans le district sanitaire de selingue du 1^{er} juillet 2009 au 30 juin 2010. Thèse de doctorat. Mali : Université de Bamako, p 116.

Denis F. Martin C. (2011). Mycobactéries dans **Denis F. ; Ploy M-C. ; Martin C. ; Bingen E. et R. Quentin.** Bactériologie médicale. Edition : Elsevier Masson. p : 507-535.

Diawara N. (2012). Amélioration de taux de dépistage de la tuberculose dans le district de Fatick au Sénégal. Mémoire de fin d'étude de formation pour l'obtention du diplôme d'études supérieures spécialisées en gestion des services de santé. Sénégal : Centre Africain d'Études Supérieures en Gestion, p 80.

DOCPLAYER. La tuberculose pulmonaire commune. Dr Heddane, Pr Messaadi [en ligne] (page consultée le 26/01/2018). <http://docplayer.fr/65799950-La-tuberculose-pulmonaire-commune-dr-heddane-pr-messaadi.html>

FARES. Tuberculose [en ligne] (page consultée le 11/02/2018). <https://www.fares.be/fr/ligne-du-temps-tuberculose/>

Hassani Dj. et I. Laalouani (2014). Tuberculose pulmonaire de l'adulte dans la ville de Béjaia. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en médecine. Algérie : Université Abderrahmane Mira de Béjaia, p 140.

Huchon G. (1994). Tuberculose. Paris : ESTEM. p 119.

Loïez-Durocher C. ; Vachée A. et N. Lemaitre (2000). La résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux antituberculeux : méthodes diagnostiques. Annales de Biologie Clinique [en ligne], 58, N° 3, (page consultée le 11/02/2018) http://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/la_resistance_de_mycobacterium_tuberculosis_aux_antituberculeux_methodes_diagnostiques_50301/article.phtml

Majdaoui H. (2016). L'association tuberculose pulmonaire et diabète. Expérience du service de pneumologie à l'hôpital militaire Moulay Ismaïl (à propos de 98 cas). Thèse pour l'obtention de doctorat en médecine. Maroc : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, p 88.

Mandal M-A. (2017). Histoire de la tuberculose. News Medical Life Science [en ligne], (page consultée le 11/02/2018). [https://www.news-medical.net/health/History-of-Tuberculosis-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/health/History-of-Tuberculosis-(French).aspx)

Meyssonnier V. (2012). Épidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux. Thèse de doctorat : Épidémiologie. Paris : Université Pierre et Marie Curie, p 161.

Ministère de la sante publique (2011). Manuel de la lutte antituberculeuse à l'usage des personnels médicaux.

Moreau Y. et J-F. Salozzo (2017). Tuberculose poster n°1. La tuberculose quelques points d'histoire. Musée des sciences biologiques.

Organisation Mondiale de la Santé (2016). Rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde 2016. http://www.afro.who.int/sites/default/files/2017-06/gtbr2016_executive_summary_fr.pdf

Organisation Mondiale de la Santé (2017). Rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde 2017.

http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2017_executive_summary_fr.pdf

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/>.

Traore B-Y. (2005). Aspects épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie négative au service de Pneumophtisiologie de l'hôpital du point «G». Thèse pour obtenir le grade de Docteur en médecine. Mali : Université de Bamako, p 70.

Traore M-I. (2011). Evaluation de la prise en charge de la tuberculose dans le district sanitaire de Ségou. Thèse de médecine. Mali : Université de Bamako, p 68.

Varaine F. et M.L. Rich (2014). Guide pratique à l'usage des médecins, infirmiers, techniciens de laboratoire et auxiliaires de Santé. Edition : Médecins sans frontières et partners in health.

http://refbooks.msf.org/msf_docs/fr/tuberculosis/tuberculosis_fr.pdf

Waaziz A. (2015). La tuberculose viscérale chez l'enfant : épidémiologie, difficultés diagnostiques, apport de la chirurgie dans le diagnostic et le traitement (A propos de 5 cas). Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Maroc : Université Mohammed V- Rabat, p 223.

Annexes

Annexe 1 : Réactifs de Ziehl-Neelsen**-La fuchsine phéniquée de Ziehl**

Fuchsine basique	10 mg
Alcool à 95°	100 ml
Phénol aqueux	55 ml
Eau distillée	1000 ml

-Le bleu de méthylène

Bleu de méthylène	20 mg
Phénol aqueux	22 ml
Alcool à 95°	100 ml
Eau distillée	1000 ml

-Acide sulfurique au ¼

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

Annexe 3 : Un exemplaire d'une feuille de réponse

LABORATOIRE D'HYGIENE DE LA WILAYA
DE CONSTANTINE

FICHE REPONSE

Numéro d'ordre.....Reçu le :.....
Nom.....
Prénom :.....
Examen demandé par :.....
Recherche de B . K . dans :.....

Résultat :
Microscopie :.....
Culture :..... Nombre de col..... par.....tube (s)
Observation :.....

Constantine le ;.....
Chef de laboratoire

Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : NACER Latifa

LAKHEL Nihad

Diagnostic microbiologique de la tuberculose pulmonaire au Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine. Étude rétrospective de trois ans

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Écologie Microbienne

La tuberculose est une maladie infectieuse provoquée par une mycobactérie du complexe *tuberculosis* principalement *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch, l'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations et représente la source habituelle de transmission. Elle demeure encore un problème de santé publique dans le monde et en particulier en Algérie. Au cours de Notre stage réalisé au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine, 474 patients ont été testés par bacilloscopie en utilisant la coloration de Ziehl-Neelsen qui permet de mettre en évidence le nombre des bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) dans les crachats. Huit cas ont été diagnostiqués positifs. Ils proviennent majoritairement de CHU, avec une prédominance masculine (62,5%). L'étude rétrospective descriptive, a porté sur 3845 dossiers de personnes nécessitant une analyse bactériologique des crachats, colligés au cours des trois années 2015, 2016 et 2017. Quatre-vingt-trois patients ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 2,15 %. Nos résultats montrent également une prédominance masculine (63,68 %) avec un sexe ratio de 2,30. L'infection touche majoritairement le groupe d'âge entre 15 et 54 ans avec un pourcentage de 84,62 %.

Mots clés : Tuberculose pulmonaire, *Mycobacterium tuberculosis*, Coloration de Ziehl-Neelsen, Bacilloscopie.

Laboratoire de recherche : Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine

Jury d'évaluation :

Président du jury : *HAMIDECHI M. Abdelhafid* (Pr. - UFM Constantine),

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

Examineur : *MIHOUBI Ilhem* (Pr. - UFM Constantine).

Date de soutenance : 01/07/2018