



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie.

قسم : الميكروبيولوجيا.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Écologie et environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne.

Intitulé :

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

Présenté et soutenu par : *TALEB Souheila*

Le : 30/06/2020

CHIAL Kaouther

Jury d'évaluation :

Président du jury : *ALATOU Radia* (MCA - UFM Constantine).

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

Examineurs : *GACI Meriam* (MAA- UFM Constantine)

*Année universitaire
2019 - 2020*

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail de mémoire de Master, nous voudrions adresser nos vifs remerciements à :

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

Nous tenons à remercier avec une plus grande gratitude à Madame ALATOU R., Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri-Constantine de l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

Madame GACI M., Maître assistante à l'Université des Frères Mentouri-Constantine d'avoir bien voulu accepter d'examiner notre travail.

Nos remerciements s'adressent également à 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.

Résumé

La tuberculose est une maladie infectieuse et contagieuse provoquée par des mycobactéries du complexe tuberculeux principalement *Mycobacterium tuberculosis*. Elle touche principalement les poumons mais peut aussi atteindre d'autres organes. La maladie demeure encore un problème de santé publique dans le monde et en particulier en Algérie. Notre stage pratique de fin d'étude a été réalisé au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine. Nous avons réalisé une étude prospective d'un mois, basée sur un total de 112 échantillons pulmonaires. Ces derniers 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. Les échantillons proviennent majoritairement de (l'ERC) avec un pourcentage de 75.89%. Seulement deux cas (deux femmes) ont été diagnostiqués positifs soit une prévalence de 1,78 %. Durant notre stage, nous avons également réalisé une étude rétrospective descriptive. Elle a porté sur 4695 dossiers de personnes nécessitant une analyse bactériologique des crachats, colligés au cours des trois années 2017, 2018 et 2019. Seulement 74 patients ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 1,57 %. Nos résultats montrent également une prédominance masculine (58.10 %) avec un sexe-ratio de 1,39. L'infection touche majoritairement le groupe d'âge entre 15 et 64 ans.

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

Summary

Tuberculosis is an infectious and contagious disease caused by mycobacteria of the *Mycobacterium tuberculosis complex*, principally *Mycobacterium tuberculosis*. It mainly affects the lungs but can also reach other organs. It still remains a public health problem in the world and in particular in Algeria. Our practical end-of-study internship was carried out at the level of Hygiene Laboratory of the Wilaya of Constantine. We carried out a prospective study of one month, based on a total of 112 pulmonary samples, the latter were tested by bacilloscopy using the Ziehl-Neelsen staining which makes it possible to highlight the number of acid-alcohol-resistant bacilli (AARB) in sputum. The samples come mainly from (CRE) with a percentage of 75.89 %. Only two cases were diagnosed positive (two women) with a prevalence of 1.78%. The descriptive retrospective study focused on 4695 files of people requiring bacteriological analysis of sputum collected during the three years 2017, 2018 and 2019. Only 74 were bacilloscopy positive with 1.57% of prevalence. Our results also show a male predominance (58.10%) with a sex ratio of 1.39. The infection mainly affects the age group between 15 and 64 years.

Keywords : Pulmonary tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, Ziehl-Neelsen staining, bacilloscopy.

الملخص

السل هو مرض معدٍ تسببه بكتريا تنتمي إلى المعقد السلي ، بصورة خاصة *Mycobacterium tuberculosis*، تصيب الرئتين بشكل رئيسي ولكن يمكن أن تصل أيضا إلى الأعضاء الأخرى. مرض السل لا يزال مشكلة صحية في العالم وخاصة في الجزائر. من خلال تربصنا الذي أجري على مستوى مخبر الصحة والنظافة لولاية قسنطينة، أجرينا دراسة استباقية لمدة شهر واحد شملت حوالي 112 عينة، قمنا بمعاينتها مجهريا باستعمال تقنية Ziehl-Neelsen للتلوين التي تسمح بإظهار وجود العصيات المقاومة للحمض والكحول داخل العينات معظم العينات اتت من مركز اعادة التأهيل لولاية قسنطينة. وقد تم تسجيل حالتين إيجابيتين فقط (امرأتان) بنسبة تقدر بـ 1.78%. قمنا أيضا بدراسة رجعية لـ 6495 ملف لأشخاص يحتاجون إلى تحليل جرثومي للبلغم جمعت خلال ثلاثة سنوات 2017، 2018 و 2019. خلال هذه الفترة تم تسجيل 74 حالة سل بنسبة تقدر بـ 1.57%، كشفت النتائج ان أغلبية الاصابات كانت لدى الذكور بنسبة 58.10% مع تقدير لنسبة الجنس 1.39. تؤثر العدوى بشكل رئيسي على الفئة العمرية ما بين 15 و 64 سنة.

الكلمات المفتاحية: السل الرئوي، *Mycobacterium tuberculosis*، تلوين Ziehl-Neelsen، الكشف المجهرى للعصيات.

Table des matières

Remerciements	
Résumé	
Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures.....	iii
Introduction	1

Étude bibliographique

1 La définition de la tuberculose	3
2 L'épidémiologie de la tuberculose	3
2.1 La tuberculose dans le monde.....	3
2.2 La tuberculose en Algérie	4
3 Les mycobactéries	5
3.1 La classification et la nomenclature des mycobactéries	5
3.1.1 Le <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Complexe	5
3.1.2 Les mycobactéries non tuberculeuses ou mycobactéries atypiques.....	6
3.2 Les caractéristiques générales de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6
3.2.1 Les caractères morphologiques	6
3.2.2 Les caractères cultureux	7
3.2.3 Les caractères biochimiques	7
4 La transmission de la tuberculose pulmonaire	7
5 Le diagnostic de la tuberculose pulmonaire	8
5.1 Le diagnostic clinique-radiologique	8
5.1.1 Les signes cliniques	8
5.1.2 La radiologie pulmonaire	9
5.2 Le diagnostic bactériologique	9
5.2.1 L'examen microscopique	9
5.2.2 La culture	10
6 Traitement de la tuberculose pulmonaire	10
6.1 Isolement des patients contagieux	10
6.2 Action curatif	10
6.3 Action préventif	11

Matériels et méthodes

1 Le lieu et la durée de l'étude	12
2 La biosécurité au laboratoire de BK	12
3 Le matériel biologique.....	13
3.1 Conservation et transport des crachats.....	13
3.2 Enregistrement des échantillons	13
4 La recherche des BAAR par bacilloscopies	13
4.1 La confection des frottis	13
4.2 La coloration de Ziehl-Neelsen à chaud	14
5 L'examen microscopique	14
6 L'étude rétrospective	15

Résultats et discussion

1 Les résultats de l'étude prospective.....	16
1.1 L'Origine des échantillons.....	16
1.2 La recherche des BAAR	17
1.3 La répartition cas positives selon le sexe.....	18
1.4 La répartition des cas positifs selon le groupe d'âge et le sexe.....	19
2 Les résultats de l'étude rétrospective descriptive	19
2.1 La prévalence de la tuberculose pulmonaire.....	20
2.2 Les paramètres épidémiologique de la population étudiée.....	21
2.2.1 La distribution du nombre d'échantillons selon le sexe.....	21
2.2.2 La répartition des cas positive par sexe et selon le mois	21
2.2.3 La répartition de la tuberculose selon l'âge des patients	22
2.2.4 La répartition des cas positifs selon la tranche d'âge et le sexe.....	23
2.2.5 La répartition des cas positifs selon la charge des BAAR	24
2.3 La répartition des cas positifs selon leur structures d'envoi	25
Conclusion	26
Références bibliographique	28

Annexes

Liste des abréviations

- BAAR** : Bacille acido-alcool- résistants
- BCG** : Bacilles de Calmette et Guérin
- BK** : Bacilles de Koch
- CEB** : Collège des Enseignants de Pneumologie
- CHU** : Centre Hospitalo Universitaire
- ETB** : Ethambutol
- ERC** : Établissement de Réadaptation Constantine
- INH** : Isoniazide
- INST** : Institut national de sante publique.
- L.H.W.C** : Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine
- M.** : *Mycobacterium*
- OMS** : Organisation mondiale de la santé
- PZA** : Pyrazinamide
- RIF** : Rifampicine
- UNIV** : Université
- UV** : Le rayonnement ultraviolet
- TA** : Traitement ambulatoire
- TB** : Tuberculose
- TP** : Tuberculose pulmonaire
- TEP** : Tuberculose extra pulmonaire
- VIH** : Virus d'immunodéficience humaine
- Z.N**: Ziehl- Neelsen.

Liste des tableaux

Tableau 1 : tableau représentatif des résultats de la Bacilloscopie.	15
Tableau 2 comparaison des résultats de l'examen microscopique après coloration de Z-N des échantillons pulmonaires obtenus avec les résultats obtenus durant la même période d'étude (du 15 février au 15 mars) des trois dernières années.	18
Tableau 3 : Répartition des cas positifs selon la classe d'âge durant les trois ans.	22
Tableau 4 : Répartition des cas positifs selon l'âge et le sexe durant les trois ans.	23

Liste des figures

Figure 1 : Le taux d'incidence estimés de tuberculose pour 100 000.....	3
Figure 2 : L'incidence de la tuberculose en Algérie, 2001-2017.....	4
Figure 3 : L'observation microscopique de frottis faisant apparaître des BAARs par la coloration de Ziehl-Nelsen et par la coloration à l'Auramine.	6
Figure 4 : L'aspect des colonies du M. tuberculosis sur milieu de Lowenstein Jensen.....	7
Figure 5 : La transmission de la tuberculose pulmonaire par voie aérienne.	8
Figure 6 : La tuberculose pulmonaire commune. Radiographie de thorax montrant des infiltrats lobaires supérieurs plus une caverne lobaire supérieure gauche.	9
Figure 7 : la hotte de sécurité bactériologique de classe 1, type BK.....	12
Figure 8 : La lecture en créneau de la lame après coloration de Ziehl-Neelsen.	15
Figure 9 : La répartition des échantillons selon la provenance durant le mois de stage.	16
Figure 10 : Le résultat de l'examen microscopique des frottis après coloration de Z.N.	17
Figure 11 : La répartition des cas positive selon le sexe.....	18
Figure 12 : La répartition des cas positifs selon le groupe d'âge durant les quatre ans.	19
Figure 13 : Le nombre d'échantillons examinés au niveau du laboratoire par mois (de Janvier 2018 au Décembre 2019).	19
Figure 14: La tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive durant les trois dernières années.....	20
Figure 15 : La répartition des nombre des patients examinés selon le sexe, durant les trois ans.....	21
Figure 16 : La répartition des cas positifs selon le sexe, par mois durant les trois ans.....	21
Figure 17 : La répartition des cas positifs selon le sexe pendant les trois ans.	22
Figure 18 : La répartition des cas positifs selon le groupe d'âge durant les trois ans.	23
Figure 19 : La représentation des cas positifs selon l'âge et le sexe.	24
Figure 20 : La répartition des patients à bacilloscopie positive selon la charge des BAAR dans les frottis durant les trois ans.	24
Figure 21 : La répartition des cas positifs, durant les trois ans d'étude, selon leur structure d'envoi.....	25

Introduction

La tuberculose est une maladie infectieuse très ancienne. L'agent étiologique de cette pathologie, *Mycobacterium tuberculosis* a été découvert en XIX^{ème} siècle par Robert Koch (Gutierrez *et al.*, 2005).

L'infection affecte principalement les poumons. La tuberculose pulmonaire (TP) débute généralement par l'inhalation de gouttelettes contaminées par *M. tuberculosis*, émises dans l'air par l'individu malade en toussant ou en parlant (Russell *et al.*, 2009). Elle peut aussi infecter d'autres sites, tuberculose extra-pulmonaire (TEP), et atteint d'autres organes tels que ; plèvre, ganglions, voies génito-urinaires, et système nerveux (Leblanc, 2012).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), La tuberculose est l'une des dix premières causes de mortalité dans le monde. En 2018, dix millions de personnes ont contracté la tuberculose et 1,5 million en sont mortes dont 251 000 porteurs du VIH. La tuberculose multi-résistante continue à causer une crise de santé publique et reste une menace pour la sécurité sanitaire (OMS, 2019).

En Algérie, la tuberculose reste à nos jours l'un des problèmes majeurs de santé publique malgré les efforts de prévention. En 2018, sur les 23078 cas déclarés, 7053 cas (30,6 %) étaient des cas de tuberculose pulmonaire, dont 5750 cas sont des cas de tuberculose contagieuse (INSP, 2019).

À cet effet, nous avons orienté notre travail dans le sens de mieux connaître cette maladie infectieuse. Nous avons divisé notre travail en deux parties.

La première partie, nous l'avons consacré à une recherche bibliographique sur la l'infection tuberculeuse (généralités concernant l'infection et profil épidémiologique de la maladie), l'agent causal de cette pathologie (caractéristiques, mode de transmission et diagnostic bactériologique) et généralité sur le traitement de cette infection.

Dans la seconde partie, nous avons exposé notre méthodologie de travail basée sur le diagnostic bactériologique des échantillons réceptionnés au niveau de la paillasse de 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 fixés pour objectifs :

- en premier lieu, le diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire par la recherche des bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) dans les crachats par 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 d'un mois (du 15 Février au 15 Mars) et une autre rétrospective descriptive durant une période de trois ans (2017, 2018, 2019), afin d'estimer la prévalence de la maladie sur le total des patients suspectés d'être atteints de tuberculose durant cette période.

Étude bibliographique

1 La définition de la tuberculose

La tuberculose est une maladie infectieuse chronique, le plus souvent respiratoire à transmission interhumaine (Salmen, 2006). C'est une maladie bactérienne causée par de nombreuses souches de *Mycobacterium* (généralement *Mycobacterium tuberculosis*) appelé aussi bacille de Koch ou BK. Elle affecte les poumons, et elle est dite tuberculose pulmonaire. Elle peut affecté d'autres tissus de l'organisme, elle est dite tuberculose extrapulmonaire (Hashim *et al.*, 2012).

2 L'épidémiologie de la tuberculose

2.1 La tuberculose dans le monde

La tuberculose est l'une des dix premières causes de mortalité dans le monde. En 2018, dix millions de personnes ont contracté la tuberculose et 1,5 million en sont mortes (dont 251 000 porteurs du VIH) (OMS, 2019).

La tuberculose sévit dans toutes les parties du monde. En 2018, le plus grand nombre de cas nouveaux a été enregistré dans la région de l'Asie du Sud-Est, avec 44 % de cas nouveaux, suivie de la région africaine, avec 24 % de cas nouveaux, et du Pacifique occidental avec 18 % (figure 1) (OMS, 2019).

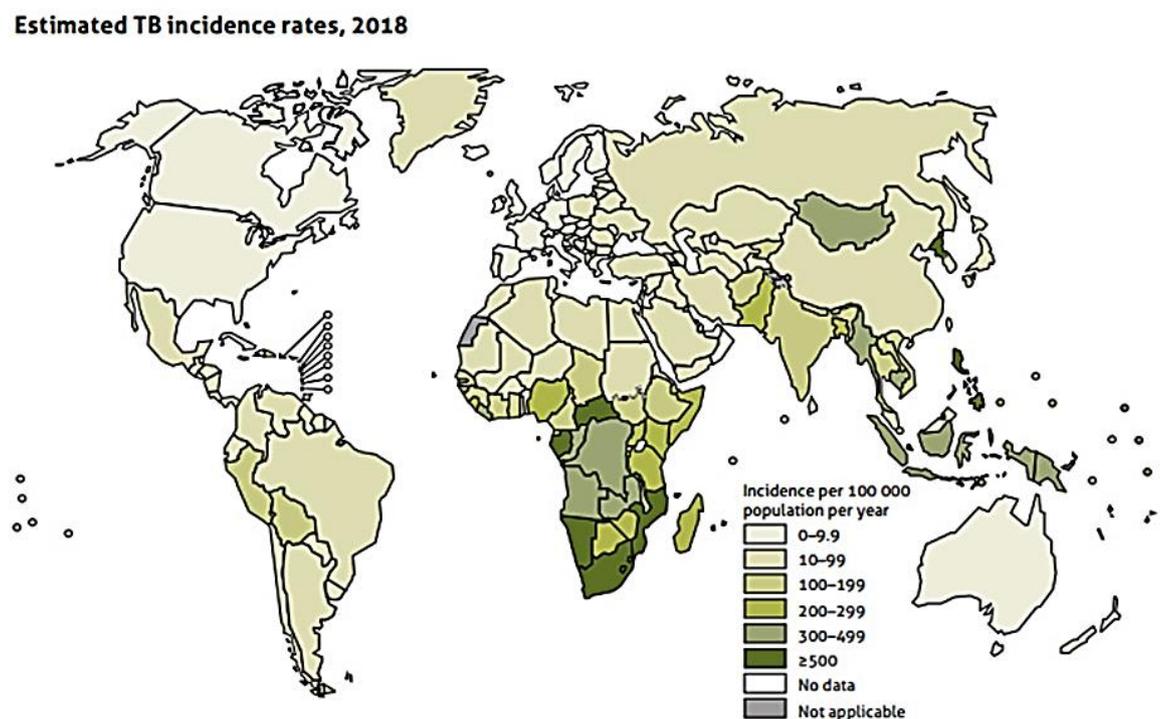


Figure 1 : Le taux d'incidence estimés de tuberculose pour 100 000 (OMS, 2019).

En 2018, 87 % des cas nouveaux se sont produits dans les 30 pays à lourde charge de tuberculose. Huit pays ont totalisé les deux tiers des nouveaux cas : Inde, Chine, Indonésie, Philippines, Pakistan, Nigéria, Bangladesh et Afrique du Sud (OMS, 2019).

Mettre un terme à l'épidémie de tuberculose d'ici à 2030 fait partie des cibles fixées dans les objectifs de développement durable dans le domaine de la santé (OMS, 2019).

2.2 La tuberculose en Algérie

Avant l'année 1962, l'incidence de la tuberculose était proche de 300 cas pour 100000 habitants. Juste après l'indépendance il y a eu une réduction considérable du risque annuel de l'infection jusqu'au début des années 90, puis l'incidence de la tuberculose avait augmenté à cause de différents problèmes socio-économiques (Alihalassa, 2018).

À partir du 21^{ème} siècle, et grâce à l'adoption d'un programme national de lutte contre la tuberculose, l'Algérie a remarqué une diminution de la forme contagieuse (TP) qui décline au-dessous du seuil de 17 cas pour 100 000 habitants en 2016, malheureusement avec une nette évolution de la forme extra-pulmonaire (Alihalassa, 2018).

En 2018, l'Algérie a enregistré un nombre de 23078 cas de tuberculose répartis-en :

- 7053 cas de TP (30.6%) dont 5750 cas sont des cas de tuberculose contagieuse avec une incidence de 13.8 cas pour 100.000 habitants.

- 16025 cas de TEP (69.4%) avec une incidence de 38.4 cas pour 100.000 habitants dont les trois quarts des cas sont répartis seulement entre deux localisations : ganglionnaire et pleurale (INSP, 2019).

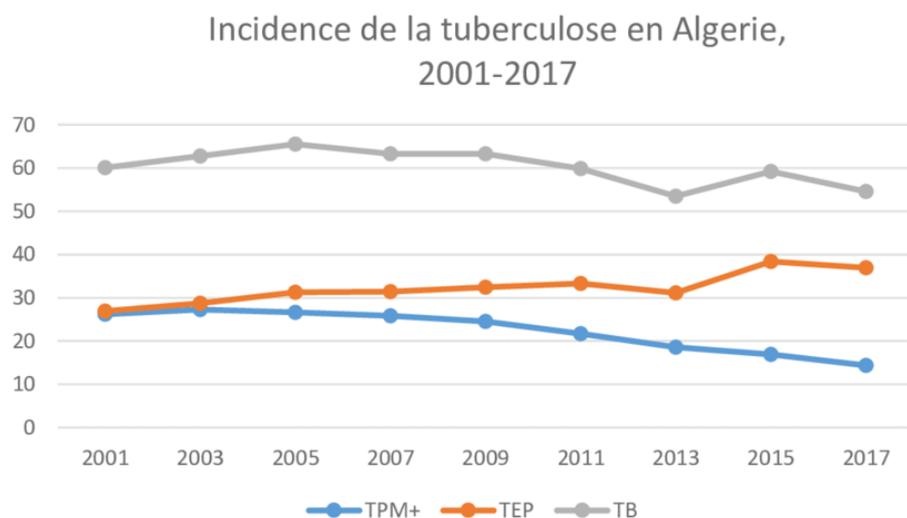


Figure 2 : L'incidence de la tuberculose en Algérie, 2001-2017 (Bentata, 2018).

3 Les mycobactéries

3.1 La classification et la nomenclature des mycobactéries

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

Le genre *Mycobacterium* est le seul genre de la famille des Mycobacteriaceae, dans l'ordre des Actinomycétales. Il est composé de plus de 90 espèces mycobactériennes qui déterminent des maladies différentes (Denis *et al.*, 2007 et Varaine *et al.*, 2010).

Dans la pratique clinique, les mycobactéries sont classées en mycobactérie tuberculeuse (*M. tuberculosis* complexe) et mycobactéries non tuberculeuse (Gilles, 2000).

3.1.1 Le *Mycobacterium tuberculosis* Complexe

Les bactéries responsables de la tuberculose humaine sont des mycobactéries du complexe tuberculosis : *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* qui sont tous des bacilles acido-alcool-résistants (Bouziani, 2002 et Billy, 2011).

Mycobactérium tuberculosis : est la mycobactérie qui est le plus souvent à l'origine de la tuberculose chez l'être humain, la tuberculose pulmonaire (la plus répandue) est presque toujours due à *M. tuberculosis* (Barben *et al.*, 2012).

M. africanum : désigné comme bacille tuberculeux africain, présente des caractères intermédiaires entre ceux de *M. tuberculosis* et *M. bovis*. C'est un parasite strict de l'homme rencontré en Afrique occidentale et centrale (Bendadda, 2003).

M. bovis : principal agent causal de la tuberculose pulmonaire chez les bovins. Il peut également infecter d'autres animaux domestiques et sauvages. *M. bovis* est fréquemment identifié comme agent causal de la TB chez l'homme. La contamination se fait par voie aérienne au contact avec les animaux malades ou par absorption de lait de vache contaminé (Boukary *et al.*, 2011).

M. microti, *M. caprae* et *M. pinnipedii* sont des agents responsables de la tuberculose chez les rongeurs, les chèvres et les mammifères marins (Prodinger *et al.*, 2002).

M. canetti : agent responsable de la tuberculose humaine (en particulier à Djibouti) (Van Soolingen *et al.*, 1997 ; Koeck *et al.*, 2005).

3.1.2 Les mycobactéries non tuberculeuses ou mycobactéries atypiques

Sont souvent non pathogènes, mais peuvent parfois donner des manifestations cliniques (pulmonaires, osseuses, ganglionnaires ou cutanées) simulant ceux de la tuberculose. Ces mycobactéries opportunistes sont responsables d'affections surtout dans les pays de faible prévalence tuberculeuse et chez les malades immunodéprimés (Huchon, 1997).

Les principales mycobactéries atypiques pouvant être pathogènes pour l'homme sont : *M. avium*, *M. marinum*, *M. xenopi*, *M. fortuitum* (Bertrand, 2009).

3.2 Les caractéristiques générales de *Mycobacterium tuberculosis*

3.2.1 Les caractères morphologiques

Mycobacterium tuberculosis se présente comme un bacille droit à légèrement incurvé de 0,2 à 0,3 µm de large sur 2 à 5 µm de long. Il est immobile, asporulé et acapsulé. Il a une structure générale des bactéries à Gram positif (Le Minor *et al.*, 1989).

Il n'est pas colorable par les colorants usuels, mais est coloré par la fuchsine phéniquée à chaud selon la méthode de Ziehl-Neelsen. Il retient la fuchsine malgré l'action combinée des acides dilués et de l'alcool (Acido- alcool-résistance) et apparaît au microscope comme un fin bâtonnet rouge. Coloré par l'auramine phéniquée, il devient fluorescent sous l'influence de la lumière UV (Flandrois, 1997).

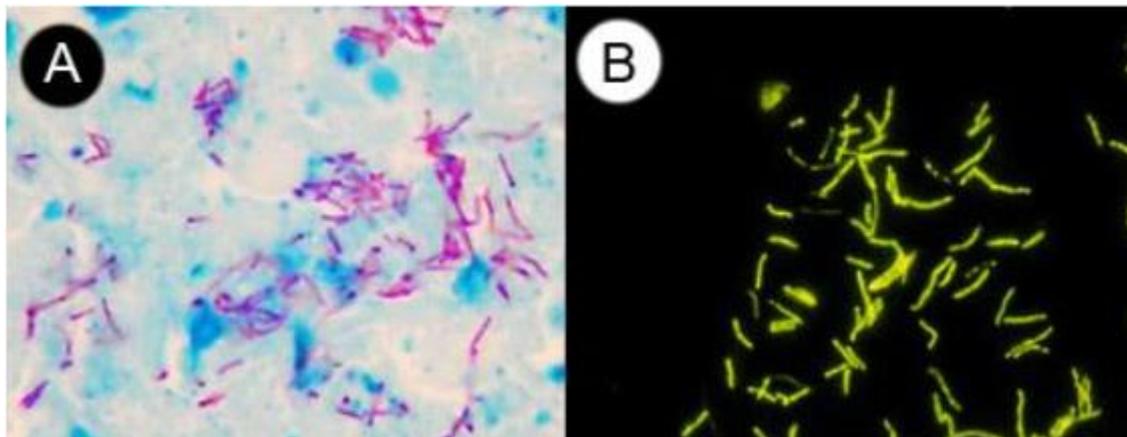


Figure 3 : L'observation microscopique de frottis faisant apparaître des BAARs par la coloration de Ziehl-Nelsen (A) et par la coloration à l'Auramine (B) (Ratovonirina, 2017).

3.2.2 Les caractères cultureux

Mycobacterium tuberculosis est un bacille à croissance très lente (2 à 6 semaines) exigeant des milieux spéciaux, ne pousse pas sur les milieux de culture ordinaire. Le milieu solide le plus utilisé est celui de Lowenstein-Jensen ou une de ses multiples variantes. Ce sont des milieux solides à base d'œufs, additionnés en proportion variable d'asparagine, de glycérine ou de vert de malachite. La culture est aussi possible en milieu liquide et en système automatisé. Les colonies apparaissent après deux à quatre semaines et sont blanchâtre, rugueuses et adhérentes au milieu. Elles grossissent lentement pour atteindre 3-4 mm après deux à trois mois. Elles ont alors un aspect en chou-fleur (Nauciel, 2000).



Figure 4 : L'aspect des colonies du *M. tuberculosis* sur milieu de Lowenstien Jensen

https://fr.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_tuberculosis

3.2.3 Les caractères biochimiques

M. tuberculosis est aérobie strict. Il est catalase positive, nitrate positif. Au cours de sa croissance, il synthétise une quantité importante d'acide nicotinique ou niacine qui peut être mise en évidence par une épreuve biochimique, le test de KONNO ou niacine-test. La positivité de cette épreuve est spécifique à *M. tuberculosis* (Ait khaled *et al.*, 1999).

Il est très sensible à la chaleur et à la lumière solaire, aux rayons ultraviolets, à l'eau de javel et au formol. En revanche, il résiste au froid et à la dessiccation (Bodonirina, 2012).

4 La transmission de la tuberculose pulmonaire

La transmission du bacille est interhumaine et s'effectue essentiellement par voie aérienne. La source de l'infection est un patient ayant une TB pulmonaire (TP) ou laryngée, qui expectore des bacilles. En toussant, en parlant ou en éternuant, le patient

produit de fines gouttelettes infectieuses. Elles peuvent rester en suspension dans l'air pendant plusieurs heures, selon l'environnement. La contamination se produit lors de l'inhalation des gouttelettes infectieuses (Varaine et Rich, 2014).

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).

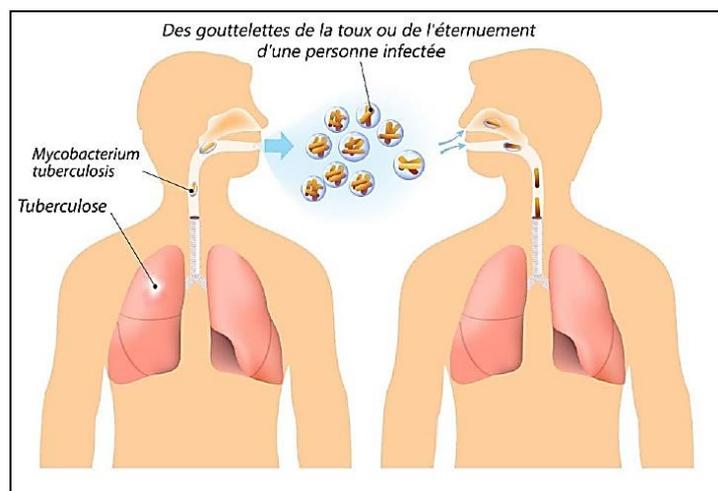


Figure 5 : La transmission de la tuberculose pulmonaire par voie aérienne (HealthXchange, 2016).

5 Le diagnostic de la tuberculose pulmonaire

5.1 Le diagnostic clinique-radiologique

Le diagnostic de la tuberculose repose sur des critères bactériologiques (cas confirmés) ou sur des critères cliniques et radiologiques (cas suspects ou non confirmés). Les symptômes et les signes de la tuberculose dépendent de la localisation et de l'extension de la maladie et diffèrent en fonction du stade évolutif (Brändlia *et al.*, 2003).

5.1.1 Les signes cliniques

Certains signes de tuberculose pulmonaire sont assez spécifiques : toux prolongée (plus de deux semaines et produisant des crachats verts, jaunes ou sanglants), expectoration et douleur thoracique, perte de poids, anorexie, fatigue, fièvre modérée, et des sueurs nocturnes. Le signe le plus caractéristique est l'hémoptysie (présence de sang dans les crachats) (Varaine *et al.*, 2010).

5.1.2 La radiologie pulmonaire

En cas de TB maladie, il y a trois types de lésions évocatrices du diagnostic : caverne, nodules et infiltrats. Ces trois lésions peuvent être associées et siègent préférentiellement dans les segments supérieurs ou postérieurs du poumon où la teneur en oxygène est la plus élevée car le bacille tuberculeux est une bactérie aérobie stricte (Dautzenberg, 2001).



Figure 6 : La tuberculose pulmonaire commune. Radiographie de thorax montrant des infiltrats lobaires supérieurs plus une caverne lobaire supérieure gauche (CEP, 2015).

5.2 Le diagnostic bactériologique

5.2.1 L'examen microscopique

- La coloration de Ziehl-Neelsen à chaud

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

À l'examen au microscope optique du frottis coloré, les BAAR apparaissent rouge vif ou en rose sur un fond contre-coloré en bleu. Ils sont droits ou légèrement incurvés de 2 à 4 μm de long sur 0,3 à 0,5 μm de large. Ils se présentent comme de fins bâtonnets, isolés ou groupés en amas et se détachant nettement du fond bleu de la préparation (Ait khaled et Enarson, 1999).

- La coloration à l'auramine

Le principe est le même, seulement pour cette coloration la fuchsine est remplacée par l'auramine, observés au microscope à fluorescence, sous la lumière bleue au

rayonnement UV, les BAAR apparaissent comme des bâtonnets jaune vert brillants sur fond sombre. 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).

5.2.2 La culture

Comme la microscopie, la culture permet de confirmer le diagnostic de la tuberculose. Après fluidification, décontamination et centrifugation, les échantillons sont ensemencés sur des milieux spécifiques. Le milieu solide à l'œuf de Lowenstein-Jensen est le milieu de culture le plus couramment employé en raison de sa grande sensibilité, de son faible prix de revient et de l'aspect typique qu'y prennent les colonies de *M. tuberculosis* (Grosset *et al.*, 1990).

Les colonies apparaissent après 21 à 28 jours jusqu'à 42 jours. Ce sont de petites colonies rondes opaques, de couleur crème. En se développant, elles prennent un aspect rugueux, verruqueux en « choux fleurs » de couleur crème beige à chamois (Benamrouche, 2015).

6 Traitement de la tuberculose pulmonaire

6.1 Isolement des patients contagieux

En cas de tuberculose bacillifère (tuberculose pulmonaire avec présence de BAAR à l'examen direct), le patient doit être isolé, avec ou sans hospitalisation. Elle représente la phase de contagiosité maximale. Elle persiste une à trois semaines après l'initiation du traitement (Lekehal, 2017 ; Lemkhoudem, 2019).

6.2 Action curatif

Le traitement curatif de la tuberculose repose presque uniquement sur l'administration quotidienne pendant six mois d'une association d'antibiotiques : deux mois d'isoniazide (INH) + rifampicine (RIF) + pyrazinamide (PZA) et éthambutol (ETB) suivi de quatre mois d'INH et de RIF.

L'association d'antibiotiques est indispensable pour éviter la sélection de mutants résistants. La prolongation du traitement pendant six mois est pour éviter les rechutes (PLACT, 2011).

Ainsi, le traitement antituberculeux est divisé en deux phases :

La phase initiale ou intensive, d'une durée de deux mois, durant laquelle les médicaments doivent être pris quotidiennement, vise à détruire les populations de *M. tuberculosis* qui se reproduisent rapidement et à prévenir la survenue d'une résistance médicamenteuse.

La phase de continuation, généralement d'une durée de quatre mois, vise à éliminer les populations qui se répliquent lentement et à prévenir une rechute subséquente. Tous les médicaments antituberculeux peuvent être associés à une éruption cutanée, des nausées et de la fièvre. De façon générale, plus le régime thérapeutique comprend de médicaments, plus les effets indésirables sont fréquents. Quelquefois, les médicaments peuvent agir de façon synergique (Rivest *et al.*, 2017).

6.3 Action préventif

La vaccination (le bilié de Calmette et Guérin) : le BCG est une souche mycobactérienne qui a perdu sa virulence après avoir subi plus de 200 repiquages successifs. Il peut être administré dès la naissance et, si la souche survit chez le patient, une seule dose est suffisante pour une protection à long terme. Ainsi, il reste encore à l'heure actuelle l'un des vaccins les plus utilisés dans le monde (Barreto *et al.*, 2006 ; Loch, 2010).

Matériels et méthode

1 Le lieu et la durée de l'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine, pendant un mois, allant du 15 février au 15 mars 2020.

Durant cette période, nous avons effectué une étude prospective et une autre rétrospective allant du 01 janvier 2017 au 31 décembre 2019 ; soit une période de trois ans. Cette étude a porté sur l'ensemble des échantillons réceptionnés au niveau du laboratoire et destinés au diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire.

2 La biosécurité au laboratoire de BK

Le risque de contamination dans le laboratoire de la tuberculose est le plus élevé. Pour cette raison toute personne travaillant dans le laboratoire doit connaître et appliquer rigoureusement les règlements de sécurité.

Il est important de porter des vêtements de protection : une bavette médicale, des gants pour les mains, des blouses et des sur blouses ainsi que des lunettes de protection. Il est impérative de maintenir les cheveux en arrière et bien attachés quand ils sont longs.

La manipulation des crachats doit être obligatoirement effectuée sous hotte de sécurité bactériologique classe 1 type BK (figure 7).

Une fois la préparation des frottis terminée, les crachoirs sont décontaminés à l'eau de javel avant d'être collectés dans un sac poubelle hermétique puis incinérés. Il faut nettoyer la paillasse aussi à l'eau de javel.



Figure 7 : la hotte de sécurité bactériologique de classe 1, type BK.

3 Le matériel biologique

Notre étude est réalisée sur l'ensemble des échantillons provenant de patients suspectés d'être atteints de la tuberculose pulmonaire. Les échantillons recueillis sont des expectorations bronchiques. Les crachats doivent être recueillis le matin à la suite d'un effort de toux. Les prélèvements sont généralement répétés trois jours de suite.

3.1 Conservation et transport des crachats

Les prélèvements sont recueillis dans des pots stériles et acheminés rapidement au laboratoire (conservation à température ambiante) dans les deux heures qui suivent le prélèvement, notamment pour éviter la pullulation des bactéries commensales aux dépens de bactéries fragiles. Si ce n'est pas possible ils doivent être conservés à 4°C.

La qualité et la quantité des crachats sont contrôlées. On doit avoir au minimal deux ml de l'échantillon contenant des particules solides.

3.2 Enregistrement des échantillons

Chaque crachoir doit être soigneusement identifié par une étiquette collée sur le corps du crachoir portant le nom, le prénom et le numéro interne mentionné sur le registre du laboratoire. Chaque échantillon doit être accompagné d'une feuille de renseignement (Annexe 1) concernant le patient (le nom, le prénom et l'âge du patient, le service d'envoi et l'examen demandé).

Toutes ces informations doivent être obligatoirement enregistrées sur le registre du laboratoire en respectant le numéro d'ordre interne des patients.

4 La recherche des BAAR par bacilloscopies

Cet examen a pour but la mise en évidence du bacille tuberculeux par microscopie optique, dans un frottis préparé d'un crachat.

4.1 La confection des frottis

L'étalement du crachat s'effectue sur des lames neuves que l'on jette après usage. Les lames doivent être bien dégraissées et séchées.

À l'aide d'une pointe en diamant, nous avons gravé les numéros d'ordre des échantillons sur une extrémité de la lame. Ainsi, nous avons préparé une lame pour chaque échantillon.

À l'aide d'une anse de platine préalablement flambée et refroidie, nous avons étalé, une parcelle purulente ou hémorragique de crachat, en une couche mince au centre de la lame sur une surface rectangulaire de deux cm sur un cm. Par la suite, le frottis est laissé sécher à l'aire sous hotte. Une fois sec le frotti est fixé par deux à trois passages sur la flamme du bec benzen.

On flambe l'anse métallique afin de la stériliser avant de passer à l'échantillon suivant.

4.2 La coloration de Ziehl-Neelsen à chaud

Afin de colorer les frottis, les lames sont placées sur un support métallique. On couvre la totalité des lames avec de la fuchsine phénique de Ziehl filtré sur papier et puis on chauffe, au moyen de la flamme d'un coton trempé dans l'alcool et flambé, jusqu'à dégagement d'une vapeur blanche.

On les laisse agir 10 minutes tout en chauffant la lame une fois tous les trois minutes en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant, si nécessaire il faut rajouter de la fuchsine pour que la lame soit toujours recouverte.

On jette le colorant, puis on rince les lames à l'eau du robinet jusqu'à ce que le colorant libre soit entraîné.

L'étape de la décoloration est réalisée par l'application pendant trois minutes de l'acide sulfurique dilué à 25%. Après cela, on lave à l'eau et on recouvre à l'alcool à 90% pendant cinq minutes. Une fois rincé, le frottis est alors incolore ou légèrement teinté en rose.

La contre coloration est réalisée avec le bleu de méthylène. Pour ce faire, on couvre la lame de bleu de méthylène filtré sur papier. On laisse agir pendant 30 secondes, puis on lave et on laisse sécher à l'aire avant l'examen au microscope (annexe 2).

5 L'examen microscopique

La lame colorée est examinée par le microscope optique à l'objectif d'immersion (x100). On place une goutte d'huile à immersion sur la préparation. On évite de toucher la lame pour ne pas transporter des bacilles sur les préparations.

L'examen microscopique se fait systématiquement champ par champ en suivant le sens de la lecture en créneau (figure 8). Tous les BAAR sont comptés sur 20 à 300 champs microscopiques selon la richesse du frottis.

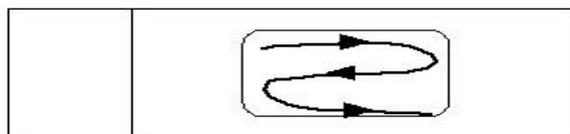


Figure 8 : La lecture en créneau de la lame après coloration de Ziehl-Neelsen.

Selon les recommandations du programme national de lutte contre la tuberculose, l'interprétation des résultats est donnée en fonction du nombre de BAAR observés, comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : tableau représentatif des résultats de la Bacilloscopie : (David *et al.*, 1986).

BAAR observés par nombre de champs microscopiques	Résultats	Interprétation
0 bacille sur 300 champs	Négatif	Frottis négatif
1 à 9 bacilles sur 300 champs	Noter le nombre exact	Frottis douteux
10 à 99 bacilles sur 100 champs	+	Frottis faiblement positif
1 à 10 bacilles par champs	++	Frottis moyennement positif
> à 10 bacilles par champs	+++	Frottis fortement positif

Une fois que la lecture des frottis est terminée, les résultats définitifs sur le registre du laboratoire (les résultats positifs doivent être inscrits à l'encre rouge) puis sur la fiche de réponse (annexe 3).

6 L'étude rétrospective

Nous avons effectué une étude rétrospective allant du 01 janvier 2017 au 31 décembre 2019, soit une période de trois 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 du BK de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine.

L'analyse statistique des données a consisté en un calcul des paramètres en utilisant le logiciel Excel version 2013.

Résultats et discussion

Notre stage pratique de fin d'étude d'un mois (du 15 Février 2020 au 15 Mars 2020) a été réalisé au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine.

L'objectif principale de notre étude été de rechercher les BAAR (BK) dans des échantillons de patients suspectés d'être atteints d'une tuberculose pulmonaire. L'objectif secondaire été d'étudier le profil épidémiologique de la tuberculose pulmonaire.

1 Les résultats de l'étude prospective

1.1 L'Origine des échantillons

Nous avons étudié 112 échantillons de nature pulmonaire (expectorations) provenant de différentes structures de soins et de différentes administrations publiques (figure 9).

Les échantillons proviennent en grande partie de patients de l'Etablissement de Réadaptation Constantine (E.R.C) avec un pourcentage de 75,89%. Ils proviennent également de C.H.U Benbadis de Constantine avec 16,07%, de la police des frontières avec 2,67% et des cités universitaire avec 0,89%. Les échantillons des patients en ambulatoire représentent 3,57 % du nombre total des échantillons.

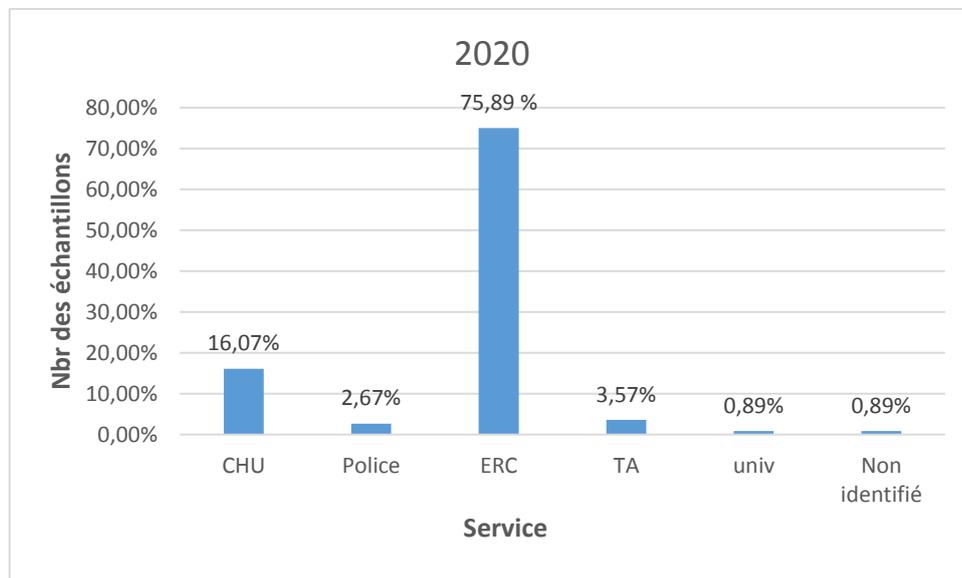


Figure 9 : La répartition des échantillons selon la provenance durant le mois de stage.

Les échantillons provenant de C.H.U ainsi que ceux des E.R.C et des traitements ambulatoire (T.A) correspondent à des patients présentant des symptômes respiratoires durables : une fièvre peu intense mais 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 et une faiblesse générale.

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

1.2 La recherche des BAAR

Après coloration des frottis par Ziehl-Neelsen et examen microscopique à l'objectif d'immersion, les lames à bacilloscopies positives, ont montrées la présence de fins bacilles roses isolés ou en petits amas, qui apparaissent nettement sur un fond bleu (figure 10). Ils peuvent être colorés de façon uniforme ou inégale et peuvent même paraître granuleux.

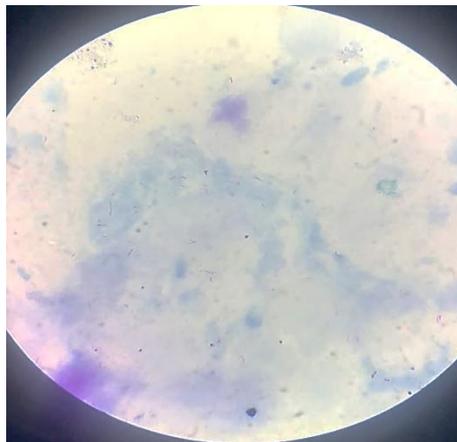


Figure 10 : Le résultat de l'examen microscopique des frottis après coloration de Z.N objectif x100, lame positive (présence plus de 40 BAAR/champ). Microscope (OLYMPUS CH 20). Photographie prise par appareil photo SAMSUNG au niveau du L.H.W.C.

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.

La négativité des résultats peut être expliquée par l'absence de BAAR dans les échantillons.

Il faut examiner au moins 100 champs, ce qui requiert environ 15 minutes avant de déclarer une lame négative. Trois balayages du frottis doivent être réalisés.

La réponse doit toujours être faite en termes de présence ou d'absence de BAAR et non en termes de bacilles tuberculeux, de bacilles lépreux, ou de toute autre espèce mycobactérienne.

Selon l'étude de comparaison (tableau 2) que nous avons menée sur les quatre années et durant la même période d'étude (15 février jusqu'à 15 mars), le laboratoire a reçu un nombre de 80 à 123 échantillons avec une moyenne de 107,5 échantillons pulmonaire à analyser par mois. Sur la même période de l'étude, la bacilloscopie a montré un taux de positivité variable d'une année à une autre. Elle est de 2.44 % en 2017 ; de 2,61 % en 2018 et de 1.25 % et 1.79 % durant les années 2019 et 2020 respectivement. Nous avons remarqué une diminution dans le rythme d'évolution de la tuberculose pulmonaire.

Tableau 2 comparaison des résultats de l'examen microscopique après coloration de Z-N des échantillons pulmonaires obtenus avec les résultats obtenus durant la même période d'étude (du 15 février au 15 mars) des trois dernières années.

Bacilloscopie \ Année	2017	2018	2019	2020	Totale
Négative	120	112	79	110	422
Positive	3	3	1	2	9
Totale	123	115	80	112	431

1.3 La répartition cas positives selon le sexe

Pour les neuf cas atteints de tuberculose pulmonaire, 66,67% (n=6) sont de sexe masculin, contre 33,33% (n=3) de sexe féminin avec un sexe-ratio (M/F) de 2,00 (figure11). Donc, nous pouvons conclure que les hommes sont les plus touchés par la tuberculose pulmonaire que les femmes.

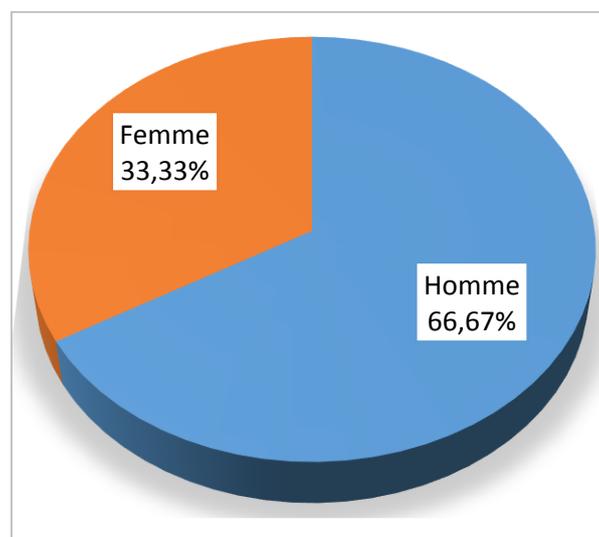


Figure 11 : La répartition des cas positive selon le sexe.

1.4 La répartition des cas positifs selon le groupe d'âge et le sexe

Ces résultats montrent que les sujets âgés de 15 à 64 ans étaient les plus touchés, et confirme une deuxième fois la prédominance de la population masculine (figure 12).

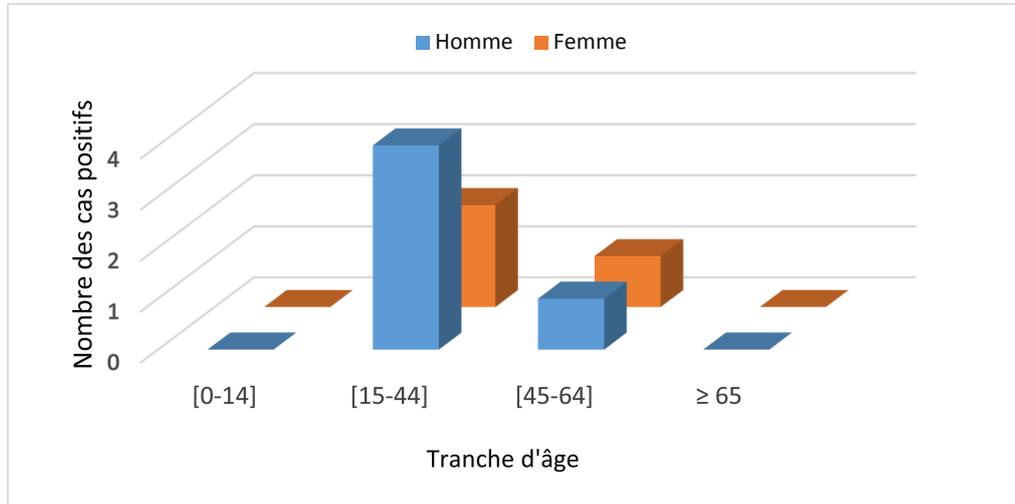


Figure 12 : La répartition des cas positifs selon le groupe d'âge durant les quatre ans.

2 Les résultats de l'étude rétrospective descriptive

Durant les trois dernières années (2017, 2018 et 2019), le laboratoire a enregistré la manipulation de 4695 échantillons d'origine pulmonaire pour une recherche spécifique de BK. Un nombre de 1565 échantillons en moyenne a été analysé par an. Les résultats de cette étude sont représentés sur la figure 13.

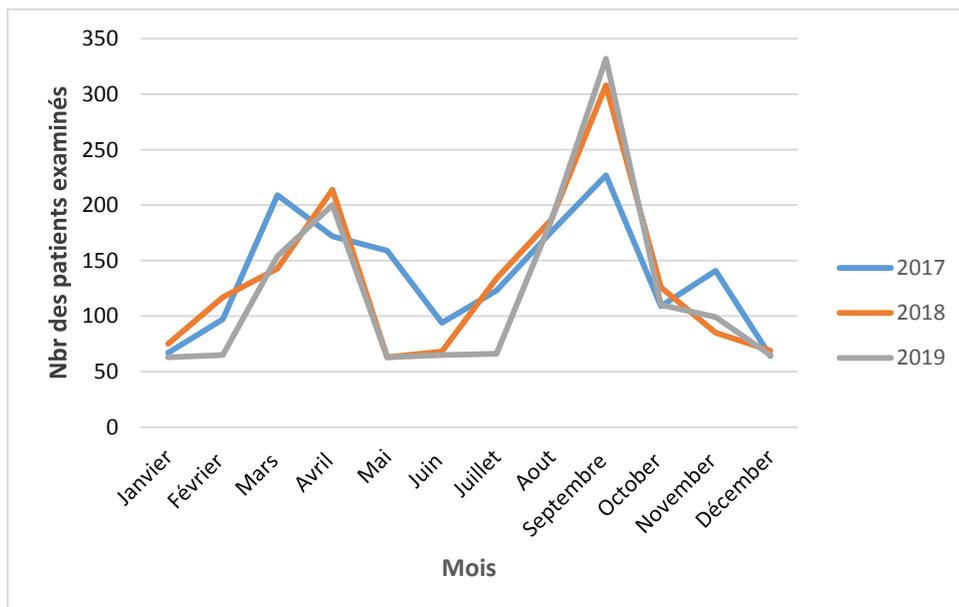


Figure 13 : Le nombre d'échantillons examinés au niveau du laboratoire par mois (de Janvier 2018 au Décembre 2019).

Le plus grand nombre d'échantillons réceptionné a été enregistré pour le mois de septembre de l'année 2019 avec un nombre de 332 échantillons. Le nombre le plus bas a été enregistré dans les mois janvier et Mai de la même année et le mois de Mai de l'année 2018 avec 63 échantillons.

En général, le laboratoire H.W.C reçoit un nombre variable d'échantillons par mois avec une moyenne de 131 échantillons par mois. Cependant, les statistiques obtenues durant les trois ans montrent que le mois de Septembre témoigne 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 (concours de recrutement dans la police).

2.1 La prévalence de la tuberculose pulmonaire

Dans la majorité des cas, les résultats des examens directs des échantillons sont à bacilloscopie négative (figure 14). Au fait, sur les 4695 échantillons analysés durant les trois ans d'étude, uniquement 74 ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 1.57 %. Cette dernière était de 2% pour les années 2017 (n=30) et 2018 (n= 29). Elle était seulement de 1% (n= 15) pour l'année 2019.

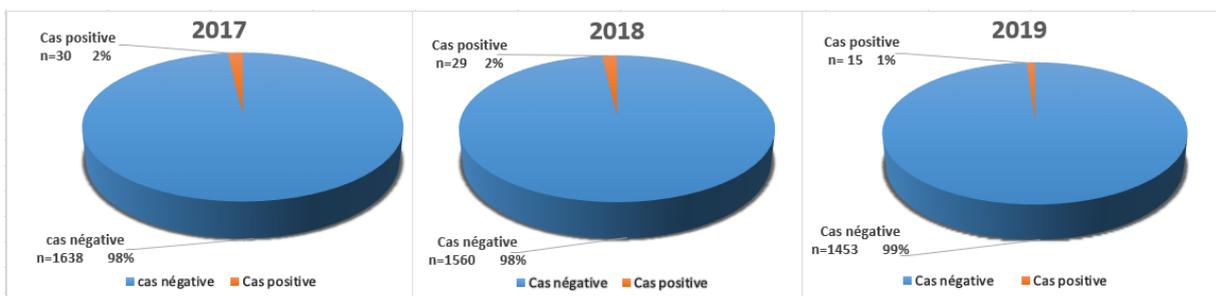


Figure 14: La tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive durant les trois dernières années.

La prévalence de la tuberculose au cours des trois dernières années semble accuser une baisse remarquable. Nos résultats sont compatibles à ceux de l'OMS 2019. Cette diminution peut être due au diagnostic et au traitement précoce des cas de tuberculose pulmonaire et de la mise en place d'une surveillance de la tuberculose dans les hôpitaux.

2.2 Les paramètres épidémiologique de la population étudiée

2.2.1 La distribution du nombre d'échantillons selon le sexe

La répartition du nombre d'échantillons examinés pendant les trois ans selon le sexe est présentée dans la figure 15. Les résultats ont montré une nette prédominance masculine tout au long de la période d'étude.

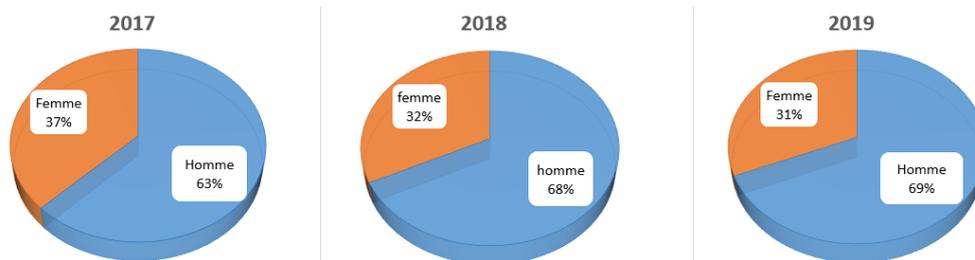


Figure 15 : La répartition des nombre des patients examinés selon le sexe, durant les trois ans.

Pour l'année 2017, nous avons recensé 1025 hommes avec un pourcentage de 63% et 613 femmes avec pourcentage de 37%.

En 2018, le nombre d'homme était 1077 avec un pourcentage de 68% et 512 femmes avec un pourcentage de 32 %.

En 2019 le nombre des cas masculin était 1008 avec pourcentage de 69% et seulement 31% était du sexe féminin.

2.2.2 La répartition des cas positive par sexe et selon le mois

La figure ci-dessous illustre la variation du nombre de cas positifs en fonction des mois de l'année. Les nombres retenu de cas positifs est le résultat d'une compilation de tous les cas positifs recensé durant les trois années d'étude rétrospective.

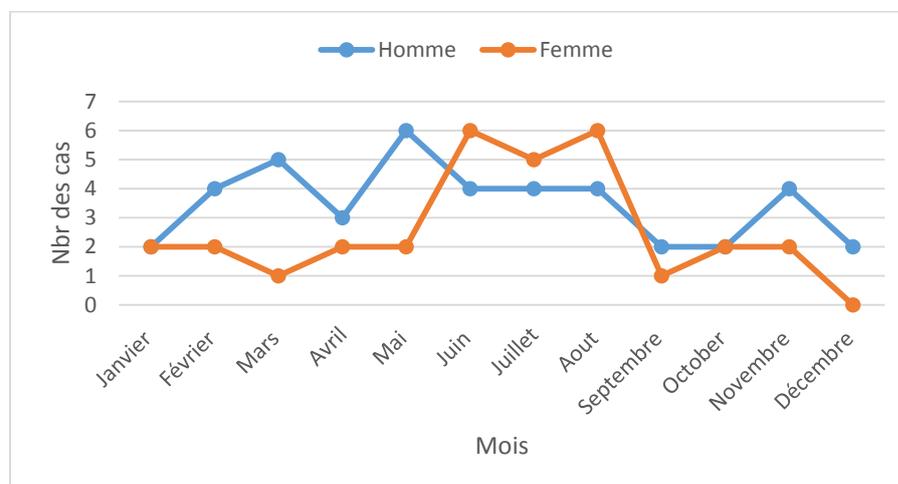


Figure 16 : La répartition des cas positifs selon le sexe, par mois durant les trois ans.

Ces résultats montrent que 43 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, 31 cas ont été enregistrés. 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 58.10 % des cas par rapport à 41,90 % des cas de sexe féminin avec un sexe ratio (M/F) de 1,39.

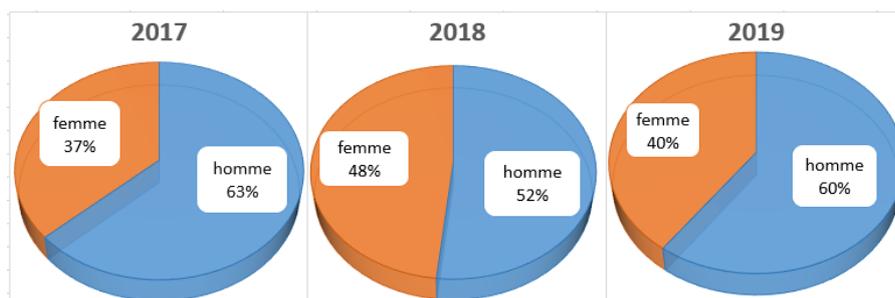


Figure 17 : La répartition des cas positifs selon le sexe pendant les trois ans.

En conclusion, selon notre étude, la tuberculose pulmonaire est à prédominance masculine. Ce taux élevé de la tuberculose chez les hommes peut être expliquée par l'exposition de ces derniers aux facteurs de risque tel que l'alcoolisme, le tabagisme, la consommation de drogue et la promiscuité. Elle peut être aussi une conséquence de l'activité et le déplacement des hommes dans leur lieu de travail.

Nos résultats concordent avec les travaux de plusieurs auteurs, telle que l'étude de Diboune *et al.*, (2017) et Amadou *et al.*, (2019) où les sujets masculins représentent 58% et 68,24% des cas.

2.2.3 La répartition de la tuberculose selon l'âge des patients

La répartition des patients à bacilloscopie positive selon les tranches d'âge est représentée dans le tableau suivant. Nous tenons à préciser que nous n'avons pas pu déterminer l'âge de cinq patients.

Tableau 3 : Répartition des cas positifs selon la classe d'âge durant les trois ans.

*5 cas non mentionnée.

Age	[0-14]	[15-44]	[45-64]	≥ 65	Total
Nombre des patients	1	41	19	8	69
Pourcentage	1.44%	59.42%	27.5%	11.59%	100%

La tuberculose est une maladie qui touche l'individu à tous les âges de la vie. Elle est rare chez les enfants moins de 14 ans, cela est due à une meilleure prise en charge par les moyens de prévention telle que la vaccination par le BCG.

On a trouvé que la tranche d'âge [15-44] est la plus touchée avec un pourcentage de 59.42%. Ce constat est lié à une forte activité chez ces patients et leurs expositions importantes à l'environnement extérieur entraînent un contact plus fréquent avec des tuberculeux. Nos résultats sont similaires à ceux rapporté par Labie 2007 ainsi qu'aux résultats publiés par l'OMS en 2016.

Chez les patient âgés plus de 65 ans le pourcentage est de 11.59%. Ces sujet représente un groupe vulnérable et a risque a toutes les infections, ce qui peut s'expliqué par l'affaiblissement de leurs systèmes immunitaire et certaines comorbidités.

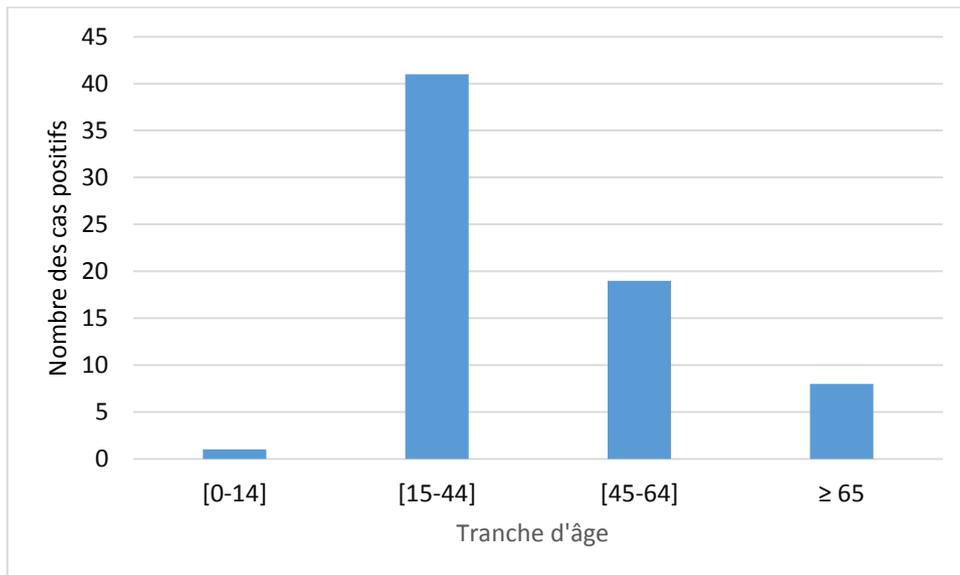


Figure 18 : La répartition des cas positifs selon le groupe d'âge durant les trois ans.

2.2.4 La répartition des cas positifs selon la tranche d'âge et le sexe

Le tableau ci-dessous montre la prédominance des cas positifs de sexe masculin (n=40)

Tableau 4 : Répartition des cas positifs selon l'âge et le sexe durant les trois ans.

Age \ Sexe	[0-14]	[15-44]	[45-64]	≥ 65	Total
♂	1	20	14	4	40
♀	0	20	5	4	29

La figure numéro 19 illustre la situation de la tuberculose selon l'âge et le sexe. Nous remarquons que la tranche d'âge la plus touchée est celle des patients âgés de 15 à 44 ans et cela est valable pour les deux sexes.

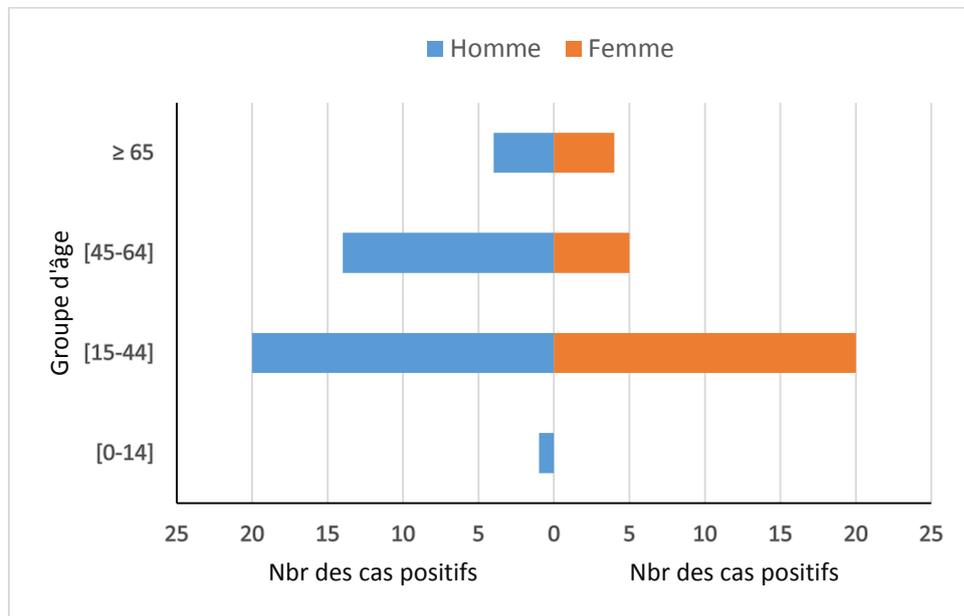


Figure 19 : La représentation des cas positifs selon l'âge et le sexe.

2.2.5 La répartition des cas positifs selon la charge des BAAR

La figure 20 représente la répartition des patients à bacilloscopie positive selon la charge en BAAR dans les frottis.

Dans notre étude, nous avons noté la prédominance des patients à BAAR ++, BAAR +++ avec un pourcentage 59% et 30%. Alors que la fréquence des patients à BAAR + est moindre avec des pourcentages de 4%.

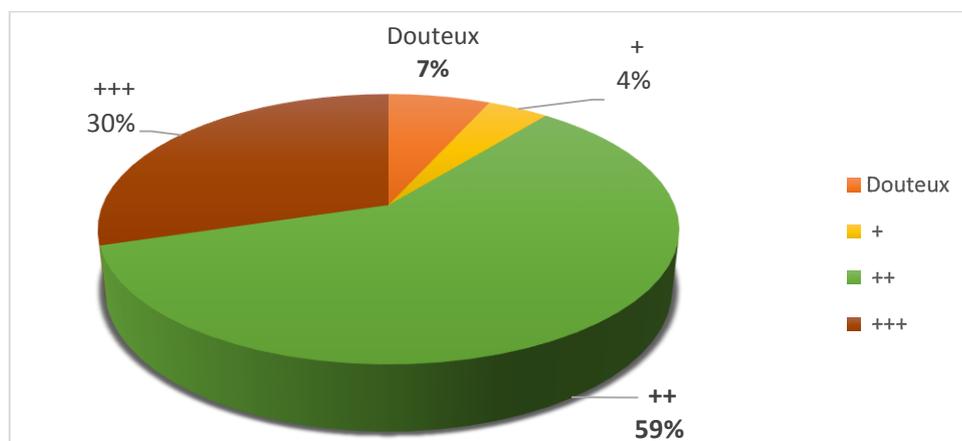


Figure 20 : La répartition des patients à bacilloscopie positive selon la charge des BAAR dans les frottis durant les trois ans.

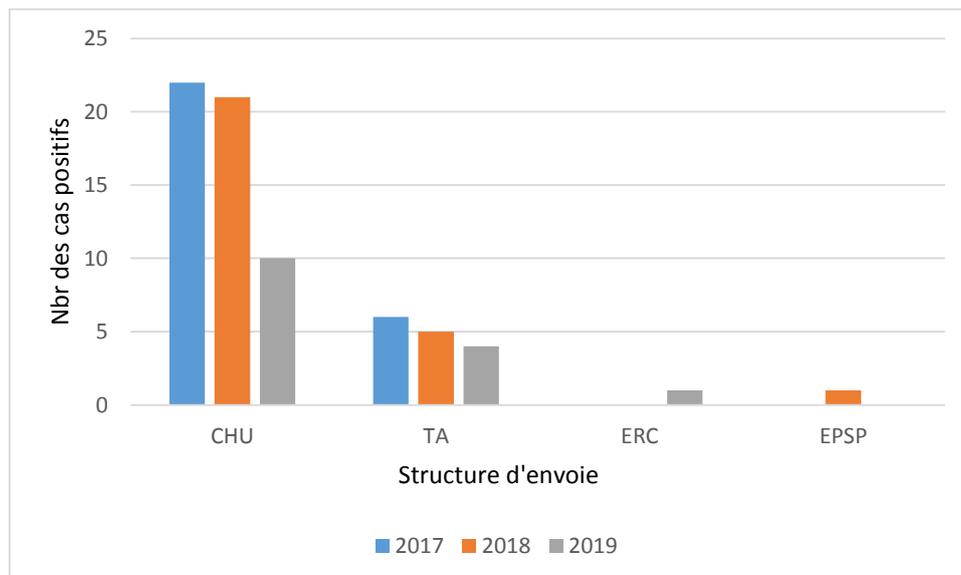
Les patients à BAAR+ ont une fréquence de (4%), cette fréquence est traduite par le début de l'infection tuberculeuse ou par la diminution de la charge des bacilles au cours des traitements antituberculeux.

Les patients à BAAR+++ présentent une fréquence de 30 % cela peut être expliqué par le stade avancé de maladie ou bien d'un échec thérapeutique après une résistance des bacilles aux antituberculeux.

2.3 La répartition des cas positifs selon leur structures d'envoi

Sur les 74 cas positifs diagnostiqués, on distingue 52 cas qui proviennent du CHU Ben Badis de Constantine qui représente le nombre le plus élevé des cas positifs. Un seul cas de l'établissement de santé publique de proximité et un seul cas de l'E.R.C. Les 15 autres cas sont du traitement Ambulatoire et cinq cas non identifié.

La figure suivante illustre la répartition des cas positifs selon leur structure d'envoi.



*5cas non identifié.

Figure 21 : La répartition des cas positifs, durant les trois ans d'étude, selon leur structure d'envoi.

CHU: Centre Hospitalo Universitaire Ben Badis de Constantine ;TA : traitement ambulatoire ; ERC: l'Etablissement de Réadaptation Constantine ; EPSP : établissement de santé publique de proximité.

Conclusion

La tuberculose est une maladie contagieuse, due principalement à une mycobactérie (*Mycobacterium tuberculosis*) ou bacille de Koch.

Malgré l'existence d'un programme de lutte antituberculeux, la tuberculose constitue encore un sérieux problème de santé publique courant dans les pays en voie de développement et notamment en Algérie.

Notre stage pratique d'un mois (15 Février au 15 Mars 2020), 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 un mois et une autre rétrospective descriptive sur trois ans afin de décrire la prévalence de la maladie au niveau du laboratoire.

Au cours de notre stage, nous avons reçu 112 échantillons pulmonaires. Ils ont été testés par bacilloscopie en utilisant la coloration de Ziehl-Neelsen. Cette dernière, nous a permis de chercher les bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) dans les crachats.

Les échantillons reçus au niveau du laboratoire proviennent majoritairement de l'établissement de réadaptation de Constantine ERC avec un pourcentage de 75.89 %. Sur les 112 échantillons étudiés, seulement deux cas (deux femmes) ont été diagnostiqués positifs soit une prévalence de 1.78 %.

Pour l'étude rétrospective nous avons pu colliger 4695 dossiers des patients ayant consulté durant les trois ans 2017, 2018, 2019 dont 1585 sont des femmes et 3110 sont des hommes.

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que le mois de Septembre a témoigné le nombre le plus élevé des échantillons examinés.

L'infection tuberculeuse, au cours des trois dernières années, semble accuser une baisse remarquable grâce à une meilleure prise en charge des patients tuberculeux et une meilleure formation et sensibilisation du personnel médical et des malades.

Au terme de cette étude, seulement 74 ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 1.57%. Nos résultats montrent une prédominance masculine 58.10 % des cas par rapport à 41,90 % des cas de sexe féminin avec un sexe ratio (M/F) de 1,39. L'infection touche majoritairement le groupe d'âge entre 15 et 64 ans.

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.

Références bibliographique

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.

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

Amadou M. L. H. ; Abdoulaye O. ; Amadou O. ; Biraïma A. ; Kadri S. ; Amoussa A. A. K. ; Lawan I. M. ; Tari L. ; Daou M. ; Brah S. et E. Adehossi (2019) Profil épidémiologique, clinique et évolutif des patients tuberculeux au Centre Hospitalier Régional (CHR) de Maradi, République du Niger. The Pan African Medical Journal. N° 33. p (1-6). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6711699/pdf/PAMJ-33-120.pdf>

Barben J. ; Berger C. et T. Bodmer (2012) L'infection à *M. tuberculosis* : Manuel de la tuberculose. Ed : Ligue pulmonaire Suisse et Office Fédéral de la santé publique. p 93.

Barreto M. L. ; Pereira S. M. et A. A. Ferreira (2006) BCG vaccine : Efficacy and indications for vaccination and revaccination. Jornal De Pediatria, N° 82 (3 Suppl). p (45-54).

Bendadda O. (2003) Tuberculose humaine à *Mycobacterium bovis* : Enquête bactériologique et Application de la PCR à la détection et l'identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar Mehraz -Fès. p169.

Bertrand D. (2009) Mycobactéries atypique : Traité de pneumologie. 2^{éd}. Flammarion médecine science. p 496.

Billy C. (2011) Infection à mycobactérie : tuberculose, mycobactérie atypique .EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), traité de médecine AKOS, p (4-1090).

Bodonirina V. P. (2012) Place de l'examen des crachats dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire au CSBII Ekar Imady. Thèse de doctorat en médecine, Université d'Antananarivo, N°8359. 127 p.

Boukary A. R. ; Thys E. ; Mamadou S. ; Rigouts L. ; Matthys F. ; Vias Franck S. G. ; Gamatie D. ; Yenikoye A. et C. Saegerman (2011) La tuberculose à

Mycobacterium bovis en Afrique subsaharienne. Annales de Médecine Vétérinaire 155, p (23–37).

Bouziani M. (2002) Les pathologies infectieuses : Aspect épidémiologique et prophylactique. Ed : Dar El Gharb. p 438.

Brändlia O. ; Prod'homb G. ; Rochatc T. et J. P. Zellwegerd (2003) Clinique et diagnostic de la tuberculose. Forum Med Suisse. N° 21, p (294–7).

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

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.

Dautzenberg B. (2001) Pneumologie. (Ed) Doin. Paris. p 384.

David L. ; Levi-Frébault V. et M. F. Thorel (1986) Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie. Paris : Institut Pasteur. p 87.

Denis F. ; Ploy M.C. ; Martin C. ; Bingen E. et R. Quentin (2007) Bactériologie médicale Techniques usuelles. 2^{ème} Ed. Elsevier. Paris. p (507-517).

Diboune K. ; Laouar L. ; Fezaa K. ; Larbani B. ; Taright S. ; et M. T. Makhloufi (2017) Prise en charge de la tuberculose dans un SCTMR à Alger sur une période de 5 ans. Revue des Maladies Respiratoires, N° 34. p 238.
<https://doi.org/10.1016/j.rmr.2016.10.575>

Benamrouche N. (2015) Faculté de médecine d'Alger. Cours de Microbiologie pour les étudiants de 3^{ème} année. [En ligne]. (Page consulté le 31/05/2020) http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/bacterio3an16-14bgp_benamrouche.pdf

Bentata K. (2018) la tuberculose extrapulmonaire au niveau de la wilaya de Mostaganem, probleme transdisciplinaire de santé publique : quelle stratégie pour une meilleure prise en charge ?. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en sciences médicales. Mostaganem, Algerie.

Flandrois J. (1997) *Mycobacterium tuberculosis* : Bactériologie médicale collection AZAY. Presse universitaire de Lyon. p (216-18).

Gilles P. (2000) Mycobactéries : Bacilles de la tuberculose In : Freney J., Renaud F., Hansen W., et Bollet C. Précis de : Bactériologie Clinique. Edition ESKA. Paris. p 1692.

Grosset J. H. ; Ji B. ; Guelpa-Lauras C. C. ; Perani E. G. et L. N. N'Deli (1990) Clinical trial of pefloxacin and ofloxacin in the treatment of lepromatous leprosy. International Journal of Leprosy, N° 58. p (281-295).

Gutierrez M. C. ; Brisse S. ; Brosch R. ; Fabre M. ; Omais B. ; Marmiesse M. ; Supply P. et V. Vincent (2005) Ancient Origin and Gene Mosaicism of the Progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathogens, 1. p (55-61).

Hashim Z. et N. Fahim (2012) Tuberculosis control in the United Kingdom : Completion of treatment is the key. N° 3. p (31-32).

Healthxchange. (2016) Tuberculosis (TB) : Types, Symptoms, and Risks. [En ligne]. (Page consulté le 14/05/2020). <https://www.healthxchange.sg/heart-lungs/lung-conditions/tuberculosis-tb-types-symptoms-risks>

Huchon G. (1997) Tuberculose et mycobactéries non tuberculeuses. Pneumologie; N°6, p 20.

Institut national de sante publique (2019) La journée mondiale de lutte contre la tuberculose (24 Mars 2019). INSP. [En ligne]. (Page consulté le 14/05/2020) <http://www.insp.dz/index.php/informations/journee-mondiale-tuberculose-insp.html>

Collège des Enseignants de Pneumologie (2015) Tuberculose de l'adulte et de l'enfant. (Page consulté le 28/05/2020). http://cep.splf.fr/wp-content/uploads/2015/01/item_155_TUBERCULOSE-3.pdf

Koeck J. L. ; Gutierrez M. C. ; Fabre M. ; Bernatas J. J. et Buisson Y. (2005) Emergence de cas de tuberculose dus à *Mycobacterium tuberculosis* subsp.canetti à Djibouti. Comptes rendus de séances. Institut Pasteur, Paris. N° 98. p (138).

Labie D. (2007) Résistances de *Mycobacterium tuberculosis*. *Med Sci* (Paris) N° 23. p (205-209).

Le Minor L. et M. Véron (1989) Bactériologie médicale 2^{ème} ed. Flammarion médecine-sciences.

Leblanc C. ; Prudhomme T. ; Tabouret G. ; Ray A. ; Burbaud S. ; Cabantous S. ; Mourey L. ; Guilhot C. et C. Chalut (2012) 4'-Phosphopantetheinyl Transferase PptT, a New Drug Target Required for *Mycobacterium tuberculosis* Growth and Persistence In Vivo. PLoS Pathogens, N° 12. p (1-16).

Lekehal N. (2017) Co-infection tubercules VIH: aspects épidémiologique et clinique. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en pneumo-physiologie. Oran-Alger. p (43).

Lemkhoudem K. (2019) Infections respiratoires à bactéries à croissance lente. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en pharmacie. Rabat-maroc. p (39).

Locht C. (2010) Chapter 5.1 The history of BCG. In The Art and Science of Tuberculosis Vaccine Development 2nd ed.

<http://tbvaccines.usm.my/finlay/?q=content/chapter-51-history-bcg>

Manuel de la lutte antituberculeuse (2011) Consulté 16 mai 2020, http://www.sante.dz/manuel_tuber_2011.pdf

Nauciel C. (2000) Bacteriologie medicale. Masson paris. p 275.

OMS (2016) Tuberculose. Doctinews. Page consulté le 17/05/2020) https://www.doctinews.com/index.php/actualite/item/5109-tuberculose?fbclid=IwAR3QyrwA-oXhEJuR_tGp7ag_4TFAnDAvKSve0fKASS3LN1ngohY0inLhzjI

OMS (2019) Rapport sur la tuberculose dans le monde 2019. https://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2019_ExecutiveSummary_fr.pdf?ua=1

Prodinger W. M. ; Eigentler A. ; Allerberger F. ; Schönbauer M. et W. Glawischnig (2002) Infection of red deer, cattle, and humans with *Mycobacterium bovis* subsp. Caprae in western Austria. Journal of Clinical Microbiology, N° 6. p (2270–2272).

Ratovonirina N.H. (2017) Etudes descriptive, épidémiologique, moléculaire et spatiale des souches *Mycobacterium tuberculosis* circulant à Antananarivo, Madagascar 172. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01784738/document>

Rivest P. ; Abdelaziz N. ; Déry S. ; Isler M. ; Lacroix C. ; Provençal L. ; Thibert L. ; Bernatchez H. ; Demers A. M. ; Menzies R. et N. Sicard (2017) La tuberculose : Guide d'intervention. <http://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/3108844>

Russell D. G. ; Cardona P. J. ; Kim M. J. ; Allain S. et F. Altare (2009) Foamy macrophages and the progression of the human TB granuloma. *Nature immunology*, N° 9 .p (943-948).

Salmen S. 2006 Pneumologie. (Ed) ESTM. France. p 315.

Van Soolingen D. ; Hoogenboezem T. ; De Haas P. E. ; Hermans P. W. ; Koedam M. A. ; Teppema K. S. ; Brennan P. J. ; Besra G. S. ; Portaels F. et J. Top (1997) A novel pathogenic taxon of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, Canetti : Characterization of an exceptional isolate from Africa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, N°4 . p (1236–1245).

Varaine F. ; Hankens M. et V. Grouzard (2010) Tuberculose : Guide pratique à l'usage des médecins, infirmiers, techniciens de laboratoire et auxiliaires de santé. 3^{ème} éd. Médecine sans Frontière - Guidelines. p161.

Varaine F. et M. Rich (2014) Guide pratique à l'usage des médecins, infirmiers, technicien de laboratoire et auxiliaires de santé. Médecine sans frontière. France. p 303.

Waaziz A. (2015) La tuberculose viscérale chez l'enfant : Epidémiologie, Difficultés diagnostiques, Apport de la chirurgie dans le diagnostic et le traitement (A propos de 5 cas) Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en médecine. Maroc :Université Mohammed V.

WHO (2019) Global tuberculosis report 2019.

Wikipédia. Fichier:TB Culture.jpg—Wikipédia. Consulté 16 mai 2020, à l'adresse https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:TB_Culture.jpg

Wirth T. ; Hildebrand F. ; Allix-Béguet C. ; Wölbeling F. ; Kubica T. ; Kremer K. ; van Soolingen D. ; Rüsç-Gerdes S. ; Locht C. ; Brisse S. ; Meyer A. ; Supply P. et S. Niemann (2008) Origin, spread and demography of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *PLoS Pathogens*, N°9 . p (1-10).

Annexes

Annexe 2 : Coloration de Ziehl-Nelsen

Réactifs de Ziehl-Neelsen

- La fuchsine phéniquée de Ziehl

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

- Acide sulfurique au ¼

Acide sulfurique	250 ml
Eau distillée	750 ml

- Le bleu de méthylène

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

Technique

Recouvrir le frottis de fuchsine phéniquée.

Chouffer très doucement jusqu'à l'émission de vapeur.

Le colorant doit agir 10 minutes sans ébullition ni dessèchement. Rincer.

Couvrir le frottis d'acide sulfurique à 25%, 3 minutes. Rincer à l'eau distillée.

Couvrir le frottis d'alcool 5 minutes. Rincer.

Couvrir le frottis avec la solution de bleu de méthylène, 30 secondes.

Rincer la lame, laisser sécher à l'air et examiner le frottis à l'immersion.

Les BAAR apparaissent rosés sur le fond bleu de la préparation.

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 . K² . dans :.....

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

Constantine le :.....
Chef de laboratoire

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

Filière : Écologie et environnement

Spécialité : *Ecologie Microbienne.*

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

Résumé

La tuberculose est une maladie infectieuse et contagieuse provoquée par des mycobactéries du complexe tuberculeux principalement *Mycobacterium tuberculosis*. Elle touche principalement les poumons mais peut aussi atteindre d'autres organes. La maladie demeure encore un problème de santé publique dans le monde et en particulier en Algérie. Notre stage pratique de fin d'étude a été réalisé au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine. Nous avons réalisé une étude prospective d'un mois, basée sur un total de 112 échantillons pulmonaires. Ces derniers ont été testés par bacilloscopie en utilisant la coloration de Ziehl-Neelsen qui permet de mettre en évidence le nombre des bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) dans les crachats. Les échantillons proviennent majoritairement de l'ERC avec un pourcentage de 75.89%. Seulement deux cas (deux femmes) ont été diagnostiqués positifs soit une prévalence de 1,78 %. Durant notre stage, nous avons également réalisé une étude rétrospective descriptive. Elle a porté sur 4695 dossiers de personnes nécessitant une analyse bactériologique des crachats, colligés au cours des trois années 2017, 2018 et 2019. Seulement 74 patients ont été à bacilloscopie positives soit une prévalence de 1,57 %. Nos résultats montrent également une prédominance masculine (58.10 %) avec un sexe-ratio de 1,39. L'infection touche majoritairement le groupe d'âge entre 15 et 64 ans.

Mot clés : Tuberculose pulmonaire, *Mycobacterium tuberculosis*, coloration de Ziehl-Neelsen, Bacilloscopie.

Membre du jury :

Président du jury : ALATOU Radia (MCA - UFM Constantine),
Rapporteur : OULMI Lamia (MCB - UFM Constantine),
Examineur : GACI Meriam (MAA- UFM Constantine).

Présentée par :
TALEB Souheila CHIAL Kaouther

Année universitaire : 2019 -2020