

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 عاوم الطبيعة و الحياة

Département de Microbiologie  
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes

Intitulé :

**LA RECRUDESCENCE DE LA TUBERCULOSE DANS LE MONDE.  
DIAGNOSTIC DE LA MALADIE PAR L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DES  
CRACHATS A L'AIDE DE LA COLORATION DE ZIEHL NEELSEN.**

Présenté et soutenu par :  
- ZEHANI Djamila

Le : 27/06/2016

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : ARABET D. (MCB - Université des Frères Mentouri Constantine)

Rapporteur : AIT ABDELOUAHAB N. (MA- Université des Frères Mentouri Constantine)

Examinatrice : BOULTIFAT L. (MA - Université des Frères Mentouri Constantine)

*Année universitaire 2015 - 2016*

# **REMERCIEMENTS**

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

*À « Allah », le tout puissant, qui nous a accordés le courage et la patience pour élaborer ce modeste travail.*

*Un très grand merci à notre encadreur Mme AIT ABDELOUAHAB Naouale pour l'effort fournis, sa Gentillesse, ses précieux conseils, sa bienveillance et son soutien tout au long de la réalisation de notre mémoire.*

*Nous rendons un vibrant hommage aux membres du jury de ce mémoire qui ont accepté d'évaluer ce travail :*

*Un merci particulier à notre présidente de jury, Mlle, ARABET D de nous avoir faites l'honneur d'accepter la présidence du jury de mémoire.*

*Un Merci Particulier à l'examinatrice de ce mémoire ; Mme, BOULTIFAT L pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.*

*Nous adressons également nos remerciements, à tous nos enseignants, qui nous ont données les bases de la science*

*A Noujoud pour leur aide au sein de stage.*

*A toute personne qui participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.*

*DJAMILA*

# *Dédicace*

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

*A mon très cher père Bougerra ZEHANI*

*A Ma très chère Mère Dalila LEMOUNES*

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

*Nulle dédicace ne pourrait refléter ma profonde reconnaissance.*

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

*A mes chers beaux frères : Mohamed, Nour eddine et Radouane :*

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

*A ma chère petite sœur : Nessrine*

*A mon cousin : Halim ROBAI*

*A mes très chères amies : Samiha, Roumaissa, Zahira, Hadjer.*

*A toute la famille ZEHANI et LEMOUNES*

*DJAMILA*

# TABLE DES MATIERES

	<b>Page</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	01
<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>I. LA RECRUESCENCE DE LA TUBERCULOSE</b>	
<b>1. CAUSES DE LA RECRUESCENCE DE LA TUBERCULOSE</b> .....	03
1.1. Facteurs socio-économiques .....	03
1.2. L'épidémie du VIH .....	03
1.3. Emergence de souches multi-résistantes .....	04
<b>2. INCIDENCE DE LA RECRUESCENCE DE LA TUBERCULOSE</b> .....	05
2.1. Dans le monde .....	05
2.2. En Afrique. Le cas de l'Algérie.....	06
<b>II. APERÇU BIOCLINIQUE DE LA TUBERCULOSE</b>	
<b>1. ETUDE BACTERIOLOGIQUE</b> .....	10
1.1. Classification .....	10
1.2. Caractères morphologiques .....	11
1.3. Caractères cultureux .....	13
1.4. Caractères biochimiques .....	13
1.5. Identification bactériologique .....	14
<b>2. ETUDE CLINIQUE</b> .....	14
2.1. Tuberculose infection .....	14
2.2. Tuberculose maladie.....	15
2.3. La tuberculose pulmonaire.....	16
2.4. La tuberculose extra-pulmonaire.....	16
<b>3. PHYSIOPATHOLOGIE ET IMMUNITE</b> .....	17

<b>4. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE</b> .....	18
4.1. Examen direct .....	18
4.2. Examen indirect.....	18
4.2.1. L'intradermo- réaction à la tuberculine (IDR).....	18
4.2.2. Hybridation avec les sondes à ADN.....	19
4.2.3. Amplification génique.....	19
4.2.4. Radiographie du thorax.....	20
<b>5. TRAITEMENT</b> .....	20
5.1. Traitement curatif.....	20
5.2. Traitement préventif.....	21
5.2.1. Mesures hygiéno-diététiques.....	21
5.2.2. La vaccination par le bacille de Calmette-Guérin (BCG)....	22

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

<b>1. MATERIEL</b> .....	23
1.1. Lieu et durée d'étude.....	23
1.2. Matériel biologique .....	23
1.3. Autre matériel .....	23
1.4. Prélèvement d'échantillons.....	23
<b>2. METHODES</b> .....	25
2.1. Préparation du frottis à partir d'un crachat.....	25
2.2. Fixation du frottis.....	25
2.3. Coloration de Ziehl Neelsen à chaud.....	26
2.3.1. Coloration.....	26
2.3.2. Décoloration .....	26
2.3.3. Contre-coloration .....	26
2.3.4. Lecture et interprétation des résultats .....	27
2.4. Méthode de Dugommier : coloration à l'auramine.....	29

<b>3. RESULTATS</b> .....	29
3.1. Prévalence de la tuberculose pulmonaire au Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires du Khroub.....	30
3.2. Caractéristiques de la population étudiée.....	30
3.2.1 Répartition des patients à BAAR positif selon le genre.....	30
3.2.2 Répartition des patients à BAAR positif selon la tranche d'âge :.....	31
3.2.3. Répartition des patients à frottis positif par commune.....	32
3.3. Répartition selon la charge de BAAR positifs.....	32
3.4. Répartition selon les méthodes de diagnostic.....	33
<b>4. DISCUSSION</b> .....	34
4.1. Prévalence de la tuberculose pulmonaire au Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires du Khroub.....	34
4.2. Caractéristiques de la population étudiée.....	34
4.3. Répartition selon l'examen bactériologique du crachat.....	35
<b>CONCLUSION</b> .....	36
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>RESUME</b>	
<b>ANNEXES</b>	

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> Tuberculose : estimations de l'incidence, de la prévalence et de la mortalité en 2009 dans les différentes régions du monde selon l'OMS.....	7
<b>Tableau 2 :</b> Nombre de cas déclarés de la tuberculose de 2005 à 2010.....	8
.	
<b>Tableau 3 :</b> Les différents résultats de la coloration de Ziehl Neelsen .....	27

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Estimation de l'incidence mondiale de la tuberculose, par 100 000 habitants.....	7
<b>Figure 2</b> : Incidence de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+) par sexe et tranche d'âge en 2010 en Algérie.....	10
<b>Figure 3</b> : Incidence de la tuberculose toutes formes en 2009 selon les Wilayas.....	11
<b>Figure 4</b> : Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique.....	13
<b>Figure 5</b> : Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants.....	14
<b>Figure 6</b> : Principales règles dans le prélèvement d'origine pulmonaire (crachat).....	26
<b>Figure 7</b> : Observation microscopique de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> montrant des arrangements funiformes .....	28
<b>Figure 8</b> : Crachat sanglant d'un malade souffrant de la tuberculose pulmonaire.....	30
<b>Figure 9</b> : La prévalence de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive.....	31
<b>Figure 10</b> : Répartition des patients à BAAR positif selon le genre.....	31
<b>Figure 11</b> : Répartition des patients à BAAR positif selon la tranche d'âge.....	32
<b>Figure 12</b> : Nombre des patients à frottis positif par commune.....	33
<b>Figure 13</b> : Nombre des patients à frottis positif selon la charge de BAAR dans le crachat.....	33
<b>Figure 14</b> : Observation microscopique de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) après la coloration de Ziehl Neelsen.....	34

## LISTE DES ABREVIATIONS

**Araf** : Arabinofuranose

**BAAR** : Bacille Acido-Alcool-Résistant

**BCG** : vaccin Bilié de Calmette et Guérin

**Galf** : Galactofuranose

**IDR** : Intradermo-réaction à la tuberculine

**LAM** : lipoarabinomannane

**MAG** : mycolyl-arabinogalactane

**Manp** : mannopyranose

**MDR** : Souches multi-résistantes

**MODS** : *Microscopic Observation Drug Susceptibility*

**PIT** : Primo-Infection Tuberculeuse

**Rha- Glc-N-Ac** : Rhamnose-Glucosamine-N-acétyl

**TP** : Tuberculose pulmonaire

**TEP** : Tuberculose extra-pulmonaire

**VIH** : Virus d'Immunodéficience Humaine

**XDR** : souches ultra-résistantes

## INTRODUCTION

La tuberculose, maladie infectieuse à transmission essentiellement interhumaine est due au bacille tuberculeux *Mycobacterium tuberculosis* (GRÜNFELD, 1994 et TORTORA et *al.*, 2012).

L'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations et représente la source habituelle de transmission; cependant, le bacille peut atteindre d'autres organes, provoquant ainsi la tuberculose extra-pulmonaire (AUBRAY, 2014).

Avec la mise en place des moyens préventifs comme le vaccin bilité de Calmette et Guérin (1921) le plus souvent dénommé BCG et la découverte de nombreux antibiotiques efficaces (1944-1965), l'éradication de la tuberculose était envisageable pour la fin du 20<sup>ème</sup> siècle (SOUIDI, 2014). Malheureusement, force est de constater que cette maladie demeure toujours d'actualité, avec près de 9,2 millions de personnes touchées à travers le monde en 2006 selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Tous les pays sont touchés mais la plupart des cas soit 85% se produisent en Afrique (30%) et en Asie (55%) avec l'Inde et la Chine comptant à elles deux 35% de l'ensemble (BODONIRINA, 2012).

La tuberculose est l'objet d'une attention renouvelée ces dernières décennies en raison d'une part de l'épidémie du SIDA qui a contribué à l'augmentation du nombre de cas dans des régions du monde où le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est endémique et d'autre part, à cause de l'apparition de souches multi-résistantes du bacille tuberculeux (TRIPATHI et *al.*, 2005 et BOUCHERIT et *al.*, 2013 et).

La lutte contre ce fléau requiert un ensemble de mesures conférant à son approche épidémiologique une importance déterminante en raison de la recrudescence actuelle de la maladie.

Récemment, les recherches sur cette maladie ancienne reprennent avec les outils modernes de la biologie.

Dans ce travail, nous détaillerons dans un premier temps, une introduction de façon générale de la recrudescence de la tuberculose dans le monde ensuite les raisons de cette recrudescence annoncée liée principalement à des facteurs socio-économiques, à une co-infection entre le virus de l'immunodéficience humaine et le bacille tuberculeux et enfin l'apparition multi-résistante aux antibiotiques. Nous étudierons ensuite l'incidence de cette recrudescence dans le monde et spécifiquement en Afrique.

Dans un second temps, nous présenterons un aperçu bioclinique de la tuberculose avec l'agent étiologique responsable de cette pathologie, sa structure mycobactérienne et celle de la paroi, les différentes méthodes de diagnostic de la maladie et enfin, le traitement de la tuberculose.

Notre étude expérimentale est basée sur l'examen bactériologique des crachats, elle servira à la recherche des bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) associés à la tuberculose pulmonaire. Cet examen bactériologique par la coloration de Ziehl Neelsen est, en règle générale, une technique de référence et le seul moyen de confirmer par sa simplicité le diagnostic de la tuberculose pulmonaire dans la plupart des pays à faible revenu.

Cette étude expérimentale a pour objectifs :

- le diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire par la coloration de Ziehl Neelsen à chaud.

- la détermination de la prévalence de la tuberculose pulmonaire dans la région du Khroub ainsi que les caractéristiques de la population étudiée.

## I. LA RECRUESCENCE DE LA TUBERCULOSE

La recrudescence est définie par la réapparition de quelque chose avec redoublement d'intensité ou d'activité et l'aggravation d'une maladie, de ses symptômes, après une amélioration temporaire (PROUST et SWANN, 2012).

Elle est également définie par l'exacerbation des manifestations d'une maladie, des ravages d'une épidémie après une rémission temporaire.

### 1. CAUSES DE LA RECRUESCENCE DE LA TUBERCULOSE

#### 1.1. Facteurs socio-économiques

La pauvreté et la misère sont les principales causes de cette affection. Par ailleurs, l'association entre pauvreté et tuberculose est bien établie. Le taux d'accroissement de cette infection chronique ou aiguë, due au bacille de Koch et qui se trouve le plus souvent dans les poumons, est estimé à près de 12% par rapport à ce qui était connu durant les années 1980. La plus grande majorité des personnes souffrant de tuberculose dispose des services médicaux les plus pauvres. Il en résulte un mauvais suivi des traitements par les malades, donc des risques de rechute et d'émergence de bacilles résistants (DIF, 2016).

Même dans les pays industrialisés, les taux les plus élevés de malades se retrouvent dans les couches les plus pauvres de la population soit 95 % de l'ensemble des cas et 98% des décès.

Dans les pays développés où l'incidence de la tuberculose est faible, l'immigration est l'un des facteurs qui contribue le plus à l'augmentation du nombre de cas. Ceci est dû à l'importance du flux migratoire des personnes atteintes par la tuberculose et originaires des pays fortement touchés telle que *l'Afrique subsaharienne* (CHAULET, 2009).

#### 1.2. L'épidémie du VIH

Le VIH et la tuberculose, qui accélèrent mutuellement leur progression, forment une association meurtrière. La tuberculose est en recrudescence car elle a un lien avec le VIH. Certains patients sont doublement infectés; ce sont ces patients qui ont provoqué l'augmentation des cas de tuberculose (OMS, 2003).

Le VIH affaiblit le système immunitaire. Une personne positive pour le VIH qui est aussi infectée par le bacille de Koch a beaucoup plus de risque de contracter la tuberculose qu'une personne infectée par le bacille et qui est négative pour le VIH (AUBRAY, 2014).

La tuberculose est une cause majeure de mortalité chez les VIH-positifs avec 1,1 million des 9,6 millions de personnes ayant contracté la tuberculose en 2014, 80% des cas et décès survenant dans la Région Afrique. Le nombre de décès par tuberculose chez les personnes VIH positives baisse depuis près d'une décennie : il est passé de 540 000 en 2004 à

400 000 en 2014. Le nombre de personnes porteuses du VIH à qui on a administré un traitement préventif à l'isoniazide contre la tuberculose est proche de 1 million en 2014 (OMS, 2014).

L'infection d'un sujet par le VIH joue un rôle majeur :

- elle augmente le risque d'être infecté par *Mycobacterium tuberculosis*.
- elle entraîne une évolution beaucoup plus rapide de l'infection à la maladie, et elle accroît le risque de réactivation d'une tuberculose ancienne.
- le risque de voir apparaître une tuberculose-maladie d'un sujet VIH+ est de 5% à 8% par an.

### 1.3. Emergence de souches multi-résistantes

L'une des causes majeures de la nouvelle avancée de l'épidémie de la tuberculose est l'émergence de souches multi-résistantes de *Mycobacterium tuberculosis* (MINISTERE DE LA SANTE DE L'ALGERIE, 2015). Si l'on ne pense pas aux cas multi-résistants, les malades touchés vont recevoir des traitements classiques et vont rester contagieux. De nos jours, ce n'est pas seulement la résistance aux médicaments antituberculeux en monothérapie qui fait l'objet de graves préoccupations, mais, partout dans le monde, le grand problème réside dans la multi-résistance à la combinaison des médicaments principaux. On distingue les souches multi-résistantes (MDR) et les souches ultra-résistantes (XDR) qui sont définies comme suit (BOUCHERIT, 2012) :

- **Les souches multi-résistantes :**

Dans le cas de souches multi-résistantes on observe un échec du traitement de première intention contre la tuberculose (**résistance** à au moins l'isoniazide et à la rifampicine, les deux antituberculeux de première ligne (ou standards) les plus efficaces). La résistance peut être primaire ou secondaire (PRESCOTT et *al.*, 2010).

#### **La résistance primaire :**

La résistance primaire est une résistance qui est constatée chez un patient n'ayant jamais reçu de traitement antituberculeux. Le patient a été infecté par un patient porteur d'une souche déjà résistante aux antituberculeux (c'est-à-dire par un patient présentant une résistance secondaire) (BOUCHERIT, 2012).

#### **La résistance secondaire :**

Elle se développe chez les patients sous traitement antituberculeux et est entièrement induite par l'homme. On rencontre fréquemment des taux élevés de résistance secondaire dans les pays où les protocoles de traitement sont inadéquats (BOUCHERIT, 2012).

Les taux de la résistance primaire augmentent classiquement lorsque la résistance secondaire est déjà importante et que les conditions sont favorables à la transmission de la tuberculose (surpeuplement, etc.).

- **Les souches ultra-résistantes:**

Sont des souches multi-résistantes qui en plus sont résistantes à des traitements tels qu'une fluoroquinolone (SOUIDI, 2012).

On a recensé environ 480 000 cas de tuberculose multi-résistante dans le monde en 2014 chez des patients signalés comme atteints de tuberculose pulmonaire. Plus de la moitié de ces cas se sont produits en Inde, en République Populaire de la Chine et en Russie (AUBRY, 2014).

## **2. INCIDENCE DE LA RECRUESCENCE DE LA TUBERCULOSE**

### **2.1. Dans le monde**

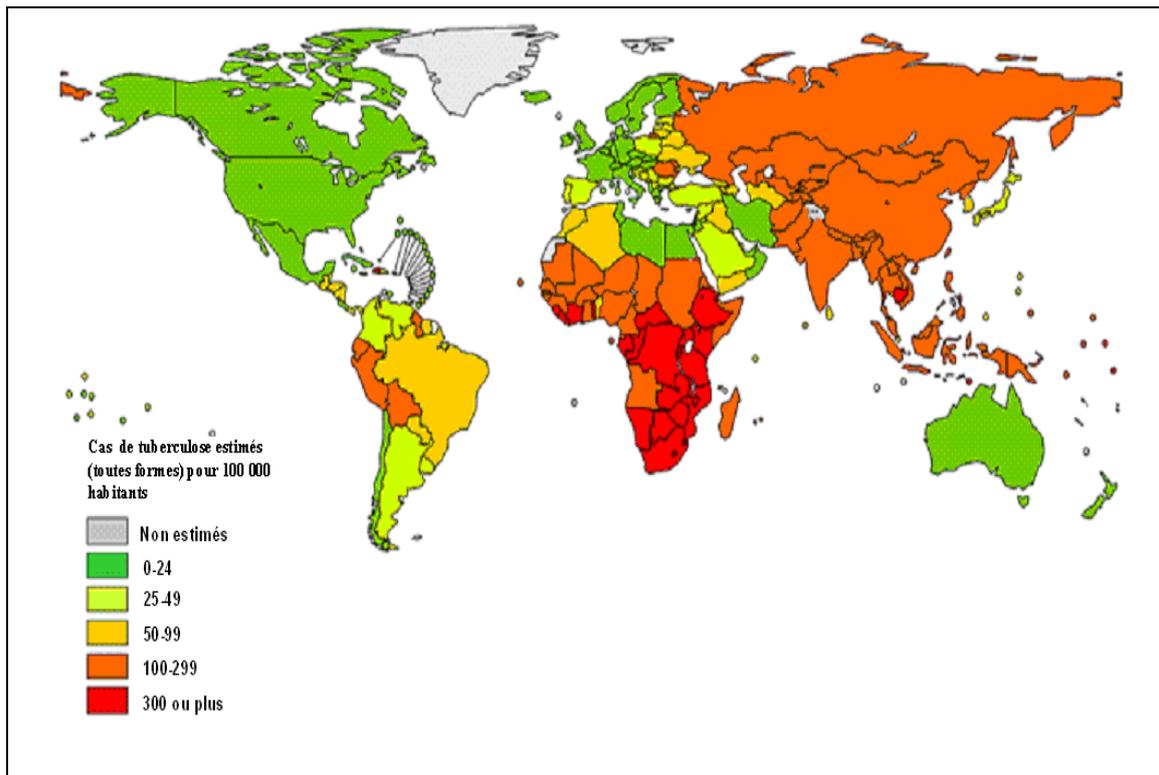
Malgré l'existence de mesures spécifiques efficaces telles que la chimiothérapie et la vaccination, la tuberculose ne cesse de progresser dans le monde.

Traditionnellement, il était d'usage d'envisager la tuberculose dans le monde sous deux angles distincts, celui des riches et celui des pauvres. Dans les pays riches (à hauts revenus), la tuberculose était considérée comme étant sous contrôle et l'incidence en était stable ou en diminution. Au contraire, dans les pays pauvres (à bas revenus), la tuberculose était florissante et surtout, son incidence était en augmentation. Il était classique de dire que 95 % de tous les cas de tuberculose dans le monde étaient relevés dans les pays pauvres, où survenaient 90 % des décès liés à la tuberculose (ANTOINE et CHE, 2008).

Actuellement, la tuberculose est présente partout dans le monde. En 2010, le plus grand nombre de nouveaux cas de tuberculose a été enregistré en Asie du Sud-Est et dans l'Afrique du Sud, qui totalisent 58% des nouveaux cas à l'échelle mondiale (Fig. 1) (OMS, 2011).

Selon l'OMS, la tuberculose dans le monde révèle des chiffres toujours aussi alarmants : 9,6 millions de personnes ont fait une tuberculose en 2014 (8,6 millions en 2012, 9 millions en 2013) et 1,5 million sont décédées (1,3 million en 2012 et 1,5 million en 2013) (OMS, 2014).

La crise de la tuberculose multi-résistante continue, soit près de 3,5% de tous les cas de tuberculose en 2013 dans le monde. Cent trente six mille cas de tuberculose multi-résistante ont été détectés, 97 000 personnes ont été mises sous traitement et seulement 48% des patients ont été guéris. Cette forme de la maladie est beaucoup plus difficile à traiter et les taux de guérison sont considérablement moins élevés. Il y a de graves épidémies de tuberculose multi-résistante dans certaines régions, notamment en Europe de l'Est et en Asie Centrale (AUBRAY, 2014).



**Figure 1 :** Estimation de l'incidence mondiale de la tuberculose, par 100 000 habitants (WHO, 2011).

## 2.2. En Afrique. Le cas de l'Algérie

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

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

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

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

L’incidence, la prévalence et la mortalité de la tuberculose en 2009 dans les différentes régions du monde et en Afrique sont mentionnés dans le Tableau 1.

**Tableau 1:** Tuberculose : estimations de l’incidence, de la prévalence et de la mortalité en 2009 dans les différentes régions du monde selon l’OMS (WHO, 2011).

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

(1) Incidence: nouveaux cas survenant pendant une période déterminée.  
(2) Prévalence: nombre de cas existant dans la population à un moment déterminé.

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

Parmi les nouveaux cas de tuberculose toutes formes confondues, on observe une légère prédominance des cas de tuberculose pulmonaire. Pour les années récentes, 83% des nouveaux cas de tuberculose pulmonaire sont à microscopie positive, tandis que plus de 15%

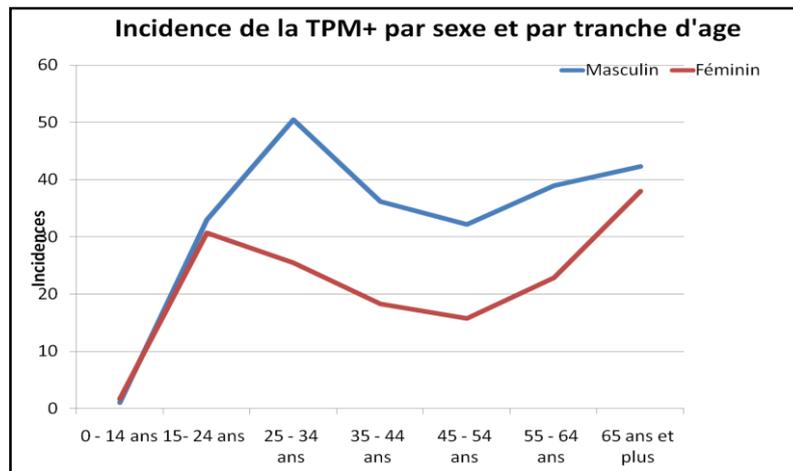
sont à microscopie négative ou non faite ; la proportion des cas de tuberculose pulmonaire à culture positive seulement est très faible en raison du développement insuffisant du réseau des laboratoires de culture. L'importance numérique des cas de tuberculose extra-pulmonaire se confirme, mais ces cas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

Parmi les cas de tuberculose pulmonaire déjà traités qui ne représentent que 7% de l'ensemble des cas de tuberculose pulmonaire prouvés bactériologiquement, les échecs du primo traitement sont beaucoup plus rares que les rechutes et les reprises évolutives après traitement incomplet (Tableau 2, MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

**Tableau 2** : Nombre de cas déclarés de la tuberculose de 2005 à 2010 (MINISTERE DE LA SANTE,2011).

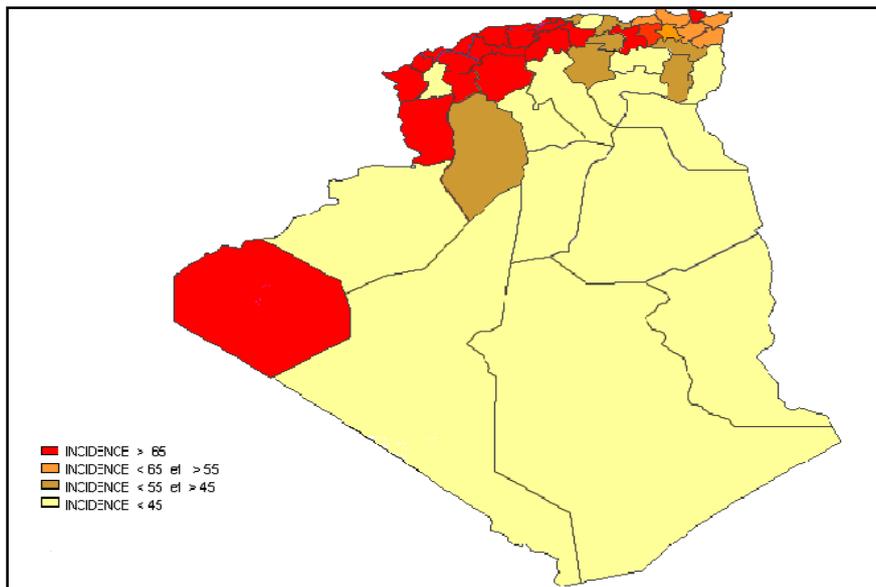
		2005	2006	2007	2008	2009	2010
<b>Nouveaux cas</b>	TPM+	8 654	8 538	8 510	8 643	8 402	8 299
	TPC+ seulement	267	199	178	202	224	230
	TPM0	1 434	1 438	1 418	1 094	1 209	1 213
	TP M ?	215	190	185	232	258	327
	TEP	10 079	10 219	10 209	9 902	11 118	11 770
<b>Anciens cas</b>	Rechutes	557	559	480	509	490	497
	Echecs	46	26	38	40	28	40
	Reprises évolutives	119	94	99	93	94	142
<b>Total des cas déclarés</b>		21 206	21 261	21 117	20 715	21 823	22 518
TPM+ : Tuberculose pulmonaire à microscopie positive TPC+ : Tuberculose pulmonaire à culture positive seulement TPM0 : Tuberculose pulmonaire à microscopie négative TPM ? : Tuberculose pulmonaire à microscopie non faite ou résultat inconnu TEP : Tuberculose extra-pulmonaire							

La répartition des cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive selon les groupes d'âge fait apparaître deux pics de fréquence : l'un pour le groupe d'âge de 25 à 34 ans et l'autre pour les sujets de 65 ans et plus avec une prédominance masculine sauf avant 14 ans et après 55 ans (Fig. 2, MINISTERE DE LA SANTE, 2011).



**Figure 2 :** Incidence de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+) par sexe et tranche d'âge en 2010 en Algérie (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

La répartition géographique des cas déclarés de tuberculose toutes formes confondues selon les wilayas est très inégale (Fig. 3).



**Figure 3 :** Incidence de la tuberculose toutes formes confondues en 2009 selon les Wilayas (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

En général, dans les territoires où la population urbaine est majoritaire, on constate une incidence déclarée plus élevée que celle des territoires où la population rurale est majoritaire.

L'incidence déclarée est plus élevée dans la région Ouest du pays que dans les autres régions.

Des cas de tuberculose recensés au laboratoire de Microbiologie au niveau de l'hôpital universitaire de Constantine portant sur l'année 2015 et représentant 1 053 échantillons pour la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* ont été réceptionnés au niveau de l'unité de la tuberculose, il s'agit de prélèvements pulmonaires et de prélèvements extra-pulmonaires.

La plupart des prélèvements sont d'origine pulmonaire le service le plus pourvoyeur étant celui de pneumologie avec 72%. La tuberculose pulmonaire est positive à 69 %, tandis que la tuberculose extra-pulmonaire l'est à 8,20 % (RAMDANI et al., 2016).

## II. APERÇU BIOCLINIQUE DE L'INFECTION TUBERCULEUSE

### 1. ETUDE BACTERIOLOGIQUE

La tuberculose est une maladie infectieuse, contagieuse, due au bacille appelé : *Mycobacterium*. C'est un bacille aérobic strict, acido-alcool-résistant, à division lente (20 heures en moyenne) (MOREAU, 1952 et LE MINOR et al., 1989).

#### 1.1. Classification

Le genre *Mycobacterium*, seul genre appartenant à la famille des *Mycobacteriaceae*, dans l'ordre des Actinomycétales, est composé de plus de 90 espèces mycobactériennes qui déterminent des maladies différentes (DENIS et al., 2007 et VARAINE et al., 2010) :

*Mycobacterium tuberculosis* est la variété la plus répandue avec 99 % de cas. Il est responsable de la tuberculose humaine.

*Mycobacterium bovis* est la source de contamination des bovidés dans les régions d'élevage. La transmission à l'homme est d'environ 1 % des cas.

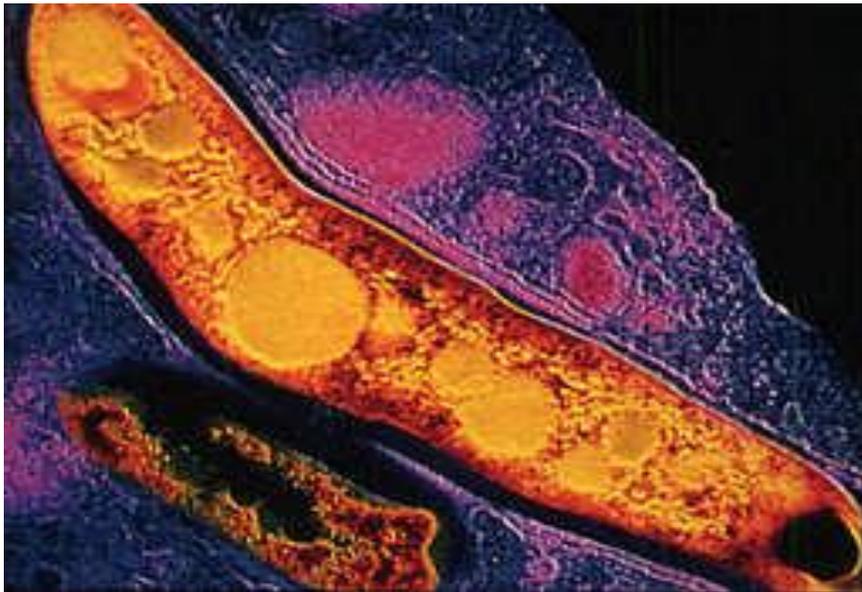
*Mycobacterium africanum* est trouvé chez l'homme en Afrique. Sa pathogénicité est identique à celle de *Mycobacterium tuberculosis*.

Ces trois espèces de bacilles sont des mycobactéries tuberculeuses et constituent le complexe *tuberculosis*.

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).

## 1.2. Caractères morphologiques

*Mycobacterium tuberculosis* se présente comme un bacille droit et incurvé de 0,2 à 0,3µm de large sur 2 à 5µm de long, il est immobile, asporulé et acapsulé, bien qu'ayant la structure générale des bactéries à Gram positif (Fig. 4) (LE MINOR et *al.*, 1989 et PRESCOTT et *al.*, 2010).

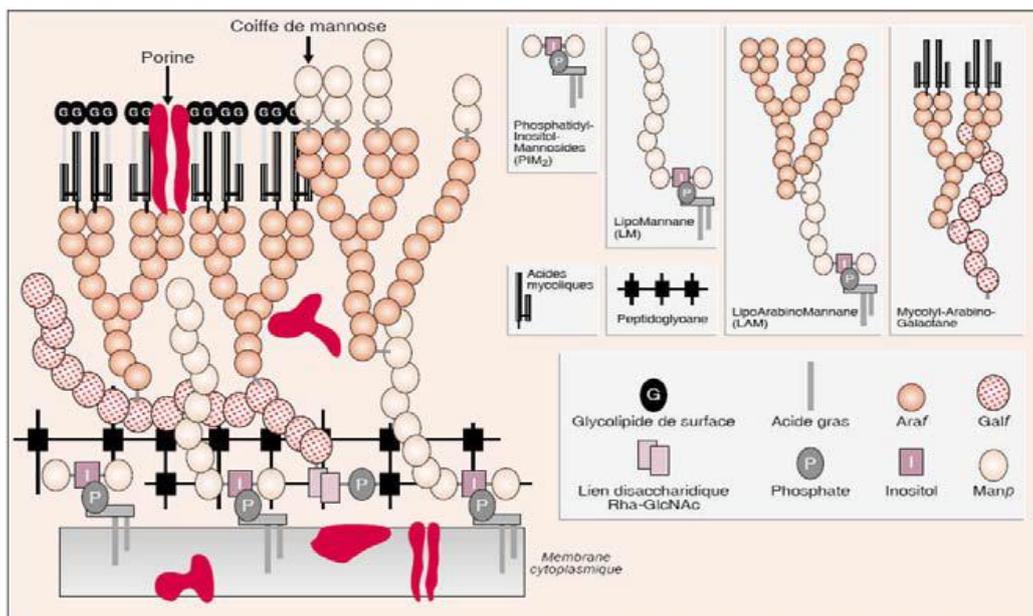


**Figure 4:** Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique (KOUMBA, 2010).

Certaines mycobactéries apparaissent comme filamenteuses ou en mycélium. De nombreuses espèces produisent des pigments de type caroténoïde, conférant aux colonies une couleur jaune à orange foncé, en l'absence de toute exposition à la lumière (KOUMBA, 2010 et PRESCOTT et *al.*, 2010).

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

L'enveloppe mycobactérienne possède une structure unique qui la distingue des autres bactéries : sa forte teneur en lipides la rend particulièrement imperméable et lui confère une résistance à la plupart des antibiotiques et agents thérapeutiques courants. Ces caractéristiques en font une excellente cible pour le développement de nouveaux antituberculeux, les principaux constituants de la paroi mycobactérienne sont représentés dans la figure 5 (SOUIDI, 2014).



**Figure 5:** Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants. Araf : arabinofuranose ; Galf : galactofuranose ; Manp : mannopyranose ; Rha- GlcNAc : Rhamnose-Glucosamine-N-acétyl (SOUIDI.,2014).

En plus de la membrane cytoplasmique et du peptidoglycane communs à toutes les bactéries, l'enveloppe mycobactérienne est complétée par une structure externe complexe, essentiellement constituée d'un polysaccharide très particulier, d'arabinogalactane, d'acides gras à longues chaînes et des acides mycoliques. L'ensemble est également appelé complexe mycolyl-arabinogalactane : mAG (DAFFE et DRAPER, 1998).

Les acides mycoliques de la paroi ont une nature cireuse, ils sont constitués d'une chaîne de 60 à 90 atomes de carbone reliés par des ponts méthyléniques. Les différents

groupements chimiques (éthylénique, méthoxyle, carbonyle...) portés par la chaîne principale sont à la base de la classification des acides mycoliques (KOUMBA, 2010).

Les acides mycoliques sont reliés de manière covalente au peptidoglycane (dont le réseau réticulé confère à la paroi forme et rigidité, par l'intermédiaire des arabinogalactanes qui en constituent le squelette pariétal majeur. Le lipoarabinomannane (LAM), qui peut être considéré comme le lipopolysaccharide mycobactérien, s'intercale de manière non covalente dans cet enchevêtrement complexe (SOUIDI, 2014).

Ils sont importants pour l'architecture et la perméabilité de la paroi mycobactérienne pour laquelle ils représentent une barrière hydrophobe de diffusion.

La teneur en guanine-cytosine de l'ADN est de 62-70% (PRESCOTT et *al.*, 2010).

### 1.3. Caractères cultureux

*Mycobacterium tuberculosis* se cultive à 35°-37°C en 15 à 30 jours sur milieux enrichis, légèrement acides (LE MINOR et VERON, 1989).

*Mycobacterium tuberculosis* ne pousse pas sur les milieux usuels. Il nécessite des milieux très enrichis. Le plus employé est un milieu à l'œuf, le milieu de Löwenstein-Jensen où il donne des colonies de teinte crème-beige, sèche, à surface rugueuse. Les colonies n'apparaissent qu'en 21 jours en moyenne (MARCHAL et *al.*, 1991).

### 1.4. Caractères biochimiques

*Mycobacterium tuberculosis* est aérobie strict. Il est catalase positive et nitrate positif. Au cours de sa croissance, il synthétise une quantité importante d'acide nicotinique ou niacine qui peut être mis en évidence par le test de Konno ou niacine-test. La positivité de cette épreuve est spécifique de *Mycobacterium tuberculosis* (LE MINOR et *al.*, 1989 et GROSJEAN et *al.*, 2006).

Il est très sensible à la chaleur et à la lumière solaire, aux rayons ultraviolets, à l'eau de javel et au formol. En revanche, il résiste au froid et à la dessiccation (AIT-KHALED et *al.*, 1991 et BODONIRINA, 2012).

## 1.5. Identification bactériologique

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

Mise en évidence de l'acido-alcoolo-résistance des bacilles à l'examen microscopique après la coloration de Ziehl Neelsen ou à l'auramine .

La coloration de Ziehl Neelsen est spécifique des seules bactéries du genre *Mycobacterium*, *Mycobacterium tuberculosis* est très riche en lipides : 20 à 45% de l'ensemble de la bactérie est concentré dans la paroi. Ce sont des acides gras complexes. Parmi ceux-ci, les acides mycoliques supposés former une barrière physique relativement imperméable aux molécules hydrophiles et en particulier aux antibiotiques ; celle-ci joue un rôle important dans l'acido-alcoolo-résistance.

Sous l'action de la fuchsine chaude, le bacille se colore en rouge et n'est décoloré ni par l'acide nitrique, ni par l'alcool (Bacille Acido-Alcoolo-Résistant, BAAR). Trois cents champs doivent être observés, ce qui nécessite environ 15 minutes, avant de considérer une recherche de BAAR comme négative. Cette recherche peut être réduite à 2-3 minutes par la recherche en microscopie à fluorescence de BAAR devenus fluorescents après coloration par l'auramine (DELARRAS, 2007). *Mycobacterium tuberculosis* se cultive sur milieux enrichis, le plus employé des milieux est celui de Löwenstein-Jensen (MARCHAL et al., 1991).

Il faut deux à quatre semaines pour isoler *Mycobacterium tuberculosis* en culture et trois semaines supplémentaires pour identifier l'espèce est en effectuer l'antibiogramme.

## 2. ETUDE CLINIQUE

### 2.1. Tuberculose infection

- **La primo-infection tuberculeuse (PIT):**

C'est le premier contact d'un organisme neuf avec le bacille tuberculeux. Qui est caractérisée par une lésion histologique particulière : le follicule tuberculeux (amas de cellules épithéloïdes et de cellules géantes avec nécrose), entouré d'une couronne lymphocytaire et par des modifications biologiques et originales associant une allergie spécifique (hypersensibilité retardée aux protéines bacillaires et à la tuberculine (GRÜNFELD, 1994).

La contamination s'est faite par voie aérienne : inhalation de la microgouttelette contenant des bacilles tuberculeux présents dans les sécrétions respiratoires des patients

infectés entraînant des lésions pulmonaires ou chancre pulmonaire. La multiplication de la bactérie entraîne une réponse immunitaire et une nécrose caséuse qui sont destinées à empêcher le développement des bactéries et à favoriser leur destruction. Dans 90% des cas, la primo-infection tuberculeuse évolue spontanément vers la guérison définitive (MADIGAN et *al.*, 2006). Elle peut se présenter sous deux formes :

- **La primo-infection latente ou dormante**

C'est la plus répandue avec 90% des cas. On estime que près du tiers de la population mondiale est infecté par le bacille de la tuberculose sans le savoir la plupart du temps.

L'infection persiste toute la vie et dans la majorité des cas, elle ne provoque pas de maladie, elle peut même offrir une protection contre la réinfection. Les personnes ayant une infection latente n'ont aucun symptôme clinique ni radiologique et ne sont pas contagieux. Seul l'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) permet de le détecter (SINGLETON, 2005).

- **La primo-infection patente**

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

## **2.2. Tuberculose maladie (tuberculose active)**

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

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

### **2.3. La tuberculose pulmonaire (TP)**

Est la forme la plus fréquente de la maladie et concerne plus de 80 % des cas. C'est la seule forme de tuberculose qui soit contagieuse.

Les signes généraux habituels sont : l'asthénie, l'anorexie, l'amaigrissement, la fébricule à prédominance nocturne, les sueurs nocturnes et les crachats ensanglantés (MINISTERE DE LA SANTE, 2001).

### **2.4. La tuberculose extra-pulmonaire (TEP)**

Elle atteint des organes autres que le poumon, le plus souvent la plèvre, les ganglions lymphatiques, la colonne vertébrale, les articulations, les voies génito-urinaires, le système nerveux ou l'abdomen. En fait, la tuberculose peut toucher n'importe quel organe et se répandre dans tout le corps (ENARSON et *al.*, 2000).

- **La tuberculose rénale**

Dont le diagnostic est habituellement tardif, est évoquée devant une cystite rebelle associée à une hématurie microscopique et une leucocyturie aseptique.

- **La péricardite tuberculeuse**

La tuberculose est responsable de 70% des épanchements péricardiques de moyenne abondance. La localisation péricardique constitue 1 à 2 % des localisations extra-pulmonaires, elle est parfois hémotogène (BELMAHI, 2000).

- **La tuberculose génitale**

Révélee souvent par l'épididymite chez l'homme et la salpingite péritonite chez la femme.

- **La tuberculose osseuse**

Elle affecte la colonne vertébrale chez un patient sur deux (mal de Pott), le genou ou la hanche de 15% ; les autres régions sont rares : poignet, cheville et le coude.

Les personnes dont le système immunitaire est défaillant (immunodéprimées) sont particulièrement exposées. L'imagerie médicale (IRM, scanner) permet de poser le diagnostic. Le traitement repose sur la prise d'antibiotiques.

- **La tuberculose ganglionnaire**

Elle représente environ 20 % des cas de tuberculose extra-pulmonaire ; elle est souvent observée chez les enfants, l'atteinte ganglionnaire tuberculeuse est à l'origine d'une tuméfaction douloureuse d'un ou plusieurs ganglions lymphatiques. Le plus souvent, l'atteinte est localisée aux chaînes cervicales antérieures ou postérieures.

Le diagnostic d'atteinte tuberculeuse ganglionnaire est établi par biopsie ou ponction avec étude microbiologique et examen histo-cytologique.

Si le bacille tuberculeux n'est pas retrouvé, un granulome avec nécrose caséuse peut être mis en évidence chez les sujets immunocompétents (ABBASSI, 2013).

- **La tuberculose du système nerveux central**

L'atteinte du système nerveux central représente environ 5 % de tous les cas de tuberculose extra-pulmonaire et ceci aussi bien chez l'homme que la femme (ENARSON et *al.*, 2000).

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.

### **3. PHYSIOPATHOLOGIE ET IMMUNITE**

La compréhension de la physiopathologie et la réponse immunitaire contre *Mycobacterium tuberculosis* à un niveau moléculaire repose préalablement sur l'intégration du mécanisme infectant de la maladie (aérosol).

*Mycobacterium tuberculosis* ne libérant au cours de sa multiplication aucune substance toxique, la virulence est liée à sa capacité de survie et de multiplication à l'intérieur des macrophages de l'organisme hôte (LE MINOR et *al.*, 1989). Il est considéré comme un parasite intracellulaire facultatif, est toujours pathogène et ne se comporte jamais en saprophyte.

La tuberculose est due aux bacilles tuberculeux dont la transmission est interhumaine. Les bacilles extra-cellulaires des foyers caséux et des cavernes sont éliminés dans l'air par les malades bacillifères toussant ou parlant. Ils restent en suspension dans l'air et peuvent donc être inhalés par tout sujet dans cet environnement (DEMBELE, 2005).

Les différents facteurs qui conditionnent après une inhalation du bacille tuberculeux la survenue d'une tuberculose infection ou bien une tuberculose maladie sont liés à l'intensité,

c'est-à-dire à la richesse bacillaire de l'aérosol infectant, à la durée, à la répétition des expositions et aux moyens de défense de l'organisme, dont l'immunité cellulaire (HASSAINE, 2014).

#### **4. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE**

La première étape du diagnostic de laboratoire consiste à examiner au microscope des frottis, notamment de crachats. On peut utiliser une coloration acido-alcoolo-résistante : coloration de Ziehl Neelsen à chaud en utilisant la fuchsine ou pour plus de précision, une technique microscopique d'immunofluorescence. Dans cette dernière, la fuchsine est remplacée par l'auramine, les bacilles fixent le colorant fluorescent et le conservent après effet de l'acide et de l'alcool (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

##### **4.1. Examen direct**

Il s'agit de la coloration de Ziehl Neelsen à chaud et la méthode de Dugommier : coloration à l'auramine (Cf. partie expérimentale).

##### **4.2. Examen indirect**

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

L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) permet de mettre en évidence une réaction d'hypersensibilité retardée se traduisant par l'apparition 24 à 72 h après une injection intradermique d'antigènes mycobactériens. L'infiltration des antigènes mycobactériens localisée de la peau est le témoin de l'acquisition d'une immunité spécifique contre les mycobactéries. Elle se traduit par une accumulation des lymphocytes sensibilisés au niveau du point d'injection (MEYSSONIER, 2012).

Elle se fait à l'aide d'une seringue type insuline de 1 ml, d'une aiguille à IDR et de 0,1 ml de tuberculine (MINISTERE DE LA SANTE, 2001).

Un volume de 0,1 ml de solution liquide de tuberculine est injecté de façon intradermique à la face antérieure de l'avant-bras.

Le résultat est lu par mesure du diamètre transversal de l'induration (en mm) selon le plus grand diamètre au point d'injection à la 72ème heure après l'inoculation. La rougeur n'est pas prise en compte (LE MINOR *et al.*, 1989).

Trois situations peuvent se présenter de signification clinique variable :

- diamètre d'induration < 5 mm : IDR négative

- diamètre d'induration : 5-15 mm : IDR positive mais zone d'incertitude à interpréter en fonction de la notion de vaccination par le BCG ou la probabilité d'infection récente ou d'immunodépression.

- diamètre d'induration > 15 mm : IDR positive, infection certaine.

Il est difficile de confirmer un diagnostic de tuberculose en isolant la bactérie, car la croissance de celle-ci est très lente. La formation d'une colonie peut prendre de 3 à 6 semaines, Il faut attendre encore de 3 à 6 semaines pour obtenir des résultats fiables, des épreuves de détermination.

On a cependant fait d'énormes progrès dans l'élaboration de tests diagnostiques rapides. Il s'agit de l'hybridation avec les sondes à ADN et l'amplification génique.

#### **4.2.2. Hybridation avec les sondes à ADN**

Elle est réalisée à partir des milieux solides ou liquides permettant d'identifier en quelques heures les bacilles de la tuberculose isolés en culture (BODONIRINA, 2012).

**Milieu solide de Löwenstein-Jensen** (enrichi en pyruvate) à base d'oeuf coagulé. Le délai de croissance de *Mycobacterium tuberculosis* est de 15 à 28 jours.

**Culture sur milieu liquide** : les cultures sur des milieux liquides, soit radioactifs ou non radioactifs permettent de détecter les bacilles en 8 à 14 jours (soit un délai réduit de moitié par rapport au milieu solide).

#### **4.2.3. Amplification génique**

Elle permet de déceler en 24 heures la présence de *Mycobacterium tuberculosis* dans les prélèvements d'origine pulmonaire ou extra-pulmonaire en amplifiant des séquences génomiques spécifiques. Cette méthode a la potentialité d'identifier spécifiquement les bacilles en quelques heures, directement dans les échantillons cliniques sans que le préalable d'une culture bactérienne soit nécessaire. On soumet les *Mycobacterium* présents dans le culot de centrifugation à la lyse par différents agents physico-chimiques (BODONIRINA, 2012).

Plusieurs techniques ont été utilisées:

- le test d'amplification par la PCR : qui utilise une amplification par une Taq Polymérase qui est une variété d'ADN polymérase thermostable nommée d'après *Thermus aquaticus*, une bactérie thermophile à partir de laquelle cette enzyme a été isolée pour la première fois en 1969, cette enzyme codant une partie spécifique d'ARN 16S (DELARRAS, 2007).

- la détermination de la résistance aux médicaments par les méthodes de culture classiques est longue et exige beaucoup de travail. Certaines techniques moléculaires permettent d'établir plus rapidement s'il y a résistance à la rifampicine laquelle est presque toujours une indication de multi-résistance. On s'intéresse aussi aux nouvelles épreuves en milieu liquide : *Microscopic Observation Drug Susceptibility* (MODS) qui vont de l'observation microscopique à des tests de sensibilité aux antibiotiques. La microscopie permet de déceler les arrangements funiformes (en forme de corde) caractéristiques de la bactérie pathogène et d'évaluer l'action de différents médicaments (PERRY *et al.*, 2004).

#### **4.2.4. Radiographie du thorax**

Un petit nodule calcifié périphérique associé à un ganglion hilair calcifié, constituant le complexe de Ghon, peut aussi être la conséquence d'une lésion primaire d'histoplasmose cicatrisée. Si l'image radiologique classique d'infiltrat ou de cavitation lobaire supérieure sur une radiographie du thorax chez un patient présentant des signes respiratoires est très évocatrice, toutes les lésions sont possibles, d'une radiographie du thorax normale à un nodule ou à un infiltrat alvéolaire diffus avec détresse respiratoire.

La répétition de la radiographie du thorax est utile pour évaluer l'activité de la tuberculose : il n'est jamais prudent de juger une tuberculose comme inactive sur la base d'un seul examen radiologique (BENDADDA, 2003)

## **5. TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE**

### **5.1. Traitement curatif**

La tuberculose est une maladie guérissable. Le seul traitement efficace est la poly-chimiothérapie. La durée du traitement est de 6 à 8 mois, répartie en deux phases (BOUCHERIT, 2012) :

- Phase initiale intensive : pendant les deux premiers mois on utilise l'association de quatre molécules : l'éthambutol, la rifampicine, l'isoniazide et le pyrazinamide.
- Phase de continuation de 6 mois : comprend deux molécules : l'éthambutol et l'isoniazide.

Dans le cas de retraitement on utilise l'association de quatre molécules pendant 8 mois (l'éthambutol, la rifampicine, l'isoniazide, le pyrazinamide) avec la streptomycine pendant les deux premiers mois de traitement.

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

Les médicaments antituberculeux essentiels sont au nombre de cinq (LECLERCQ, 2006):

**La streptomycine (SM) :** a été isolée de *Streptomyces griseus* et fut le premier antibiotique réellement efficace contre la tuberculose. Elle pénètre dans la membrane interne de *Mycobacterium tuberculosis* et inhibe la biosynthèse des protéines en se liant de manière irréversible à la petite sous-unité des ribosomes.

**L'isoniazide (INH) :** cette molécule est une pro-drogue nécessitant une activation in vivo pour former le véritable principe actif. Il inhibe la biosynthèse des acides mycoliques qui sont des constituants essentiels de la paroi mycobactérienne.

**Le pyrazinamide (PZA) :** est un analogue de l'isoniazide. Il s'agit également d'une pro-drogue dont l'activité dépendrait d'une amidase bactérienne. L'acide pyrazinoïque serait en fait la molécule active.

**La rifampicine (RIF) :** est un composé naturel isolé de *Streptomyces mediterranei*. Elle inhibe l'ARN polymérase, entraînant ainsi la mort de la bactérie par blocage transcriptionnel. Avec l'INH, la rifampicine constitue la base de la chimiothérapie antituberculeuse.

**L'éthambutol (EMB) :** est un amino-alcool synthétique décrit en 1961. Il inhibe la biosynthèse des arabinogalactane qui entrent dans la composition de la membrane mycobactérienne.

## 5.2. Traitement préventif

### 5.2.1. Mesures hygiéno-diététiques

Il s'agit des mesures suivantes (BODONIRINA, 2012) :

- bonne aération et ensoleillement de la maison.
- éviction des contacts étroits et fréquents avec une personne à bacilloscopie positive non traitée.

- bonne alimentation qualitativement et quantitativement avec priorisation des produits laitiers.
- éviction des efforts physiques intenses.
- arrêt de l'alcool-tabagisme.

### **5.2.2. La vaccination par le BCG**

Le bacille de Calmette-Guérin (BCG) est un vaccin bactérien vivant qui dérive d'une souche atténuée de *Mycobacterium bovis* isolée par Edmond Nocard à partir d'une lésion de mammite tuberculeuse présente chez une vache, puis cultivée à partir de 1908 par Calmette et Guérin. En Algérie, la vaccination par le BCG de tous les enfants de moins de six ans a été rendue obligatoire dès 1969 (MINISTERE DE LA SANTE, 2001).

Le vaccin BCG induit donc divers degrés de protection contre la tuberculose, notamment contre sa forme prédominante, la tuberculose pulmonaire. En revanche, il a été montré que ce vaccin protège efficacement et sans discernement contre les formes disséminées de la maladie, notamment la tuberculose méningée. Il est également efficace contre la lèpre, maladie due à une infection par *Mycobacterium leprae*.

Seul moyen préventif actuellement disponible pour lutter contre la tuberculose, le bacille de Calmette-Guérin (BCG) est un vaccin paradoxal dans la mesure où il se trouve être à la fois le plus répandu au niveau mondial et celui dont l'efficacité est la plus controversée. Il reste l'un des plus mal connus, quant à son mode d'action dans la prévention des infections à mycobactéries, essentiellement tuberculeuse (MINISTERE DE LA SANTE, 2001).

## **1. MATERIEL**

### **1.1. Lieu et durée d'étude**

Nous avons réalisé notre travail au niveau du laboratoire du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires (S.C.T.M.R.) au Khroub.

Notre stage a été effectué durant la période d'un mois : du 21 mars 2016 au 21 avril 2016. Notre étude a porté sur 54 examens bactériologiques de crachats.

### **1.2. Matériel biologique**

Crachat du patient.

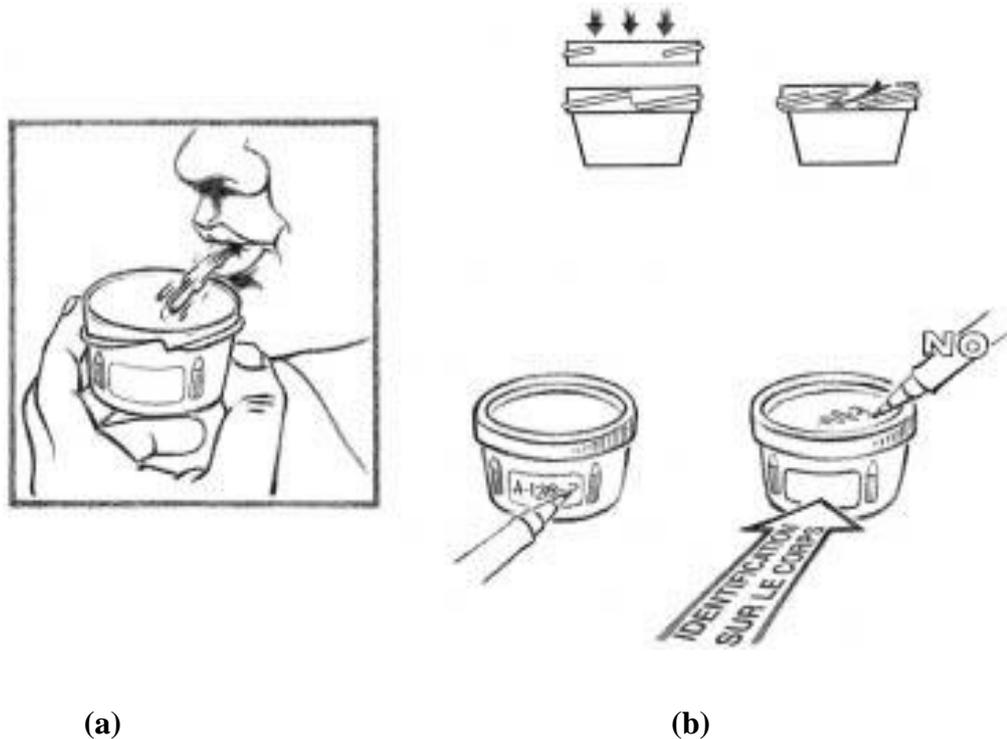
### **1.3. Autre matériel**

- Microscope optique
- Tampon de coton
- Réactifs de la coloration de Ziehl Neelsen (Annexe 1)
- Crachoir en plastique
- Registre de laboratoire

### **1.4. Prélèvement d'échantillons**

C'est un prélèvement d'origine pulmonaire, il s'agit de recueillir les crachats émis spontanément après un effort de toux profond, de préférence le matin au réveil, dans des flacons stériles, à fermeture étanche et à large ouverture afin d'éviter les contaminations des bords extérieurs (Fig. 6a).

Ces crachoirs doivent porter impérativement une étiquette bien collée sur le pot et non sur le couvercle avec le nom, le prénom du patient ainsi que son numéro de dossier et le centre demandeur (Fig. 6b) (AKHTAR et *al.*, 2000).



**Figure 6** : Principales règles dans le prélèvement d'origine pulmonaire (crachat) (AKHTAR et *al.*, 2000).

Les prélèvements sont généralement répétés deux jours de suite.

- Le premier prélèvement, a lieu le jour de la consultation.
- Le deuxième prélèvement, se fait le lendemain du réveil au domicile du patient.

(Il doit être gardé au frais avant de l'amener au laboratoire)

- Un troisième prélèvement peut être fait sur place lorsque le malade revient.

Les enfants de moins de 12 ans sont habituellement incapables d'expectorer volontairement, c'est pourquoi des tubages gastriques pour le recueil des sécrétions bronchiques dégluties durant la nuit sont nécessaires (recherche du bacille tuberculeux) par l'examen direct. Cet examen nécessite une courte hospitalisation de l'enfant (MINISTERE DE LA SANTE, 2001).

## 2. METHODES

Le diagnostic de certitude de la tuberculose repose sur la recherche de *Mycobacterium tuberculosis* dans le prélèvement pathologique.

Cet examen direct se base sur deux techniques de l'examen microscopique: la méthode de Ziehl Neelsen à chaud utilisant la fuchsine ou la méthode de Dugommier utilisant l'auramine.

La richesse de la paroi des mycobactéries en lipides rend peu efficaces les colorants usuels, obligeant à recourir aux deux techniques sus-citées. Le but de ces techniques est de chercher la propriété fondamentale de ces mycobactéries qui est leur caractère acido-alcool-résistant. Ces deux techniques ne sont pas spécifiques aux bacilles tuberculeux mais à toutes les mycobactéries telles que les bacilles de la lèpre d'où l'expression de : présence de bacille acido-alcool-résistant ou BAAR en cas de positivité et non pas présence de bacille tuberculeux (BODONIRINA, 2012).

### 2.1. Préparation du frottis à partir d'un crachat

Le frottis se fait obligatoirement sur une lame neuve, préalablement dégraissée et séchée.

Le numéro attribué au malade sur le registre du laboratoire doit être inscrit à une extrémité de la lame.

A l'aide d'une anse de platine rigide, déjà stérilisée à la flamme et refroidie, un très petit échantillon de crachat purulent ou muqueux est prélevé puis étalé, en faisant des mouvements circulaires sur environ 2 cm de long et 1 cm de large.

Le frottis doit être séché à l'air libre (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

### 2.2. Fixation du frottis

La fixation du frottis se fait à la chaleur par 3 à 4 passages rapides de la lame au dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

Il s'agit de chercher une opération particulière capable de garder le colorant principal après décoloration, c'est-à-dire la conservation de la couleur rose-rouge de la fuchsine malgré

l'action d'un acide fort et de l'éthanol à 95°. Cette propriété est en relation avec la constitution particulière de la paroi des mycobactéries qui est riche en lipides : acide mycolique et acides aminés à longue chaîne.

Cette richesse en lipides rend difficile la coloration habituelle et fait recourir à cette méthode permettant de mettre en évidence le caractère essentiel des mycobactéries c'est-à-dire : l'acido-alcool-résistance (BODONIRINA, 2012).

### **2.3. Coloration de Ziehl-Neelsen à chaud**

#### **2.3.1. Coloration**

Les lames numérotées sont placées sur un support en verre ou en métal et recouvertes par la fuchsine basique phéniquée à 1% filtrée au préalable (DELARRAS, 2007).

A l'aide d'un coton monté sur une tige, trempé dans l'alcool et flambé, la flamme est passée sous les lames recouvertes de fuchsine jusqu'à l'émission de vapeurs. Cette opération est répétée trois fois en laissant agir pendant trois minutes tout en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant. La fuchsine est ajoutée si besoin est au fur et à mesure.

A la fin du temps de coloration, la fuchsine est rejetée et la lame est rincée à l'eau du robinet en évitant de détacher le frottis.

#### **2.3.2. Décoloration**

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

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

#### **2.3.3. Contre-coloration**

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

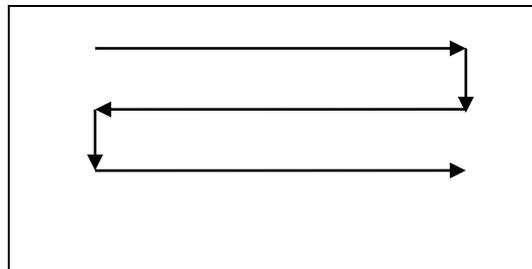
Il est rincé à l'eau du robinet puis séché à l'air libre.

### 2.3.4. Lecture et interprétation des résultats

La lecture de la lame se fait au microscope binoculaire à l'immersion avec l'objectif x 100. Une goutte d'huile à immersion est versée sur le frottis sans le toucher pour éviter la contamination. La lame est placée sur la platine du microscope (AKHTAR et al., 2000).

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

#### La lecture en créneau de la lame



Les BAAR apparaissent rouge vif ou en rose sur un fond contre-coloré en bleu. Ils sont droits ou légèrement incurvés de 2 à 4  $\mu\text{m}$  de long sur 0,3 à 0,5  $\mu\text{m}$  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).

Le tableau n°3 résume les différents résultats de la coloration de Ziehl-Neelsen

**Tableau n°3 :** Notation des résultats (MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE, 2001).

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

#### **2.4. Méthode de Dugommier : coloration à l'auramine.**

Les lames sont recouvertes par l'acide trichloracétique à 1% pendant trente minutes puis elles sont rincées à l'eau.

Les lames sont recouvertes avec la solution d'auramine pendant quinze minutes puis elles sont rincées à l'eau ordinaire.

Le frottis est décoloré avec la solution décolorante acide-alcool pendant deux minutes puis il est rincé à l'eau.

Les lames sont couvertes avec la solution rouge de thiazine pendant une minute puis elles sont rincées à l'eau.

Le frottis est redécoloré à nouveau avec la solution décolorante pendant trois minutes et il est rincé à l'eau. Il est ensuite séché à l'air libre.

Les lames sont observées au microscope à fluorescence avec un objectif à sec à faible grossissement x 25 ou x 40. Ce microscope est muni d'une lampe à ultraviolet qui permet de visualiser les bacilles fluorescents. Ceux-ci sont bien visibles sous forme de bâtonnets jaune-vert fluorescents sur un fond rouge (DELARRAS., 2007).

### 3. RESULTATS

Au cours de notre stage réalisé au niveau du laboratoire du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires (S.C.T.M.R.) du Khroub et qui a été effectué durant la période d'un mois : du 21 mars 2016 au 21 avril 2016 sur les 54 examens bactériologiques des crachats, aucun résultat positif n'a été observé.

La négativité des résultats peut être due à la croissance lente de la bactérie; par conséquent, le développement de la maladie est plus lent.

Une étude rétrospective, a été effectuée à partir des registres du laboratoire au niveau du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires du Khroub pendant une période allant de Janvier 2015 à Avril 2016 et qui a porté sur 747 patients suspects de la tuberculose pulmonaire nécessitant une analyse bactériologique des crachats. Les patients suspects sont ceux ayant des signes de toux sévère, d'amaigrissement et de crachats sanguinolents (Fig.8).



**Figure 8 :** Crachat sanglant d'un malade souffrant de la tuberculose pulmonaire.

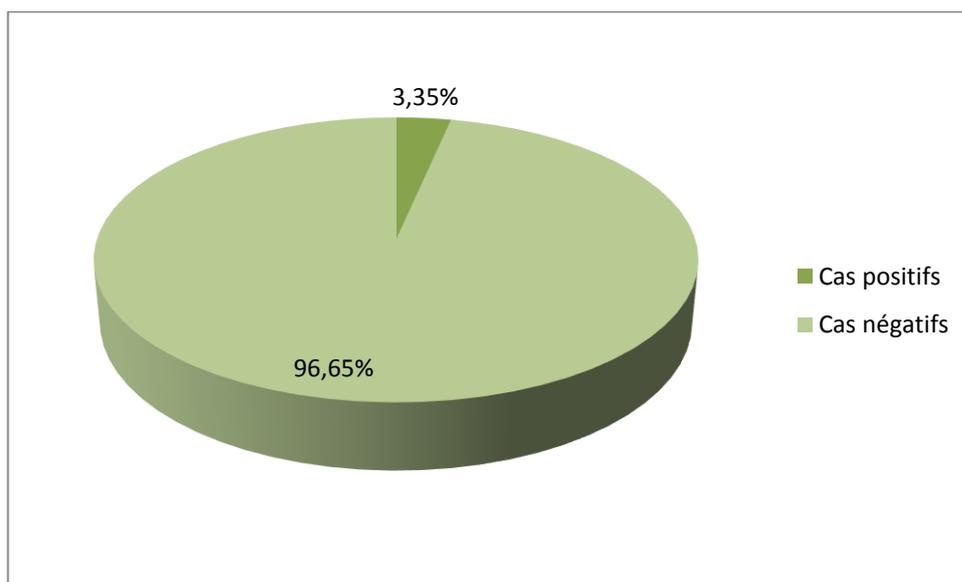
Le registre du laboratoire comporte : le nom du malade, l'âge, le sexe et le résultat de la bacilloscopie. Il donne également les informations suivantes :

- nombre de sujets suspects examinés.
- nombre d'examens positifs lors du dépistage.

### 3.1. Prévalence de la tuberculose pulmonaire au S.C.T.M.R. du Khroub

La prévalence est l'ensemble de cas ou de foyers en évolution (en traitement ou non) à un moment donné, dans une population donnée, généralement rapportée à 100 000 personnes.

D'après l'étude rétrospective, sur les 747 patients consultés, 25 patients ont des BAAR positifs après l'examen des crachats, soit une prévalence de 3,35 % (Fig. 9).



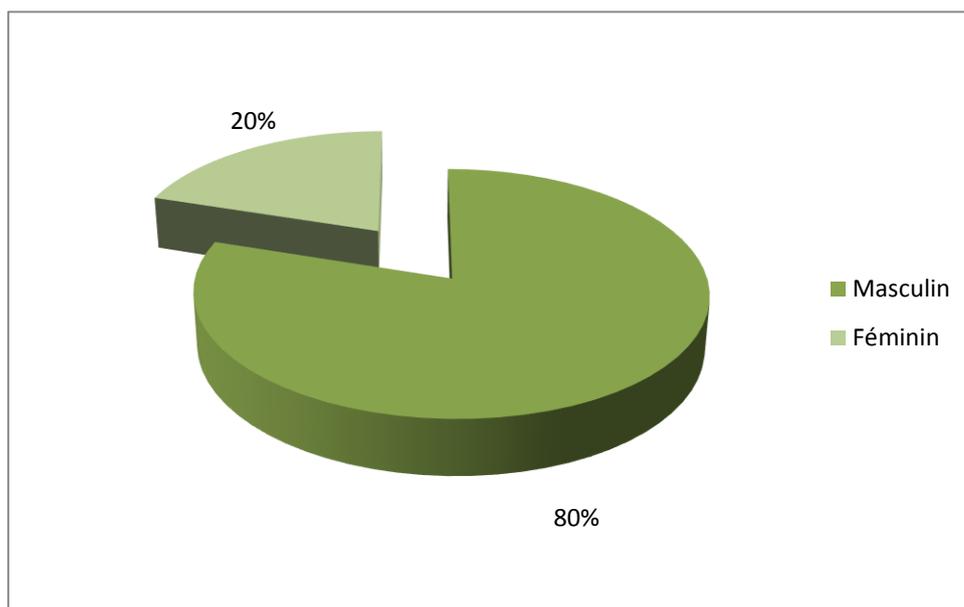
**Figure 9:** La prévalence de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive.

Ces 25 patients à BAAR positifs sont répartis en fonction du genre, de l'âge, de la provenance du patient, de la charge de BAAR et des méthodes de diagnostic de la tuberculose.

### 3.2. Caractéristiques de la population étudiée

#### 3.2.1. Répartition des patients consultés selon le genre :

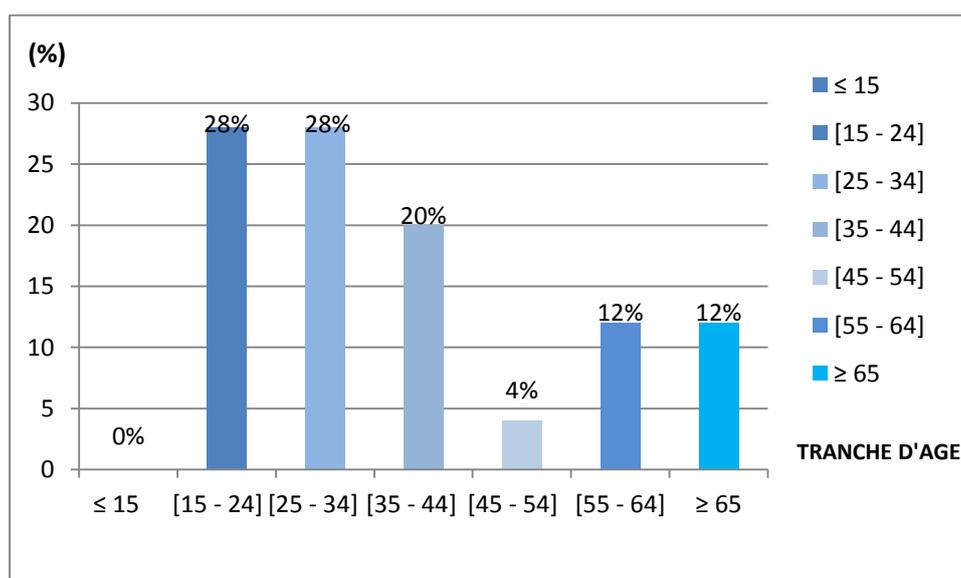
La figure 10 montre la répartition selon le genre des 25 patients à BAAR positifs, avec une prédominance masculine de 80%; la répartition féminine étant de 20%. Le sexe ratio (M/F) est d'environ 1 femme pour 4 hommes (Fig. 10).



**Figure 10 :** Répartition des patients à BAAR positif selon le genre.

### 3.2.2. Répartition des patients à BAAR positif selon la tranche d'âge

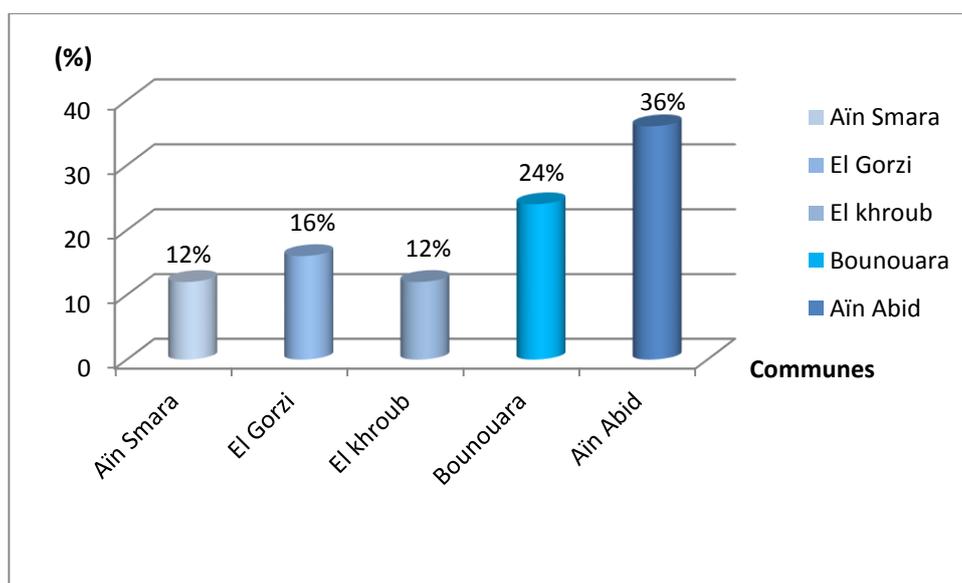
La figure 11 présente la situation de la tuberculose selon la tranche d'âge dont la plus touchée se situe entre 15 et 44 ans (76%). La maladie est rare chez les enfants âgés de moins de 15 ans et chez les sujets âgés de 45 à 54 ans (Fig. 11).



**Figure 11 :** Répartition des patients à BAAR positif selon la tranche d'âge.

### 3.2.3. Répartition des patients à frottis positif par commune

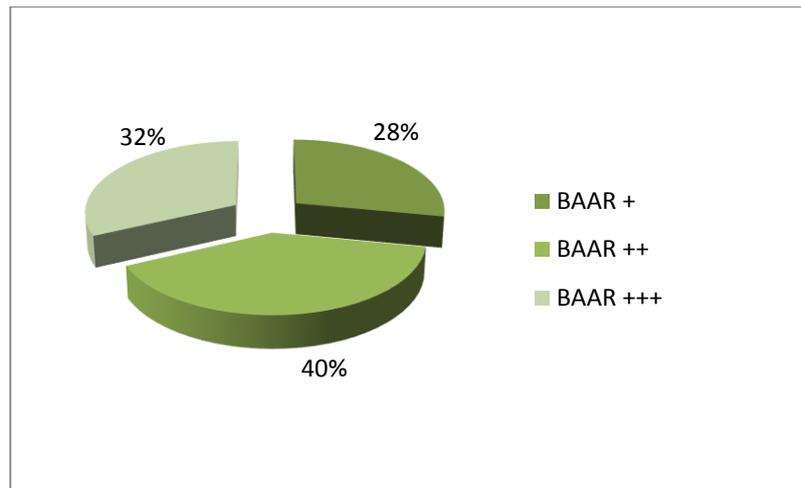
Dans cette étude, les communes d'Aïn Abid et de Bounouara semblent les plus touchées par rapport aux autres communes, avec des taux respectivement de 36% et 24% (Fig. 12).



**Figure 12 :** Répartition des patients à frottis positif par commune.

### 3.3. Répartition selon la charge de BAAR positifs

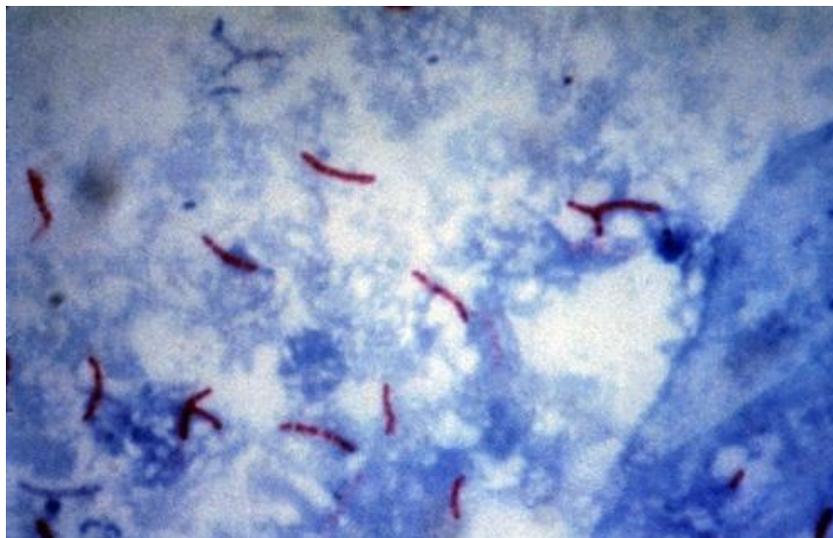
La figure 13 présente la répartition des patients positifs selon la charge de BAAR dans le crachat. Cette figure permet de révéler que les patients à BAAR +++ (32%) et à BAAR ++ (40%) sont les plus nombreux, tandis que la proportion des patients à BAAR + est de (28%) ( Fig.13).



**Figure 13 :** Répartition des patients à frottis positif selon la charge de BAAR dans le crachat.

### 3.4. Les méthodes de diagnostic

Plusieurs techniques sont disponibles pour le diagnostic de la tuberculose comme la réaction de la polymérisation en chaîne (PCR) et l'amplification génique, mais elles ne sont pas toujours à la portée de tous les patients à cause de leur coût.



**Figure 14:** Observation microscopique de bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) après la coloration de Ziehl Neelsen.

C'est pour cette raison que l'examen direct est le plus couramment utilisé et les patients sont dépistés à l'aide de la technique de coloration de Ziehl Neelsen, qui est accessible à tous les patients par sa gratuité (Fig. 14).

## 4. DISCUSSION

### 4.1. Prévalence de la tuberculose pulmonaire au S.C.T.M.R. du Khroub

Dans cette étude, la prévalence de la tuberculose pulmonaire est de 3,35 % en 2015 (Fig. 9). Cette prévalence est semblable à celle de l'année 2014 qui est de 3,08%. Ainsi, le nombre de cas de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive au cours de ces deux années est pratiquement identique.

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

### 4.2. Caractéristiques de la population étudiée

Les résultats illustrés dans la figure 10 montrent une prédominance dans la population de sexe masculin avec un pourcentage de (80%) contre (20%) pour le sexe féminin avec un sexe ratio (M/F) de 4. Trois hypothèses pourraient expliquer cette prédominance masculine :

- les comportements à risque beaucoup plus fréquents chez l'homme (tabagisme, alcoolisme).
- les travaux physiques intenses malgré l'insuffisance alimentaire.
- une forte incidence en milieu carcéral constitue un facteur important dans la mesure où la plupart des détenus sont des hommes.

#### **- Selon le genre**

Ces observations rejoignent les résultats d'autres études telles que celles d'ENARSON, 2000 où l'incidence était plus élevée chez les hommes que chez les femmes et d'ANTOINE, 2008 où 60% des cas déclarés de tuberculose sont de sexe masculin et celle de la déclaration du Ministère de la santé en Algérie, 2011 (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

Les résultats obtenus rejoignent la tendance mondiale, où l'observation de l'incidence de la tuberculose en fonction du sexe montre, que celle-ci est toujours plus élevée chez les hommes.

#### **- Selon l'âge**

La tuberculose est une maladie qui touche l'individu à tout âge de la vie. Dans notre étude, la tranche d'âge de 15 à 44 ans est la plus touchée avec 76%, les sujets âgés de 45 à 65 ans représentent 16% seulement (Fig. 11).

Dans les pays en développement la maladie touche en priorité les gens entre 15 et 45 ans soit 75% c'est-à-dire le groupe économiquement le plus productif entraînant des perturbations sur le plan économique et social.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés dans les pays du Maghreb, où la tranche d'âge entre 20 et 45 ans est la plus affectée par la maladie avec 70%, celle-ci représente plus de la moitié des cas déclarés au niveau des trois pays Algérie, Maroc et Tunisie (MINISTERE DE LA SANTE, 2011).

Dans les pays développés, elle affecte surtout les personnes dont l'âge est supérieur à 70 ans. Ainsi en France, les personnes les plus touchées sont âgées de plus de 80 ans : celles sans domicile fixe et celles qui sont nées à l'étranger en particulier en Afrique Subsaharienne (ANTOINE et CHE, 2008).

#### **- Selon la répartition de la charge de BAAR par commune**

Le taux élevé des patients à frottis positif dans les communes d'Aïn Abid et de Bounoura avec 36% et 24% (Fig. 12) est probablement dû à l'éloignement du centre de santé. En effet, la plupart de ces tuberculeux sont souvent pauvres et doivent venir au centre de santé du Khroub chaque mois pour le dépistage ce qui diminue le courage de continuer le traitement.

#### **4.3. Répartition selon l'examen bactériologique du crachat**

Dans cette étude rétrospective, 32% sont des BAAR +++ et 40% sont des BAAR ++ (Fig. 13). La contagiosité d'un cas de tuberculose est déterminée par la concentration de bacilles à l'intérieur des poumons. Les patients qui ont une tuberculose pulmonaire et chez lesquels les bacilles sont nombreux en microscopie à l'examen direct sont les plus contagieux.

La charge bactérienne peut traduire l'évolution de la maladie : plus le nombre de croix augmente, plus le nombre de BAAR trouvé à l'examen microscopique est grand et plus la contagiosité est élevée. Dans notre étude, 72 % des cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive dans le centre du Khroub ont des BAAR +++ ou BAAR ++ traduisant la source de la transmission et de la dissémination de cette maladie dans la région du Khroub.

Dans notre étude, l'examen direct des crachats est le plus couramment utilisé et les patients sont dépistés à l'aide de la technique de coloration de Ziehl Neelsen, qui est accessible à tous les patients par sa gratuité. Ce cas de la figure 14 est semblable à celui de BODONIRINA, 2012.

## CONCLUSION

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

La recrudescence de la tuberculose nous a conduits à la mise sur pied au niveau du laboratoire de bactériologie du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires d'une étude bactériologique des crachats des 54 patients suspects par la coloration de Ziehl Neelsen dont le but est le diagnostic de la tuberculose pulmonaire. Rappelons que la méthode de Ziehl Neelsen est le seul examen accessible par sa gratuité à la majorité de la population. Cette étude a donné des résultats négatifs.

Ceux-ci nous ont amenés à effectuer ensuite une étude rétrospective portant sur 747 cas suspects de tuberculose pulmonaire colligés au cours de l'année 2015 au niveau du même service du Khroub.

Après l'examen des crachats, les résultats montrent que 25 patients ont des BAAR positifs soit une prévalence de 3,35 %. On note une prédominance masculine de 80% avec un sexe ratio (M/F) de 4.

Cette prédominance masculine est due à la pauvreté de la plupart des gens, à l'alcool-tabagisme qui diminue l'état immunitaire, au mauvais suivi des traitements, aux travaux physiques intenses et surtout à la forte incidence en milieu carcéral constituant un facteur important dans la mesure où la plupart des détenus sont des hommes.

Ces résultats de prédominance masculine observés en Algérie sont semblables à ceux trouvés dans d'autres pays du Maghreb (Maroc et Tunisie).

Outre le fait qu'elle confirme la prévalence de cette pathologie dans la région du Khroub, notre étude nous a permis, à travers les 25 cas à microscopie positive, de suivre l'évolution de la maladie par la charge bactérienne à la microscopie.

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

## الملخص

العنوان: عودة السل في العالم.

تشخيص المرض عن طريق الفحص المجهرى للبلغم باستخدام طريقة Ziehl Neelsen .

كلمات البحث: السل الرئوي - *Mycobacterium tuberculosis* - متعدد المقاومة- طريقة Ziehl Neelsen

السل مرض معدى ناجم عن عضية بكتيرية *Mycobacterium tuberculosis*، لا يزال يمثل مشكلة صحية.

يعتبر مرض السل خطر في البلدان المتقدمة، هو موضع اهتمام متجدد لسببين رئيسيين:

- عودة ظهور المرض بسبب ظروف اجتماعية واقتصادية (الفقر، والهجرة، الخ ... ) و تزال ذا الإصابة بوباء فيروس نقص المناعة البشري

- ظهور سلالات مقاومة متعددة.

الهدف من دراستنا هو تشخيص السل الرئوي بواسطة المجهر البلغم باستخدام طريقة Ziehl Neelsen à chaud أجرينا عملنا في مخبر علم البكتيريا و مكافحة السل والأمراض التنفسية بالخروب . من بين 54 مريضا الذين تم فحصهم خلال فترة الاختبار، لم يلاحظ أي نتائج إيجابية : نتائج سلبية لجميع المرضى بعد الفحص من قبل البلغم . وهذا هو السبب في أن تم اجراء دراسة استعادية من 747 حالة مشتبه بها مرض السل الرئوي، والتي تم جمعها خلال عام 2015 : كان 25 مريضا يعانون من البلغم حيث كانت النتائج إيجابية بعدد انتشار 35%، ويلاحظ من الذكور 80% بمعدل امراة لاربع رجال ، والفئة العمرية بين 15 و 44 عاما هي الأكثر تأثرا بنسبة 76%.

وبعد هذا الانتشار، لاحظ أنه لا بد من تعزيز برنامج مكافحة السل والمعالجة قصيرة الأمد ( الملاحظة المباشرة المعالجة قصيرة الأمد) لخفض كبير في معدل الإصابة بالسل.

# Abstract

**Title:** Resurgence of tuberculosis.  
Diagnosis of the disease by sputum microscopy using the Ziehl Neelsen.

**Keywords:** Pulmonary tuberculosis - *Mycobacterium tuberculosis* - Multi-resistance - Ziehl Neelsen

Tuberculosis infectious disease caused by the bacillus *Mycobacterium tuberculosis*, remains a global health problem.

Considered an endangered disease in developed countries, it is the subject of renewed attention for two major reasons:

- There is a resurgence of the disease with high socio-economic determinant (poverty, immigration, etc ...) and the HIV epidemic.
- Appearance of multi-resistant strains.

The aim of our study is the diagnosis of pulmonary TB by sputum microscopy using the Ziehl Neelsen hot technique.

We conducted our work at the Tuberculosis Control Service and Respiratory Diseases of Khroub. Of the 54 patients examined during the probationary period, no positive results were observed: all suspected patients are negative after examination by sputum Ziehl Neelsen hot. That is why we then conducted a retrospective study of 747 suspected cases of pulmonary tuberculosis, collected during the year 2015: 25 patients had positive sputum after a prevalence of 3,35%; a male of 80% is noted with a sex ratio (M / F) 4, the age group between 15 and 44 years being the most affected with 76% of the totalite.

Following this prevalence, we note that it is imperative to strengthen the tuberculosis program and the DOTS (Directly Observed Treatment Short) to reduce significantly the incidence of tuberculosis.

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**ABBASSI H. (2013).**

Prise en charge de la tuberculose ganglionnaire. Culture, typage et antibiogramme. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté de Médecine et de pharmacie, FES. 98 p.

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

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

**AKHTAR M., BRETZEL G., BOULAHBAL F. et LASZLO A. (2000)**

Diagnostic de la tuberculose par examen microscopique direct des expectorations dans les pays à faibles revenus. 5<sup>ème</sup> Ed. Paris.

**ANTOINE D. et CHE D. (2008)**

Les cas de tuberculose maladie déclarés en France en 2006. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire. N°10-11. p 69-75.

**AUBRY P. (2014)**

Actualités sur la tuberculose .Bull. Soc. Pathol. Exot., 107, p 127-128.

**BELMAHI R. (2000)**

La tuberculose péritonéale au CHU Hassan II de Fès : 300 cas. Thèse de doctorat, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès. N° 053/08. 118 p.

**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 de Doctorat, National Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès. 169 p.

**BODONIRINA V.P. (2012)**

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

**BOUCHERIT H. (2012)**

Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium Tuberculosis* par diverses molécules. Magister en biochimie. Université des Frères Mentouri Constantine, 110 p.

**BOUCHERIT H., CHIKHI A., BENSEGUENI A., MERZOUG A., HIOUALK.S., et MOKRANI H. (2013)**

L'amarrage moléculaire : une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 7, N°2. p 133-149.

**BOULAHBAL F. et CHAULET P. (2004)**

La tuberculose en Afrique épidémiologie et mesures de lutte. *Med Trop*; 64 : p 224- 228.

**BOUSEBHA A. (2006)**

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

**BOUSSEBOUA H. (2005)**

Eléments de microbiologie. 2<sup>ème</sup> Ed. Campus-Club. N° 2991. p 269.

**CHAULET P. (2009)**

La situation de la tuberculose dans le monde et en Afrique. Alger

**DAFFE M. et DRAPER P. (1998)**

The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. *Adv. Microb. Physiol.*, 39 : p 131-203.

**DELARRAS C. (2007)**

Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier. p 110, 111, 113.

**DEMBELE J. P. (2005)**

Aspects épidémiologiques de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive au Mali pendant la décennie 1995 – 2004. Thèse de doctorat en Médecine, Université de Bamako. Mali. 85 p.

**DENIS F., PLOY M.C., MARTIN C., BINGEN E. et QUENTIN R. (2007)**

Bactériologie médicale Techniques usuelles. 2<sup>ème</sup> Ed. Elsevier. Paris. p 507-517.

**DIF A. (2016)**

Disponible à : <http://www.liberte-algerie.com/radar/la-tuberculose-en-recrudescence>.

**ENARSON D.A., RIEDER H.L., ARNADOTTIR T. et TREBUCQ A. (2000)**

Prise en charge de la tuberculose Guide pour les pays à faibles revenus.

**GROSJEAN J., CLAVE D., ARCHAMBAUD M. et PASQUIER C. (2006)**

Bactériologie et virologie pratique. 2<sup>ème</sup> Ed. Boeck. p 196-199.

**GRÜNFELD J-P. (1994)**

Dictionnaire de médecine. 5<sup>ème</sup> Ed. Flammarion. Paris. p 862, 863.

**HASSAINE M. (2014)**

Etat des lieux et prévalence de la tuberculose extra-pulmonaire la ville d'Oujda entre 2003 et 2010. Thèse de doctorat en pharmacie. Rabat. 188 p.

**HUCHON G. (1997)**

Tuberculose et mycobactéries non tuberculeuses. Encycl. Méd. Chir. Pneumologie; 6-019, 20 p.

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE PUBLIQUE (2007)**

Situation épidémiologique de la tuberculose en Algérie année 2006.

**KOUMBA Y.G. (2010)**

Synthèse d'analogues cinnamiques : inhibiteurs potentiels contre *Mycobacterium tuberculosis*. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. 277 p.

**LECLERCQ R. et BINGEN E. (2006)**

Antibiogramme. 2<sup>ème</sup> Ed. ESKA. Paris. p 563-567.

**LE MINOR L. et VERON M. (1989)**

Bactériologie médicale. 2<sup>ème</sup> Ed. Flammarion .paris. p 965-982.

**MADIGAN M. et MARTINKO J. (2006)**

Biologie des micro-organismes. 11<sup>ème</sup> Ed. Brock. p 864-866.

**MARCHAL N., BOURDON J.L. et RICHARD CL. (1991)**

Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin. Paris. p 358-360.

**MEYSSONIER V. (2012)**

Epidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux ; santé publique et épidémiologique. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie. paris .161p.

**MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (2001)**

Programme National de Lutte Contre la Tuberculose, Manuel de la lutte antituberculeuse à l'usage des personnels médicaux, Alger

**MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (2011)**

Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies Guide de la lutte anti-tuberculeuse. 3<sup>ème</sup> Ed.

**MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (2015)**

La tuberculose à bacille multi-résistants : défis d'une émergence globale. Bull. Soc. Pathol. Exot, 108 : p 290-298.

**MOREAU F. (1952)**

Les champignons : physiologie, morphologie, développement et systématique. Ed. Lechevalier. p 9,10.

**MURRAY J.F. (2001)**

La tuberculose dans le monde : situation et perspective en l'an 2001. *Revue des Maladies Respiratoires*. **18** : p 479-484.

**NAU J.Y. (2008)**

De nouveaux antituberculeux sont annoncés. *Revue Médicale Suisse*. 4: p 744.

**OMS (2003)**

Le traitement de la tuberculose : principes à l'intention des programmes nationaux. 3<sup>ème</sup> Ed. Genève.

**OMS (2014)**

Rapport 2014 sur la lutte contre la tuberculose dans le monde.

**PERRY J.J., STALEY J.T. et LORY S. (2004)**

Microbiologie. Ed. Dunod. Paris. p 720,721

**PRESCOTT, HAARLEY, KLEIN, WILLEY, SHEWOOD et WOOLVERTON (2010)**

Microbiologie. 3<sup>ème</sup> Ed. Boeck. p 951-954.

**PROUST ET SWANN (2012).**

Disponible à : <http://dictionnaire.reverso.net/francais-definition/recrudescence>

**RAMDANI H., KHEMISSI S., BENTCHOUALA C., et BENLABED K. (2016)**

Diagnostic bactériologique de la tuberculose à Constantine. Poster.

**SINGLETON P. (2005)**

Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6<sup>ème</sup> Ed. Dunod. Paris. p 323,324.

**SOUIDI L. (2014)**

La prévalence de la tuberculose pulmonaire à Oujda-Anggad entre 2008 et 2012. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V. Rabat. N° 22. 201 p.

**TORTORA G.J., FUNKE .R. et CASE C.L. (2012)**

Introduction à la microbiologie. 2<sup>ème</sup> Ed. Pearson. p 533-537.

**TRIPATHI R.P., TEWARI N., DWIVEDI N., TIWARI V.K. (2005)**

Tuberculosis fighting: une maladie ancienne avec de nouveaux défis. *Med. Res. Rev*; 25 (1): p 93-131.

**VARAINE F., HENKENS M. et GROUZARD V. (2010)**

Guide pratique à l'usage des médecins, infirmiers, techniciens de laboratoire et auxiliaires de Santé. 3<sup>ème</sup> Ed.

**WHO (2011)**

Global tuberculosis control.

## Annexes

### Annexe1 : Réactifs de Ziehl Neelsen

#### - Fuchsine phéniquée de Ziehl

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

#### - Acide sulfurique au 1/4

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

#### - Bleu de méthylène phéniqué

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

#### - Phénol aqueux ou acide phéniqué aqueux

Phénol cristallisé.....	1 kg
Eau distillée.....	100 ml

## **Annexe 2 : La coloration à l'auramine (Méthode de Dugommier)**

### **- Auramine**

#### **Solution 1 :**

Auramine.....	1 g
Eau distillée.....	500 ml

#### **Solution 2 :**

Chlorure de magnésium.....	2 g
Phénol aqueux.....	50 ml
Eau distillée.....	500 ml

### **- Solution de décoloration (alcool-acide)**

Alcool à 95°.....	1000 ml
HCl concentré.....	5 ml
NaCl .....	5 g

### **- Solution de contre colorant le rouge thiazine**

Rouge thiazine.....	1 g
Chlorure de magnésium.....	2 g
Phénol aqueux.....	50 ml
Eau distillée.....	1000 ml

### **- Phénol aqueux**

Phénol cristallisé.....	1 kg
Eau distillée.....	100 ml

### **Annexe 3 : Milieu de Löwenstein – Jensen**

Phosphate monopotassique (0,4%).....	2,4 g
Sulfate de magnésium (0,4%).....	0,24 g
Citrate de magnésium (0,1%) .....	0,6 g
Asparagine (0,6%).....	3,6 g
Glycérine bidistillée (2%).....	12 ml
Eau distillée.....	1640 ml
Fécule de pomme de terre .....	30 g
Œuf entier.....	1000 ml
Vert de malachite.....	0,4 g

**La Recrudescence de la tuberculose dans le monde.  
Diagnostic de la maladie par l'examen microscopique des crachats à l'aide de la coloration de Ziehl Neelsen.**

Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale.

**Résumé**

La tuberculose maladie infectieuse due au bacille *Mycobacterium tuberculosis*, elle demeure encore un problème de santé publique dans le monde et en particulier en Algérie.

La tuberculose est considérée comme une maladie en voie de disparition dans les pays développés, celle-ci est l'objet d'une attention renouvelée pour deux raisons majeures:

- il y a un regain de cette maladie à fort déterminant socio-économique ( pauvreté, immigration, etc... )  
Ce regain affecte surtout les zones où le VIH sévit.
- apparition de souches multi-résistantes.

L'objectif de cette étude est le diagnostic de la tuberculose pulmonaire par l'examen microscopique des crachats à l'aide de la coloration de Ziehl Neelsen à chaud.

Nous avons réalisé notre travail au niveau du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires du Khroub. Sur les 54 patients consultés, aucun résultat positif n'a été observé : tous les patients suspects sont négatifs après l'examen de crachat par la coloration de Ziehl Neelsen à chaud.

Nous avons effectué ensuite une étude rétrospective portant sur 747 cas suspects de tuberculose pulmonaire, colligés au cours de l'année 2015 au niveau du Service de Contrôle de la Tuberculose et des Maladies Respiratoires du Khroub : 25 patients ont des BAAR positifs après l'examen des crachats, soit une prévalence de 3,35 % ; on note une prédominance masculine (80%) avec un sexe ratio (M/F) de 4, la tranche d'âge comprise entre 15 et 44 ans étant la plus touchée avec (76%).

Suite à cette prévalence notons qu'il est impératif de renforcer le programme antituberculeux et la stratégie du Traitement Court Directement Observé (DOTS) pour baisser de façon significative l'incidence de la tuberculose.

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

**Laboratoire de recherche** : Laboratoire de bactériologie du S.C.T.M.R. du Khroub.

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury** : ARABET D. (MCB - Université des Frères Mentouri Constantine)

**Rapporteur** : AIT ABDELOUAHAB N. (MA - Université des Frères Mentouri Constantine)

**Examinatrice** : BOULTIFAT L. (MA - Université des Frères Mentouri Constantine)

**Date de soutenance** : 27/06/2016