

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT
SECONDAIRE SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple- Un But- Une Foi**

**DIRECTION NATIONALE DE
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**

**ECOLE NATIONALE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE**

ANNEE 1996

N° 21

*****⊕*****

**ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTITUBERCULEUX DES
SOUCHES DE BACILLES HEBERGES PAR LES MALADES
TUBERCULEUX DANS LE DISTRICT DE BAMAKO**

T H E S E

**PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 09/Juillet/1996
DEVANT L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**

Par : N'FAMARA SANOGO

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ETAT)

**JURY : PRESIDENT : Professeur Souleymane SANGARE
Membres : Professeur Bah KEITA
Docteur Flabou Bougoudogo**

DIRECTEUR DE THESE : Professeur Bréhima KOUMARE

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1995-1996

ADMINISTRATION

DOYEN : ISSA TRAORE - PROFESSEUR
1er ASSESSEUR: BOUBACAR S.CISSE - PROFESSEUR
2ème ASSESSEUR : AMADOU DOLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
SECRETAIRE GENERAL: BAKARY CISSE - MAITRE DE CONFERENCES
ECONOME: MAMADOU DIANE CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Ortho-Traumato.Sécourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-ptisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L.TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R & PAR GRADE

D.E.R.CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chef D E R de Chirurgie
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumatologie
Mr Kafilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mme SY Aissata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif Diakité	Gynéco-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Alhousseïni Ag MOHAMED	O.R.L.
Mme DIALLO Fatimata.S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesth.-Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Aly GUINDO
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Ali Nouhoum DIALLO
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Mamamdou M. KEITA

Med.Int. Chef D E R MEDECINE
Gastro-Enterologie
Cardiologie
Néphrologie
Médecine Interne
Psychiatrie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Toumani SIDIBE
Mr Bah KEITA
Mr Boubacar DIALLO
Mr Dapa Aly DIALLO

Pédiatrie
Pneumo-Phtysiologie
Cardiologie
Hématologie

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Moussa Y. MAIGA
Mr Somita KEITA
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mr Mamady KANE
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY

Med. Interne
Gastroenterologie
Dermato-Leprologie
Medecine Interne
Psychiatrie
Gastroenterologie
Radiologie
Néphrologie
Psychiatrie

3. ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE
Mr Adama D. KEITA
Mme Tatiana KEITA

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie

D E R de SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE

Toxicologie

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Arouna KEITA

Matière Médicale

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Boukassoum HAIDARA
Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Elimane MARIKO

Législation
Pharm.Chim. (Chef de D.E.R.)
Pharmacologie

Docteur Tahirou BA	H.G.T.
Docteur Amadou MARIKO	H.G.T.
Docteur Baidi KEITA	H.G.T.
Docteur Antoine NIANTAO	H.G.T.
Docteur Kassim SANOGO	H.G.T.
Docteur Yéya I.MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompere KONE	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy DICKO	P.M.I.SOGONINKO
Docteur Mohamed TRAORE	KATI
Docteur Reznikoff	IOTA
Docteur N'DIAYE F. N'DIAYE	IOTA
Docteur Hamidou B.SACKO	HGT
Docteur Hubert BALIQUE	C.T. MSSPA
Docteur Sidi Yéhiya TOURE	HGT
Docteur Youssouf SOW	HGT

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr F.S.DANO	HYDROLOGIE
Pr M.L.SOW	MED.LEGALE
Pr S.S.GASSAMA	BIOPHYSIQUE
Pr D. BA	BROMATOLOGIE
Pr M.BADIANE	PHARMACIE CHIMIQUE
Pr B.FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Dr G.FARNARIER	PHYSIOLOGIE

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

- mes grand-parents :
.Bakary SANOGO à Konobougou et ses quatre épouses : Djénèba MANGANE, Oumou SACKO, Dia TRAORE et Feue Rokia DEMBELE.

.Feu Sinaly TOURE et Feue Alima TOURE que vos âmes reposent en paix. Vous m'avez défendu partout, vous avez merveilleusement joué votre rôle d'allié que la société africaine vous demande. Cette relation grand-parents petit-fils fait de la société malienne une société de rêve.
- mon père Mahamoudou SANOGO dit Karamoko, commerçant à Konobougou. Ta technicité, ton attitude de demander la permission pour avoir ton due, ne peut que forcer l'admiration de ton entourage. Tu as été un exemple merveilleux pour moi, trouves ici l'expression de ma gratitude.
- ma mère Kadia TOURE et sa soeur Néné ANNE. Vous avez mis mes intérêts avant les vôtres. Vos conseils resteront les règles d'or dans ma mémoire.
- tous mes oncles, particulièrement : Bassékou SANOGO, Mama SANOGO et Bourama TOURE, vous m'avez guidé durant toutes mes études. Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude et de ma contante disponibilité pour vous.
- toutes mes tantes notamment : Téné Founé SANOGO, Mariam TOURE et Kadidia SANOGO. Vous m'avez soutenu dans cette vie dure de Baroueli. Soyez en remercié.
- monsieur Mamadou SYLLA soudeur à Fana. Grâce à vous je peux aujourd'hui écrire et lire, parce que vous m'avez inscrit à l'école. Sois en remercié. L'amitié que tu as de tout temps entretenu avec mon père, que le Bon Dieu la pérennise.
- mes amis à travers vous, vos familles. Tous mes amis de N'Golonina, votre tendresse ; votre enthousiasme de vous sacrifiez pour moi resteront inoubliables. Recevez ici ma gratitude.
- mes amis d'enfance, les lettres J.P.K (Jeunes Princes de Konobougou) resteront l'image de la solidarité et de consolation pour moi. Dans ce beau monde citons : Mamadou KONANDJI, tu m'as toujours compris et soutenu durant des moments très critique de la vie. Salif DIARRA, Baba TRAORE, Djénéba ANNE, Bakary ANNE. Veuillez accepter ma reconnaissance.
- mes amis d'école notamment Ayouba Aly DIALLO, Ibrahim TEKETE, Dramane DEMBELE, Fatoumata TOURE, Abdou DOUMBIA et ses copains de classe. Vous m'avez accepté avec alegresse et sincérité. Soyez en recompensé par le Tout Puissant.

- Youma BOUKENEN ; Fatoumata SANOGO ;Alou kassogué Souleymane COULIBALY Aboudranane Soumaoro. Vous avez été un grand apport pour moi au Lycée.
- toute la classe de 6^{ème} Année Pharmacie et singulièrement à Feu Mamadou Bilalay KONE. Tu fus arraché à notre affection, à un moment où tu t'appretais à défendre excellentement ta thèse, j'en suis sûr. Ta quête de connaissance, ton courage font de toi un homme mémorable, c'est pourquoi tes collègues de classe ont librement choisi d'appeler notre promotion : la promotion Bilaly KONE, paix à son âme.
- la mémoire de Almoustapha SANOGO et Hahmadou SANOGO pour tout ce que vous avez fait pour moi.
- mes frères et soeurs : Abdoulaye SANOGO, Mamadou CISSOUMA, Samba SANOGO et Rokia SANOGO, etc...
- mes encadreurs pour vos services rendus
- la famille Sylla à Baroueli pour m'avoir accueilli à bras ouvert pendant mes études à Baroueli-
- la famille Sacko à bozola
- la famille dirra à Sangarebougou
Soyez récompensé de votre enthousiasme à m'aider.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont :

- Au corps professoral de l'Ecole Nationale de Medecine et de Pharmacie (ENMP) du Mali, pour la qualité des cours dispensés

- A tout le personnel de l'INRSP, notamment le personnel du service de bactériologie :

- . Dr. Flabou Bougoudogo
- . Mr. Mamadou Diakité
- . Mr. Tiewary Doumbia
- . Mme. Coulibaly Albertine
- . Mr. Tidiane Traoré
- . Mr. Amadou Yossi

Votre disponibilité, votre enthousiasme ne m'ont jamais fait défaut, veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude.

- A tout le personnel du Dispensaire Antituberculeux et précisément Dr. Diallo Madou, Dr Diallo Alima Naco, Seydou Coulibaly, Oumar Oueleguem, Mr Abdrahmàn Dolo... Pour votre chaleur humaine.

- A tout le personnel du service de Pneumo-phtisiologie de l'Hopital du Point "G".

- A tout le personnel de l'Officine du T.S.F notamment Dr. Sekou Dolo et sa charmante épouse ; Bénait Oueya Dembele, Boubacar Koné et Boubacar Keita ; pour vos conseils, vos sacrifices consentis et votre aide matériel et morale à mon endroit.

- A tout le personnel de la Cellule Combustibles Ligneux (CCL) de la Stratégie Energie Domestique pour votre accueil et votre esprit de compréhension

- A Mr. Mamadou Cissouma, Pastoraliste à la Cellule Combustibles Ligneux pour votre aide morale et matérielle jamais je n'oublierai les sacrifices que tu as consenti pour moi. Cher grand frère tu m'as toujours compris, accepté et assisté dans toutes les épreuves. Veuillez recevoir ma très haute reconnaissance.

- A Mlle Safiatou Sidibé Secrétaire de Direction à la Cellule Combustibles Ligneux et Mr. Mahamadou Keita informaticien à la dite Cellule pour votre disponibilité et votre enthousiasme. Dans l'exécution de cette tâche fastidieuse, votre contribution n'a jamais fait défaut soyez en récompensé par le tout puissant.

- A tous les sympatisants de l'ARAKO (Association des Ressortissants de Konobougou Résident à Bamako) et précisément le Bureau et son Président Hamidou Traoré pour leur aide morale et matériel, qui ne m'a jamais fait défaut.

- A tous mes frères et soeurs pour votre compréhension

- A tous mes amis et alliés qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude

- A tous mes camarades d'enfance et de classe du primaire, secondaire et supérieur, pour le témoignage de mon amour.

- **A notre Président de Jury : Monsieur le Professeur Sangaré Souleymane :**

- . Professeur agrégé en Pneumo-phtisiologie,
- . Consultant de la Tuberculose à l'OMS au Mali,
- . Professeur à l'ENMP du mali.

Vous nous faites un grand honneur et un grand plaisir en acceptant de présider cette thèse. Nous avons eu l'occasion d'apprécier vos hautes qualités humaines et professionnelles. Veuillez trouver ici, l'expression de notre sincère admiration et de notre profond respect.

- **A notre Maître et membre du jury, Professeur Bah Keita :**

- . Professeur agrégé en Pneumo-phtisiologie à l'Hôpital National du Point "G"
- . Professeur à l'ENMP du Mali

Nous avons été très honoré de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de faire partie de notre jury.

Nous avons pu apprécier à mainte occasion vos hautes qualités humaines et professionnelles. Nous vous remercions pour l'aide précieuse que vous nous avez accordée au cours de nos travaux. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

- **A notre Maître et juge, Monsieur le Docteur Flabou Bougoudogo :**

- . C.E.S en microbiologie,
- . Chef du Département de la formation de l'INRSP,
- . Maître Assistant à l'ENMP.

Nous avons pu apprécier l'étendue de votre savoir, vos qualités humaines et professionnelles et votre disponibilité pendant tout le temps que nous avons passé au service de bactériologie. Malgré vos multiples occupations, vous nous faites l'honneur de faire partie de notre jury. Permettez-nous de vous en remercier et de vous témoigner notre gratitude.

- **A notre Directeur de thèse, Monsieur le Professeur Bréhima Koumaré :**

- . Chef de service de bactériologie à l'INRSP,
- . Professeur agrégé à l'ENMP du Mali,
- . Président de la SOAMI (Société Africaine de Microbiologie).

Vous nous avez fait l'honneur de nous accepter dans votre service de bactériologie. Nous y avons bénéficiés d'une grande sollicitude et avons été entouré d'Hommes compétents consciencieux et disponibles. Dans ce milieu de recherche hautement scientifique nous avons apprécié votre rigueur dans la recherche scientifique, votre dévouement dans le travail, vos qualités exceptionnelles de formateur, et l'étendue de vos connaissances. Permettez-nous de vous renouveler l'expression de notre vive reconnaissance et celle de notre profond respect.

ABREVIATION

A.F.S : Autres Formations Sanitaires

BAAR: Bacille acido-alcoolo-résistant

BCG : Bacille de Calmette et Guerin

Cdm : Coefficient de dépassement moyen

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

Pze : Pyrazinamide

FQ : Fluoroquinolone

Cs : Cyclosérine

DAT : Dispensaire antituberculeux

HPG : Hôpital du point "G"

H= INH: Isoniazide

LCR : Liquide Cephalo-rachidien

PAS : Acide para amino-salicylique

R=Rif : Rifampicine

T=Tb₁ : Thioacetazone

SM=S : Streptomycine

I₃ : Indice d'inactivation

INRSP: Institut National de Recherche en Santé Publique

BK : Bacille de Koch

SOMMAIRE

	Page
GENERALITES	
I. INTRODUCTION.....	3
II. HISTORIQUE.....	7
1. Etape obscure	7
2. Etape bactériologique	8
3. Etape Vaccinale	9
4. Etape thérapeutique	9
III. RAPPEL SUR LE BACILLE TUBERCULEUX.....	11
1. Définition	11
2. Rappel bactériologique	11
3. Mode de transmission	11
4. Nomenclature et classification des mycobactéries	12
5. Caractères différentiels des Mycobactéries	16
6. Particularités de la mycobactériologie	20
IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES INFECTIONS A MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES.....	23
1. Prélèvement	23
2. Transport et conservation	26
3. Examen microscopique	28
4. Isolement des mycobactéries	35
5. Identification	43
6. Tests de sensibilités aux antibiotiques	47
V. LES DIFFERENTES DROGUES ET SCHEMAS THERAPEUTIQUES DE LA TUBERCULOSE.....	50
1. Bases bactériologiques du traitement	50
2. Conduite du traitement antibiotique	52
3. Résistance du bacille tuberculeux et ses conséquences	53

4.	Les différentes drogues antituberculeuses	56
5.	Les schémas thérapeutiques au Mali	72
<u>PARTIE PRATIQUE</u>		
VI.	SUJETS ETUDIÉS - MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	79
1	Sujets étudiés	79
2	Matériels	79
3	Méthodes	81
3.1.	Prélèvement des produits pathologiques	81
3.2.	Transport et conservation des produits	81
3.3.	Examen microscopique	82
3.4.	Isolement de mycobactéries	84
3.5.	Identifications	86
3.6.	Tests de sensibilités aux antibiotiques	86
	RESULTATS - DISCUSSION - CONCLUSION.....	92
VII.	RESULTATS	93
1.	Produits pathologiques étudiés	93
2.	Résultats de la bacilloscopie	98
3.	Culture	99
4.	Identification	101
5.	Sensibilités	102
VIII	DISCUSSION.....	112
1.	Examen direct	113
2.	Culture	113
3.	Identification	114
4.	Antibiogrammes	115
XI.	CONCLUSION	122
	BIBLIOGRAPHIE	124

G E N E R A L I T E S

I. INTRODUCTION

Définition

La tuberculose est définie dans le Dictionnaire LAROUSSE comme étant : une maladie infectieuse due à différentes espèces du genre Mycobacterium, caractérisée par la formation de tubercules dans les organes variés (poumons, vertèbres, reins, peau, méninges, intestin, etc...). La tuberculose pulmonaire, provoquée principalement par Mycobacterium tuberculosis, est la plus fréquente (25).

La tuberculose demeure un problème de santé publique dans les pays en voie de développement dont le nôtre ; et est revenue à l'actualité dans les pays développés avec l'apparition de la pandémie du SIDA.

La tuberculose est une maladie à évolution lente, sévère, qui fait partie des maladies à déclaration obligatoire au Mali. La Loi N°6825/DL-RM du 30/06/1968, fait de la tuberculose une maladie sociale et rend gratuits son dépistage et son traitement qui sont intégrés dans les activités de toutes les formations sanitaires fixes du pays. La gravité de cette maladie, la longueur de son traitement, les préjudices familial, professionnel et économique qu'elle implique tant pour l'individu que pour la collectivité, justifient largement l'importance de la lutte antituberculeuse.

L'infection tuberculeuse constitue encore un problème de santé publique.

Les indicateurs épidémiologiques de la tuberculose demeurent alarmants. La tuberculose est considérée comme la première cause de mort des Séropositifs (VIH) avec 40 % des décès.

La tuberculose qui était en voie de disparition dans les pays développés, constitue actuellement un sérieux problème avec l'apparition du SIDA.

Ajouté à cela l'incidence toujours élevée dans les pays en voie de développement :

- 95 % des cas de tuberculose éclosent dans les pays du Tiers Monde, surtout au sein de la population de la région de l'Afrique (48).
- 80 % des cas de tuberculose colligés sont âgés de 15 - 49 ans. Donc une menace pour la population productive.
- l'incidence est estimée en 1992 à 1,18 Millions de cas soit un taux de 214 cas pour 100 000 habitants, avec un taux de mortalité très élevé de 39,6 %.
- le nombre de décès est estimé à 85 pour 100 000 habitants.

Ces données témoignent de la gravité du problème de la tuberculose en Afrique au Sud du Sahara.

Au Mali, on estime à 180 pour 100 000 habitants, l'incidence annuelle des nouveaux cas

bacillifères (100).

Malheureusement, tous ces cas ne sont pas dépistés et mis en traitement, car selon les rapports d'activités de la section de la tuberculose et des immunisations, on note que :

- en 1988, sur un total de 6 034 malades pris en charge (malades dépistés, malades en traitement au 31/12/1987 et anciens malades rechutes dans l'année) dont 2 578 (42,72 %) dépistés par la bacilloscopie, on a enregistré 1 582 (25,72 %) guérisons et 286 (04,74 %) décès.
- en 1989, sur un total de 5 632 malades pris en charge dont 2 870 (50,95 %) dépistés, on note 1 429 (25,37 %) guérisons et 291 (05,16 %) décès.
- en 1990, sur un total de 5 964 malades pris en charge dont 2 933 (49,17 %) dépistés, on a enregistré 1 184 (19,85 %) guérisons et 278 (04,66 %) décès.
- en 1992, le nombre total de malades pris en charge est 6.614 cas dont 3.113 (47,06 %) dépistés par la bacilloscopie, on a enregistré 1.204 (18,20 %) guérisons et 316 (04,77 %) décès.
- en 1993, sur un total de 7.832 malades pris en charge dont 3.204 (40,90 %) dépistés, on a 1.539 (19,65 %) guéris et 309 (03,94 %) décès. (77)
- en 1994, sur un total de 3.136 malades pris en charge, on avait 1.741 nouveaux malades à bacilloscopie positive, 868 à crachats négatifs et 401 extra-pulmonaires. Ces chiffres de 1994 sont en dessous du nombre effectif des malades dépistés mis en traitement car certains centres n'ont pas commencé l'utilisation de nouveaux supports et souvent certains centres n'envoient pas les rapports complets des quatre trimestres de l'année. (78)

Notons que chaque année, aux nouveaux tuberculeux s'ajouteront les malades non dépistés, les malades non guéris pour résistance aux antituberculeux, les malades irréguliers au traitement et les malades perdus de vue des années précédentes d'ou une augmentation du nombre de patients d'année en année (41). Ce problème global ira en s'amplifiant avec la survenue de la pandémie de SIDA.

Selon les statistiques de 1989 (27) de la division de l'Epidémiologie du Ministère de la Santé de la Solidarité et des Personnes Agées, la tuberculose pulmonaire a été classée en 5^{ème} position parmi les grandes endémies après le paludisme, la rougeole, la bilharziose et l'hépatite virale comme cause de morbidité.

Pour combattre ce fléau, le Mali a mis sur pied un programme national de lutte contre la tuberculose (P.N.L.T.) dont les objectifs sont les suivants :

Objectif Général : réduire l'endémie tuberculeuse en réduisant la transmission du bacille tuberculeux au sein de la population.

Objectifs Spécifiques : d'ici l'an 2000

- * dépister 70 % des cas de tuberculoses existantes,
- * traiter et guérir 80 % des cas dépistés,
- * réduire à moins de 10 % le taux des défailants au traitement,
- * protéger tous les enfants dès la naissance par la vaccination B.C.G.,
- * diminuer l'impact de l'infection à VIH sur l'incidence de la tuberculose à microscopie positive.

Pour atteindre ces objectifs, le P.N.L.T utilise comme stratégies: la prophylaxie, le dépistage le traitement et la formation du personnel.

PROPHYLAXIE : Elle consiste à vacciner dès la naissance les enfants par le B.C.G. (Bacille de Calmette et Guérin). En 1986, la vaccination par le BCG a été intégrée au Programme Elargi de Vaccination (P.E.V.) ayant pour population cible les enfants de 0 à 6 ans et les femmes en âge de procréer.

DEPISTAGE : La mise en évidence du bacille tuberculeux dans les produits pathologiques (crachats habituellement). Le dépistage des cas est un élément essentiel de la lutte contre la tuberculose. Son objectif est d'identifier les sources de contamination dans une collectivité : dans le cas de la tuberculose ceux qui excrètent les bacilles tuberculeux (99).

TRAITEMENT : Il est basé sur la chimiothérapie.

Après le dépistage, il faut procéder à la chimiothérapie pour interrompre la transmission. En effet, le dépistage en soi n'a que peu d'intérêt s'il n'est pas suivi par la chimiothérapie. C'est la raison pour laquelle ces deux activités doivent être considérées comme une seule entité fonctionnelle (111).

Le traitement consiste en l'utilisation d'un des schémas thérapeutiques établis au niveau national, il s'agit :

- du régime court de traitement de huit (8) mois, utilisé chez les nouveaux malades qui n'ont jamais reçu de traitement antituberculeux (2HRSZ/6TH) ;
- du régime standard de douze (12) mois, utilisé chez les nouveaux malades. Actuellement on a tendance à l'utiliser seulement dans les cas de tuberculose extra-pulmonaire (2HTS/10TH) ;
- un régime de retraitement de huit (8) mois utilisé uniquement chez les malades qui ont déjà fait un traitement antituberculeux de régime court ou standard (2RHZSE/1RHZE/5R₃H₃E₃).

L'utilisation des schémas thérapeutiques préétablis au niveau national chez tous les tuberculeux impose un contrôle de l'évolution de la sensibilité des germes aux schémas

thérapeutiques en question. C'est dans ce cadre que nous nous sommes proposés d'étudier la résistance primaire et secondaire des bacilles hébergés par les malades tuberculeux de Bamako.

Pour faire cette étude, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- ☉ Identifier la nature des espèces en cause ;
- ☉ Evaluer la nature et le niveau de la résistance simple et de la polyrésistance des souches isolées chez les malades ;
- ☉ Evaluer la résistance primaire et surtout la résistance secondaire en fonction du schéma thérapeutique ;
- ☉ Enfin faire quelques recommandations.

Pour la présentation de ce travail, nous avons adopté le plan suivant :

- ◆ Historique,
- ◆ Rappel sur les bacilles tuberculeux,
- ◆ Diagnostic des infections à mycobactérie
- ◆ Différentes drogues et schémas thérapeutiques,
- ◆ Sujets étudiés - Matériels et méthodes,
- ◆ Résultats,
- ◆ Discussion,
- ◆ Conclusion.

II. HISTORIQUE

La tuberculose est une maladie très ancienne. Elle est restée longtemps confondue avec les autres affections de la poitrine. Des momies égyptiennes, notamment celle de TOUTAKHAMON seraient sans doute porteuses de séquelles de tuberculose. Généralement cette histoire peut être divisée en quatre grandes étapes (9).

1. ETAPE OBSCURE

La tuberculose est longtemps restée une pathologie méconnue des hommes, malgré les multiples tentatives de démystification auxquelles se sont livrés les chercheurs des temps anciens.

Mais grâce au courage inlassable de différentes générations de chercheurs, pendant plusieurs décennies, on est parvenu à découvrir la quasi totalité des paramètres de cette maladie invalidante, tant sur le plan clinique, épidémiologique, physiologique, bactériologique, thérapeutique, qu'immunologique.

En effet, Hippocrate accorde une place importante aux phtisies lorsqu'il mentionne les infections broncho-pulmonaires, et pleurales, comme d'ailleurs Galien Coelius ANRELIUS a quant à lui tenté de décrire les différents aspects cliniques.

Il n'y a pas eu d'autre grand changement, jusqu'à l'époque de la renaissance au 19^e siècle en Europe lorsque Cirolumo Fracastor de Vérone a entièrement rénové la notion traditionnelle de phtisie en plaçant la maladie dans le même cadre que les autres maladies infectieuses, tout en incriminant les micro-organismes dans la pathogénicité et la transmission interhumaine de la maladie (13).

Le 19^e siècle est l'ère des grandes découvertes en matière de tuberculose.

En effet, malgré l'immaturation des connaissances scientifiques de l'ère et la déficience des infrastructures sanitaires, Gaspard Laurent Rayle fait une publication : "Recherche sur la phtisie pulmonaire" dans laquelle il décrit la granulation miliaire et plusieurs aspects anatomiques de la phtisie tuberculeuse.

Les travaux mémorables de Théophile René Marie Hyacinthe Laennec ["de l'auscultation médiate"]. Par la mise au point patiente d'un procédé nouveau et adéquat, l'auscultation et par la confrontation méthodique des données qu'elle fournit avec les constatations macroscopiques faites au cours des autopsies, il a pu échafauder non seulement la phtisiologie, mais l'essentiel de la pneumologie moderne, sur des bases anatomocliniques irremplaçables. Il a pu affirmer l'unicité du processus tuberculeux à travers des atteintes forts dissemblables et en absence de toute possibilité de contrôles histologiques ou bactériologiques.

En 1825, Louis confirma ces travaux dans les "Recherches anatomocliniques sur les phtisies".

En 1865, Villemin soupçonne le caractère microbien de la tuberculose. Il démontre le caractère infectieux de la maladie tuberculeuse par inoculation (sous-cutanée) au lapin et au cobaye des broyats de lésions humaines.

La maladie ainsi provoquée est transmissible d'un animal à un autre et est identique à la phtisie humaine. Il conclut que << La tuberculose est une maladie spécifique. La cause réside dans un agent inoculable >>.

En 1882, Robert KOCH franchit l'étape bactériologique avec la découverte du bacille tuberculeux, qui porte son nom "Bacille de Koch" ou "B.K".

En 1885, Roetgen découvre les rayons X permettant le diagnostic radiologique de la tuberculose.

2. ETAPE BACTERIOLOGIQUE

En 1882, Robert Koch découvre le bacille tuberculeux humain : Mycobacterium tuberculosis, et réussit sa culture sur sérum de boeuf coagulé en 1884. Il mit au point la tuberculine.

A la même période Ehrlich signale la propriété fondamentale des mycobactéries : l'acido-alcoolo-résistance.

En 1885, Ziehl et Neelsen mirent au point une méthode de coloration spécifique aux mycobactéries, basée sur leur acido-alcoolo-résistance. Cette méthode de coloration est aujourd'hui utilisée dans les laboratoires d'analyses médicales pour le diagnostic biologique de la tuberculose.

En 1887, Nocard et Roux stimulent la croissance du bacille par l'addition de glycérine (4).

A partir de 1895 de nombreuses mycobactéries furent découvertes. Il s'agit de : Mycobacterium leprae ou bacille de Hansen : non cultivable sur milieu artificiel et responsable de la lèpre humaine.

Mycobacterium bovis : Agent de la tuberculose des bovidés. Mais il peut aussi affecter l'homme dans certains cas.

- Certaines mycobactéries atypiques qui, accidentellement peuvent affecter l'homme, notamment dans certaines parties de l'Europe, d'Afrique et d'Amérique;
- Des mycobactéries exclusivement pathogènes pour les animaux (oiseaux, muridés, etc...);
- Des mycobactéries saprophytes, inoffensives pour l'homme sain, mais pouvant affecter certains groupes d'hommes tels que les immuno-déprimés (sidéens, malnutris, etc...).

En 1891, Koch décrit le phénomène immunologique qui porte son nom. En 1907 Von Pirquet décrit les réactions cutanées tuberculiques.

C'est en 1920 que LOEWENSTEIN et JENSEN mettent au point un milieu de culture synthétique répondant parfaitement aux besoins métaboliques des mycobactéries exception faite de Mycobacterium leprae qui reste incultivable sur milieu artificiel.

3. ETAPE VACCINALE

CALMETTE et GUERIN inventent le B.C.G. au début de ce siècle. Il s'agit du bacille tuberculeux bovin atténué. Il a été obtenu en 13 ans après 230 repiquages successifs sur pomme de terre glycinée et billée. Ce traitement a fait perdre à la souche de bacille sa virulence tout en conservant son pouvoir immunogène, c'est à dire son pouvoir protecteur.

En 1921, ils ont réalisé avec succès la première vaccination au BCG chez l'homme.

4. ETAPE THERAPEUTIQUE

♣ Découverte en 1940, de l'effet bactériostatique des sulfamides chez le cobaye infecté par le bacille tuberculeux. Pour la première fois, la démonstration était faite qu'un agent chimiothérapique, dérivé de la dapsonne, connu sous le nom de Promine (Diaphénylsulfone) pouvant arrêter l'évolution de la tuberculose (8).
Le dapsonne est toujours le médicament antilepreux de base (112).

♣ Démonstration en 1944 de la remarquable efficacité de la streptomycine, antibiotique récemment isolé par Waksman d'un micro-organisme du sol : Streptomyces griseus, sur la tuberculose expérimentale du cobaye. Peu après, elle a été pour la première fois utilisée chez l'homme (89 et 31).

♣ Découverte en 1949, du rôle de l'acide para-amino-salicylique (P.A.S.) qui prévient l'apparition de la résistance aux médicaments lorsqu'il est donné en association avec la streptomycine. Depuis lors, l'administration de deux produits ou plus en association est considérée comme un des éléments essentiels d'une bonne chimiothérapie antituberculeuse.

♣ Découverte en 1952, l'activité antituberculeuse de l'isoniazide, composé chimique synthétisé 40 ans auparavant. Depuis son introduction, l'INH est demeuré l'un des composants majeurs de tout régime thérapeutique de première ligne. En raison de sa haute efficacité, de sa toxicité relativement faible, et de son coût minime.

♣ Résultats étonnants en 1956 des essais thérapeutiques, contrôlés effectués à Madras, démontrant que le traitement ambulatoire à domicile, était très efficace, sans pour autant accroître le risque de contagion pour l'entourage. Ce qui donne un abandon du traitement sanatorial traditionnel qui peut être complètement supervisé.

♣ Démonstration en 1964, de l'efficacité des régimes intermittents. Offrant ainsi l'avantage du traitement qui peut être complètement supervisé.

- ♣ Introduction en 1972, des régimes de courte durée permettant de réduire de moitié la durée classique de traitement sans réduire l'efficacité thérapeutique.
- ♣ En 1982, la commission de traitement de l'Union Internationale Contre la Tuberculose a défini une liste de six (6) médicaments essentiels dans la tuberculose :
 - Isoniazide ou INH - Rimifon*
 - Rifampicine - Rifadine+ - Rimactan*,
 - Streptomycine,
 - Tb₁, ou Thioacetazone ou Thiosemicarbazone^(R)
 - Ethambutol : Myambutol*,
 - Pyrazinamide : Piraldine*,

III. RAPPEL SUR LE BACILLE TUBERCULEUX

1. Définition

Les mycobactéries sont des micro-organismes qui se présentent sous forme de bâtonnets droits ou légèrement incurvés, asporulées, sans conidies, aciliées, excepté Mycobactérium fortuitum qui porte souvent quelques branchements, les mycobactéries ne présentent pas de ramifications. Les bacilles tuberculeux sont immobiles, ne sont pas colorables par la méthode de Gram. Ils sont acido-alcool-résistants.

2. Rappel bactériologique

2.1 Habitat

Parasite strict de l'homme mais il est capable d'infecter certaines espèces animales proches de l'homme (chien et plus rarement chat, perroquet, etc...). Il n'existe pas dans la nature mais peut être virulent pendant plusieurs jours dans des expectorations.

2.2 Morphologie

Grâce à leur paroi les mycobactéries ne peuvent pas être colorées par la méthode de Gram. C'est pourquoi elles sont colorées par la méthode de Ziehl Neelsen. Après cette coloration, elles se présentent sous forme de petits bâtonnets rouges sur le fond bleu de la préparation, bâtonnets rectilignes ou un peu incurvés, à extrémité arrondies, de 1,4 à 5 μ de long et 0,2 à 0,3 μ de large.

2.3 Culture

Sur ce plan, M. Tuberculosis est très exigeant, il lui faut des milieux spécifiques :

- * Fécule de Pomme de terre : milieu préalablement utilisé,
- * Milieu de Dubos,
- * Milieu Loewenstein - Jensen.

3. Mode de transmission (108)

La tuberculose se transmet à d'autres personnes le plus souvent à partir d'un malade souffrant de tuberculose pulmonaire ; l'infection se fait par l'intermédiaire de gouttelettes infectées venant des poumons du malade. Ces gouttelettes sont produites lorsque le malade tousse, éternue ou parle souvent. Ces fines gouttelettes sèchent rapidement. Elles se fixent à de fines particules de poussière et les plus petites d'entre elles restent en suspension dans l'air pendant plusieurs heures. Seules les particules de moins de 10 micromètres de diamètre peuvent atteindre les alvéoles du poumon, tandis que les plus grosses se déposent dans les voies aériennes supérieures d'où elles sont emportées par le courant mucociliaire pour être habituellement dégluties.

D'autres modes de transmission du bacille tuberculeux, tels que le contact manuel avec des objets contaminés ou l'introduction artificielle du bacille dans ou sous la peau, sont très rares et sans importance épidémiologique (108).

En dehors de l'éventualité d'un contact étroit avec des cas, dont l'expectoration est à frottis positifs, une proportion relativement faible de sujets en contact développe la maladie.

La contamination s'effectue soit dans le milieu familial, soit en dehors, et certains groupes socio-professionnels (personnel socio-sanitaire, étudiants en médecine ou en pharmacie, etc...) sont particulièrement exposés.

L'infection n'entraîne une tuberculose active que chez 10 % environ des individus qui ont acquis une infection primaire.

4. Nomenclature et classification des mycobactéries

4.1 Nomenclature (70)

Les mycobactéries appartiennent à la famille des Mycobacteriaceae, à l'ordre des Actinomycétales, et à la classe des Schizomycètes. Cette famille renferme un seul genre : le genre Mycobacterium comportant de nombreuses espèces. L'espèce type est Mycobacterium tuberculosis : (Lehman et Newman, . Holotype M. tuberculosis souche H37RV déposé à l'AMERICAN type culture collection N° ATCC 27294).

4.2 Classification

Les mycobactéries constituent un groupe très complexe et varié. Il existe plusieurs classifications, mais en pratique on les classe en 2 groupes.

4.2.1 Les Mycobactéries non cultivables sur milieux artificiels

- Mycobacterium leprae : ou bacille de Hansen, Responsable de la lèpre humaine,
- Mycobactérium leprae murium : ou bacille de Stefansky, responsable de la lèpre du rat.

4.2.2 Les Mycobactéries cultivables sur milieux artificiels

Ce groupe est composé de mycobactéries tuberculeuses pathogènes pour l'homme et de mycobactéries atypiques ou opportunistes, occasionnellement pathogènes.

4.2.2.1 Les Mycobacteries tuberculeuses

Elles sont responsables de la tuberculose humaine. Relativement résistantes aux agents chimiques et physiques, elles se différencient des autres germes par leur exigence métabolique. Ce sont des mycobactéries à croissance lente.

- Mycobacterium tuberculosis : ou bacille tuberculeux, ou bacille de Koch (BK) responsable de la tuberculose pulmonaire dans 90 % des cas. Souche type : H₃₇RV ATCC27294. C'est le type classique du bacille tuberculeux découvert pour la première fois par Robert Koch en 1882.
- Mycobacterium africanum (70) : Décrit par Sarat en 1968 et étudié la même année par Castets et Coll (17). Ce type particulier de bacille tuberculeux a été isolé chez l'homme, en Afrique tropicale de l'Ouest et du Centre. Ce type de bacille tuberculeux est apparu au cours d'enquête systématique avec une fréquence particulièrement élevée, souvent supérieure à celle de M. tuberculosis.

Ainsi il a été isolé chez des malades atteints de tuberculose pulmonaire à :

- * Dakar (SENEGAL) dans 25 à 45 % des cas en 1968,
- * Yaoundé (CAMEROUN) dans 74 % des cas en 1973,
- * Accra (GHANA) dans 8 cas sur 10 en 1967,

Ces bacilles dits "Africains" présentent schématiquement des caractères intermédiaires entre Mycobacterium tuberculosis et Mycobacterium bovis. Ils poussent difficilement et très lentement (jusqu'à 90 jours à l'isolement) sur milieu de Loewenstein-Jensen donnant des colonies dysgoniques. Leur croissance est stimulée par l'addition de pyruvate de sodium au milieu de culture.

On distingue cependant différents types en fonction de caractères cultureux et biochimiques. Il existe une corrélation entre le type de bacille et le lieu géographique(70). Il existe des types intermédiaires et actuellement la position taxonomique de ces bacilles de types africain est en discussion.

- Mycobacterium bovis : ou bacille bovin, il est responsable des formes pulmonaires et extra-pulmonaires de la tuberculose chez les bovidés et surtout de la tuberculose digestive chez l'homme. Décrit par Karlson et Lessel en 1870, souche type ATCC 25291.

La tuberculose causée par Mycobactérium bovis est une anthroponose. A cet effet, l'isolement de Mycobacterium bovis chez des malades humains a une signification épidémiologique et de santé publique toute particulière. L'homme est infecté par Mycobacterium bovis au contact d'animaux infectés, surtout les bovidés, ou plus souvent par ingestion du lait contaminé.

Il faut ajouter à ces trois espèces :

- ♥ Le B.C.G (Bacille de Calmette et Guérin) (41)

C'est une souche avirulente d'origine bovine (souche atténuée de Mycobactérium bovis) entretenue d'abord à Alfort par Vallée sur pomme de terre glycéinée sans passage sur le cobaye puis confiée à Calmette et Guérin à Lille en 1901. Après 230 repiquages sur pomme

de terre biliée de 1908 à 1920, cette souche est devenue complètement avirulente. Cette découverte fut une étape décisive dans la prophylaxie de la tuberculose. Aujourd'hui, ce bacille est utilisé comme vaccin.

4.2.2.2 Les Mycobactéries atypiques

En se basant sur la vitesse de croissance et la production de pigment, Runyon a classé les mycobactéries habituellement isolées dans les laboratoires cliniques (Exception pour les Mycobactéries tuberculeuses) (70).

La majorité des mycobactéries auparavant appelées "atypiques" peuvent être aujourd'hui identifiées précisément ; celles qui ne peuvent être identifiées doivent être classées provisoirement dans un des groupes de Runyon.

- Les groupes de Runyon :

Groupe I : les Mycobactéries photochromogènes

Ce sont des mycobactéries à croissance lente et donnant des colonies dont la pigmentation n'apparaît qu'à la lumière. Elles peuvent être responsables d'affections profondes et ganglionnaires. **Exemple** : Mycobacterium kansasii responsable d'affections cutanées ; Exemple : Mycobacterium marium ; qui a une croissance intermédiaire (7 à 11 jours) et est responsable d'ulcérations cutanées dans les pays tempérés au cours des baignades.

Groupe II : Les Mycobactéries scotochromogènes

Ce sont des mycobactéries à croissance lente, donnant des colonies pigmentées à la lumière et à l'obscurité. La croissance a lieu à l'obscurité. Comme les photochromogènes, ils peuvent être responsables d'affections :

- profondes ou ganglionnaires. Exemple : Mycobacterium scrofulaceum
Mycobacterium flavescens
- cutanée : **Exemple** : Mycobacterium ulcerans responsable d'ulcérations cutanées profondes à tendance phagédénique dans les pays tropicaux.

Groupe III : Les Mycobactéries non chromogènes

Ce sont les mycobactéries à croissance lente, en général non pigmentées mais avec possibilité d'accumulation lente de pigment dans certaines cultures anciennes.

Exemple : Mycobactérium avium responsable de la tuberculose aviaire.

Mycobacterium intracellulaire : affections pulmonaires ou ganglionnaires et parfois osseuses.

M. xenopi : affections pulmonaires,

M. terrae : non pathogène (96).

Groupe IV : Ce sont des mycobactéries à croissance rapide (3 à 5 jours de culture)

Exemple : Mycobacterium fortuitum,

Mycobacterium chelonae,

sont très souvent responsables d'abcès post-traumatiques, ou même souvent au point d'injection de produits médicamenteux supposés stériles.

TABLEAU I : Classification sommaire des Mycobactéries

MYCOBACTERIES NON CULTIVABLES	<u>Mycobacterium leprae</u> : Bacille de Hansen responsable de la lèpre.
	<u>Mycobacterium leprae murium</u>
MYCOBACTERIES CULTIVABLES	Mycobactéries tuberculeuses, responsables des tuberculoses humaines et souvent animales
	Mycobactéries atypiques, responsables de maladies opportunistes chez l'homme et souvent de tuberculose chez d'autres espèces animales.

TABLEAU II : Classification des mycobactéries cultivables sur milieux de culture artificiels(15)

MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES	MYCOBACTERIES ATYPIQUES OU OPPORTUNISTES		
<u>Mycobacterium tuberculosis</u>	Pouvant être responsables d'affections viscérales ou ganglionnaires	Pouvant être responsables d'affections cutanées	Pratiquement jamais pathogènes
<u>Mycobacterium bovis</u>	- <u>M. kansasii</u> - <u>M. scrofulaceum</u> - <u>M. xenopi</u>	- <u>M. marinum</u> ou <u>balnei</u>	- <u>M. aquae</u>
<u>Mycobacterium africanum</u>	- <u>M. avium</u> - <u>M. batteyi</u> ou <u>intracellulare</u>	- <u>M. ulcerans</u>	- <u>M. terrae</u> ou <u>radish</u>
<u>B.C.G</u>	- <u>M. fortuitum</u> ou <u>minetti</u>	- <u>M. chelonæ</u>	

5. Caractères différentiels des Mycobactéries

Les mycobactéries constituent un groupe très complexe, ce qui pose le problème de leur identification. En effet, il est fondamental de considérer que le développement de colonies sur milieu de Loewenstein Jensen n'est pas systématiquement synonyme de B.K. Avant de conclure, il est nécessaire de procéder à un certain nombre de tests d'identification qui permettent de différencier une mycobactérie tuberculeuse d'une mycobactérie non tuberculeuse.

TABLEAU III : Principaux caractères d'identification (49)

	Croissance		Pigmentation		Niacine	Catalase		Nitrate-reductase	Tween 80		Uréase		β -glucosidase	Arylsulfatase 3 j.	Températures de croissance				Croissance sur :				
	< 5 j.	> 5 j.	Obs.	Lum.		22°C	68°C		5 j.	10 j.	3 h.	18 h.			30°C	37°C	42°C	52°C	Tb 1 (10 μ g)	T.C.H. (2 μ g)	Cyclo (30 μ g)	Gelose	Levulose
<i>M. tuberculosis</i>	○	▲	○	○	▲	▲	○	▲	◇	◇	◇	△	▲	○	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. bovis</i>	○	▲	○	○	○	▲	○	○	○	○	○	◇	○	○	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. bovis B.C.G.</i>	○	▲	○	○	○	▲	○	○	○	▲	▲	○	○	○	△	▲	○	▲	○	○	○		
<i>M. africanum</i>	○	▲	○	○	◇	▲	○	◇	◇	○	◇	◇	○	○	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. kansasii</i>	○	▲	○	▲	○	▲	▲	▲	▲	○	◇	◇	◇	◇	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. marinum</i>	▲	○	○	▲	◇	▲	△	○	▲	▲	△	▲	○	◇	▲	○	○	○	△	○	○		
<i>M. scrofulaceum</i>	○	▲	▲	▲	○	▲	▲	◇	○	○	◇	▲	○	○	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. gordonae</i>	○	▲	▲	▲	○	▲	▲	○	▲	▲	○	○	○	○	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. flavescens</i>	○	▲	▲	▲	○	▲	▲	▲	▲	○	○	○	○	○	△	▲	○	○	△	○	○		
<i>M. szulgai</i>	○	▲	△	▲	○	▲	▲	▲	○	△	◇	△	◇	◇	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. avium-intracellulare</i>	○	▲	○	○	○	▲	▲	○	○	○	○	○	○	○	△	▲	△	○	▲	○	○		
<i>M. xenopi</i>	○	▲	▲	▲	○	▲	▲	○	○	○	○	○	○	▲	△	▲	▲	△	▲	○	○		
<i>M. simiae</i>	○	▲	△	▲	△	▲	▲	○	○	○	△	▲	○	○	△	▲	○	○	▲	○	○		
<i>M. terrae</i>	○	▲	○	○	○	▲	▲	▲	▲	○	○	○	△	◇	△	▲	○	○	▲	○	○		
<i>M. non chromogenicum</i>	○	▲	○	○	○	▲	▲	○	▲	▲	○	○	△	◇	△	▲	○	○	▲	○	○		
<i>M. gastri</i>	○	▲	○	○	○	▲	○	◇	▲	▲	○	○	△	◇	△	▲	○	○	○	○	○		
<i>M. fortuitum</i>	▲	○	○	○	○	▲	▲	▲	◇	◇	○	△	△	▲	△	△	○	○	▲	▲	△		
<i>M. chelonae</i>	▲	○	○	○	○	▲	▲	○	◇	◇	○	△	○	▲	△	△	○	○	▲	▲	△		
Autres du groupe IV	▲	○	◇	◇	○	▲	▲	◇	◇	◇	◇	◇	○	○	△	△	◇	○	▲	▲	◇		

▲ : > 95 % des souches positives.

△ : > 75 % des souches positives.

◇ : 25 à 75 % des souches positives.

○ : < 25% des souches positives.

En plus de l'aspect des colonies sur le milieu de Loewenstein Jensen, les mycobactéries peuvent être différenciées par certains de leurs caractères biochimiques. En effet, l'analyse du Tableau III montre que toutes les Mycobactéries ont une activité catalasique à 22°C qui est thermosensible chez les mycobactéries tuberculeuses contrairement aux atypiques qui gardent leur activité à 68°C.

A quelques exceptions près, les mycobactéries atypiques résistent tous à la Tb₁ et au TCH contrairement aux mycobactéries tuberculeuses excepté Mycobacterium tuberculosis qui résiste au T.C.H.

L'identification repose sur plusieurs caractères cultureux et biochimiques.

DIFFERENCES ENTRE LES MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES

TABLEAU IV : Principaux caractères de discrimination entre les bacilles tuberculeux et le B.C.G (14).

MYCOBACTERIES	COLONIES	CATALASE		NITRATE REDUCTASE	NIACINE	RESISTANCE		
		22°	68°			TCH	PAS	CS
<u>M. tuberculosis</u>	eugoniques rugueuses	+	-	+	+	+	-	-
<u>M. africanum</u>	dysgoniques rugueuses	+	-	+/-	+/-	-	-	-
<u>M. bovis</u>	dysgoniques lisses	+	-	-	-	-	-	-
B.C.G.	eugoniques rugueuses	+	-	-	-	-	-	+

Le tableau IV montre les caractères différentiels des mycobactéries tuberculeuses.

- Mycobacterium tuberculosis : donne des colonies rugueuses sèches crème beige, eugoniques sur le milieu de Loewenstein Jensen, à croissance lente. Il produit une forte, quantité de niacine, a une nitrate réductase. Résistent au TCH, et sensible à la Cyclosérine et au Pyrazinamide.

En plus de ces caractères, Mycobacterium tuberculosis a des caractères communs à toutes les mycobactéries tuberculeuses tels que : la catalase thermosensible, la sensibilité au PAS.

- Mycobacterium bovis : croissance lente, donnant des colonies lisses, blanches, dysgoniques sur milieu Loewenstein Jensen ; niacine négative, nitrate réductase négative. Sensible au T.C.H et à la cyclosérine, résistant au Pyrazinamide.
- Mycobacterium africanum : croissance très lente sur Loewenstein Jensen, mais stimulée par adjonction de pyruvate de sodium au milieu. Il donne des colonies plates, dysgoniques et mates. On distingue trois (3) types. Les caractères différentiels entre les 3 types de Mycobacterium africanum et Mycobacterium bovis sont résumés dans le tableau V.

TABLEAU V : Caractères différentiels entre les trois types de *M. africanum* et *M. bovis*. (41 et 70)

Espèces	Niacine	Nitrate Virtanen	Croissance sur TCH	Culture sur Lebeck en profondeur	PZA	Stimulation Pyrivate	Glucosidase	croissance sur Tb ₁	
<i>M. bovis</i>	0	0	0	+	0	+	0	0	
M a f r i c a n u m	Type Dakar	0 à (+)	0	0	+	0	+	0	+
	Type Yaoundé	0	0	0	+	0	+	0	+
	Rwanda I	0 (+)/(-)	0	+	+	0	+	0	-
	Rwanda II	0 (+)/(-)	(+)	+	+	0	+	0	-

Le type Rwanda se divise en Rwanda I et II.

Légende : (+) : Production
 0 : Pas de production
 - : Indeterminé
 + : Croissance positive
 (-) : Pas de production

6. Les Particularités de la Mycobactériologie

Les Mycobactéries se différencient des autres bactéries par plusieurs caractères. Ces particularités sont différentes selon la spécialité.

Exemples :

Pour le Bactériologiste : Les mycobactéries se différencient par leurs exigences culturelles, et leurs caractères vis à vis des colorants. Alors que la majorité des bactéries sont colorées par la méthode de Gram, les mycobactéries sont colorées spécifiquement par la méthode de Ziehl Neelsen, ce-ci à cause de leur acido-alcoolo-résistance.

Culture : Les mycobactéries si elles sont cultivables, exigent des milieux spécifiques, voir le chapitre sur les milieux de culture. Une durée longue entraînant des contaminations, ce qui pose le problème d'études.

Structure de la paroi : La structure de la paroi est le support du caractère tinctorial des mycobactéries, bien que, la paroi de ces bactéries ait les caractéristiques générales de la paroi des bactéries à Gram positif.

Les mycobactéries en général et *Mycobacterium tuberculosis* en particulier, comme les bactéries à Gram positif, ont un épais peptidoglycane et pas de membrane externe. Mais elles ont à l'extérieur du peptidoglycane, une structure lipopolysaccharidique qui rappelle, en plus épais et en plus dense, celle qui existe chez les bactéries à Gram négatif. Cette structure, composée d'arabino-galactane et d'acides mycoliques, acides gras de poids moléculaire très élevé, forme une barrière particulièrement hydrophobe autour du corps microbien.

En l'absence de membrane externe et de porine, les acides mycoliques empêchent les colorants habituels des bactéries de pénétrer à l'intérieur des mycobactéries (38)

Fig.1 : Etude comparative de la Paroi de *M. tuberculosis* et *S. aureus*. (38)

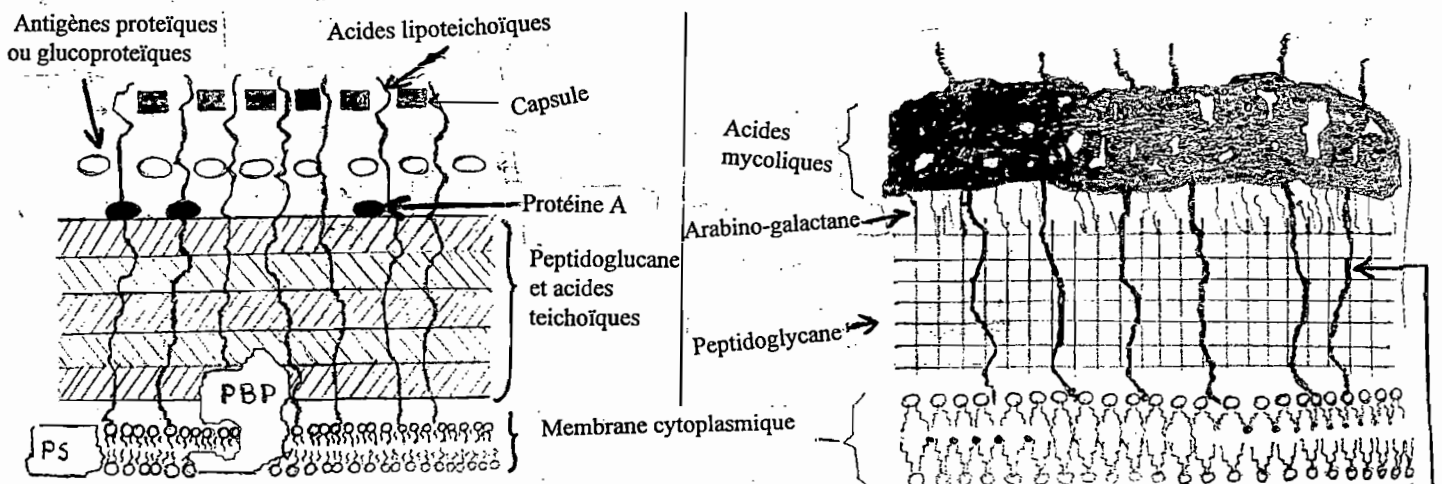


Schéma de la paroi de *staphylococcus aureus*

Représentation schématique de la paroi des mycobactéries

Lipoarabinomannane ou LAM-B

On conçoit facilement que la difficulté de passage à travers la paroi des mycobactéries n'est pas limitée aux colorants. Elle s'étend à de nombreuses autres molécules et notamment aux antibiotiques, ce qui explique la résistance naturelle des mycobactéries à la plupart des antibiotiques actifs sur les autres espèces bactériennes. Cette résistance naturelle qui constitue l'un des grands problèmes chez le clinicien est due à un défaut de passage à travers la paroi et pas à une insensibilité de la cible d'action. La découverte des antibiotiques comme la streptomycine, l'isoniazide, le pyrazinamide, la rifampicine etc... aurait permis de surmonter la résistance naturelle de Mycobacterium tuberculosis.

La durée du traitement est aussi un problème chez le clinicien. Cette longue durée semble être la conséquence de la multiplication lente du bacille. Le clinicien aura donc à faire à des maladies à évolution lente et sévère. Ces maladies seront plus graves dans les pays en voie de développement où les malades ne demandent l'aide médicale qu'en dernier recours. La diversité des mycobactérioses pose le problème de diagnostic.

La plus grande affinité pour les poumons semble être expliquée par deux phénomènes, les bacilles tuberculeux sont aérobies stricts, alors que les poumons sont les organes les plus aérés de l'organisme, secondairement intervient le mode de transmission qui est essentiellement aérienne.

Sur le plan immunologique

Les mycobactéries tuberculeuses et plus particulièrement le bacille tuberculeux induit chez l'homme infecté une allergie et une immunité spécifique dont le support expérimental décrit par Robert Koch en 1891 est connu sous le nom de phénomène de Koch.

♣ Phénomène de Koch (4)

- L'inoculation de bacille tuberculeux virulent, à un cobaye sain ne provoque aucune lésion apparente jusqu'au 10^e ou 14^e jour. Un nodule va apparaître par la suite au point d'inoculation, qui va s'ulcérer et l'ulcération va persister jusqu'à la mort de l'animal.

- L'inoculation faite chez un cobaye déjà tuberculeux a une évolution différente. Très rapidement en 24 à 48 heures, la peau rougit et se nécrose. La lésion inflammatoire et nécrotique atteint un maximum en 72 heures, puis s'élimine et guérit spontanément sans que l'évolution de la maladie sous-jacente soit affectée.

La réaction inflammatoire précoce avec nécrose est le fait de l'hypersensibilité. Mais la réaction d'hypersensibilité nécessite quand même 24 à 72 heures, pour se produire, il s'agit donc du type même de l'hypersensibilité retardée. On l'appelle allergie tuberculique ou hypersensibilité tuberculique.

Le caractère transitoire de la réaction prouve qu'il y a une immunité, celle-ci ne se manifeste qu'à l'égard des bacilles de réinoculation. L'immunité est dite de surinfection. Chez le cobaye, l'hypersensibilité s'installe d'autant plus vite et est d'autant plus forte que les bacilles inoculés sont plus virulents et en nombre élevé.

Freud a montré en 1937 qu'en injectant un mélange de substance protéique (inducteur d'une hypersensibilité de nature humorale (immédiate)) et d'une suspension de bacilles tuberculeux tués, enrobés dans une huile minérale (adjuvant de Freud) on provoque l'apparition d'hypersensibilité vers le type retardé (63).

Les travaux ont d'abord montré que ce sont les cires D qui sont responsables du caractère retardé de l'hypersensibilité. Aujourd'hui grâce aux travaux de Lederer et Chelid (1974), on sait que l'unité active du Peptidoglycane (contenu des cires D) est N. acétyl - muramyl - L. analyl - D - isoglutamine ou muramyl - dipeptide (M.D.P) (63) qui peut être synthétiser actuellement.

L'hypersensibilité tuberculique est donc une hypersensibilité de type retardée. On peut la transmettre d'un sujet hypersensibilisé à un autre, en lui injectant des macrophages et des lymphocytes, mais pas par l'injection de sérum.

Le test de la tuberculine : Pour rechercher l'hypersensibilité tuberculique chez l'homme la seule méthode recommandée par L'O.M.S est l'intradermo-réaction de Mantoux ; elle seule assure la pénétration dans le derme d'une quantité constante de tuberculine et permet une appréciation quantitative des résultats. Elle consiste à injecter 0,1 ml de tuberculine purifiée par voie intradermique et à mesurer 72 heures plus tard le diamètre de l'induration réactionnelle.

La vaccination : En effet le B.C.G est le vaccin le plus ancien et le plus contesté. Si ce vaccin ne protège pas totalement contre la maladie sur toutes ses formes, il permet d'éviter les formes les plus graves surtout chez les enfants à l'âge de scolarisation.

Le phénomène de Koch montre que l'immunité antituberculeuse est surtout une immunité de surinfection. Elle consiste en une activation des macrophages par les T. Lymphocytes sensibilisés spécifiquement aux antigènes du bacille tuberculeux.

Caractère de l'immunité antituberculeuse

Après inoculation tuberculeuse, l'immunité peut avoir lieu en même temps ou un peu plus tard que l'hypersensibilité. Mais elle persiste même après la disparition de celle-ci. Bien qu'exerçant principalement ses effets sur les bacilles de surinfection, elle s'exerce aussi sur les bacilles de la primo-infection et du caractère latent de la majorité des infections tuberculeuses spontanées (63). Cependant, c'est une immunité imparfaite. Tous les bacilles de réinfection ne sont pas détruits chez le cobaye.

Chez l'homme, l'immunité n'empêche pas l'apparition de la maladie tuberculeuse chez certains sujets infectés. Le bacille de Calmette et Guérin (BCG) est à l'heure actuelle le vaccin le plus immunisant et en même temps le moins pathogène dont on dispose pour créer l'état de surinfection (63).

IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES INFECTIONS

A MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES

L'examen biologique constitue aujourd'hui l'élément fondamental du diagnostic de la tuberculose.

1. Prélèvement (80)

La nature du prélèvement varie en fonction de l'état infectieux. Les résultats n'ont de valeur que si le prélèvement est correctement effectué.

1.1 Chez les malades pulmonaires:

1.1.1 Sujets qui crachent

1.1.1.1 Sujet hospitalisé

Le mode de prélèvement le plus simple consiste à recueillir les crachats dans un flacon stérilisable, ou plus simplement dans un crachoir en plastique que l'on détruira après usage.

Dans tous les cas, il faut s'assurer que le sujet comprenne ce que l'on entend par crachat, c'est-à-dire les mucosités bronchiques émises à l'occasion d'un effort de toux profond et vigoureux, et non de la salive ou les mucosités naso-pharyngées.

L'heure du prélèvement joue un rôle très important. D'une manière générale, les tuberculeux, comme la plupart des malades atteints d'affections pulmonaires, expectorent surtout le matin au réveil. C'est à ce moment de la journée qu'il est donc préférable de recueillir l'expectoration. Le plus simple est de confier au malade un récipient approprié le soir et le reprendre le lendemain matin.

1.1.1.2 Sujet non hospitalisé

Théoriquement, la conduite à tenir est la même que pour le malade hospitalisé ; en pratique, elle est différente. Le médecin a en effet le choix entre deux possibilités :

- * confier au malade un crachoir et récupérer le prélèvement le lendemain matin ;
- * ou faire cracher le malade au laboratoire.

1.1.1.2 Sujets qui ne crachent pas

Un certain nombre de malades ne crachent pas et l'on a tendance à ne pas leur demander de cracher. En fait, pour de multiples raisons (convenances, habitudes, ...) certains pourraient cracher, mais ne le veulent pas.

Avant de pratiquer un tubage gastrique, ou tout autre prélèvement, on s'assure que le sujet ne peut réellement pas émettre d'expectoration. Le cas des enfants est spécial : ceux-ci ne savent pas cracher. Deux procédés sont couramment employés :

- le tubage gastrique
- et l'expectoration provoquée.

Un troisième très répandu dans certains pays, peut également être employé avec profit : l'écouvillonnage laryngé.

Le choix du mode de prélèvement dépend, ici, encore de l'hospitalisation ou de la non hospitalisation du malade.

1.1.1.2.1 Sujets hospitalisés :

1.1.1.2.1.1 Tubage gastrique :

Il est le meilleur mode de prélèvement de l'expectoration chez les malades qui ne crachent pas, visant à recueillir les mucosités bronchiques dégluties pendant le sommeil, il doit être pratiqué le matin au réveil, avant que les contractions de l'estomac ne chassent le contenu.

Le tubage lui-même se fait à l'aide d'un tube semi-souple de fort diamètre (tube de Faucher), stérile, lubrifié à l'huile de vaseline stérile. On introduit le tube latéralement dans la cavité buccale, puis dans l'oesophage lors d'une déglutition. En faisant respirer profondément le malade, on pousse le tube dans l'oesophage puis dans l'estomac, entre les efforts de régurgitation. Grâce au petit entonnoir dont est muni l'extrémité libre du tube, on introduit alors 100 à 200 ml d'eau distillée stérile tiède dans l'estomac. Après quelques instants, on abaisse l'extrémité du tube ce qui permet par siphonnage de recueillir les mucosités présentes dans l'estomac avec le liquide introduit. Le produit du tubage, ou mieux du lavage gastrique est recueilli dans un récipient stérile.

Le matériel utilisé doit être ensuite rigoureusement stérilisé, puis nettoyé de façon à éliminer tout résidu bacillaire qui pourrait fausser les résultats des tubages ultérieurs. Pour éviter cette cause d'erreur, la tendance actuelle, excellente est d'employer non plus les tubes en caoutchouc, mais des tubes en plastique dont on ne se sert qu'une seule fois.

Le classique tubage gastrique est parfois remplacé par une aspiration gastrique. Celle-ci est réalisée au moyen d'un tube en caoutchouc de petit diamètre, donc mieux tolérée par le malade, le contenu de l'estomac étant aspiré à la seringue. Ce procédé plus commode, est cependant moins satisfaisant que le tubage gastrique, car il n'assure pas aussi totalement le prélèvement du contenu gastrique.

1.1.1.2.1.2 Expectoration provoquée - lavage bronchique

Pour améliorer ou pour remplacer le tubage gastrique de nombreuses techniques ont été proposées ; les plus connues et les plus répandues qui tendent à faire cracher artificiellement le malade, sont l'expectoration provoquée (par un aérosol de sérum physiologique additionné d'un produit expectorant) et le lavage bronchique (après anesthésie laryngée et bronchique avec du sérum physiologique additionné ou non d'un produit expectorant). On peut rapprocher de ces deux techniques, l'aspiration bronchique réalisée au cours d'une bronchoscopie par un spécialiste.

1.1.1.2.1.3 Écouvillonnage laryngé

Le but de l'écouvillonnage laryngé est de recueillir les mucosités d'origine bronchique présentes dans le larynx. Mais l'écouvillonnage laryngé ne ramenant qu'une faible quantité de matière ne peut être utilisé avec des chances raisonnables de succès que pour la recherche du bacille tuberculeux en culture et non au microscope. De même, il ne peut être un examen isolé, mais doit être fait en séries.

L'écouvillon est un fil métallique semi-rigide, long de 180 mm sur lequel est solidement fixé un tampon de coton cardé. Les écouvillons sont conservés dans des tubes de 13 x 180 mm, bouchés au coton, stérilisés 30 mn au stérilisateur à 180°C.

1.1.1.2.2 Sujet non hospitalisé

Chez le sujet non hospitalisé qui ne crache pas, la recherche du bacille tuberculeux est difficile.

- le tubage gastrique n'a de valeur que s'il est effectué au lit du malade. Si le malade doit se déplacer, le contenu de l'estomac sera évacué. Dans ce cas, les modes de prélèvements conseillés sont l'expectoration provoquée et l'écouvillonnage laryngé.

Cependant, lorsque la recherche du bacille de Koch représente un élément de diagnostic capital, il est vivement recommandé de faire hospitaliser le sujet pendant quelques jours afin d'effectuer les différents examens (tubage gastrique en particulier) dans les meilleures conditions.

1.1.3 Prélèvement de produits autres que le crachat

La majorité des produits pathologiques autres que le crachat est paucibacillaire. La mise en évidence du bacille tuberculeux à l'examen direct sera donc aléatoire, et la culture par conséquent est très souvent nécessaire. Pour que celle-ci soit effectuée avec les meilleures chances de succès, la conduite à tenir est différente selon qu'il s'agisse de produits contaminés ou de produits non contaminés.

Pour les produits contaminés (urines, pus d'abcès fistulisés, etc.) la culture ne sera possible qu'après décontamination : le prélèvement n'a donc pas besoin d'être fait stérilement ni d'être placé dans un récipient stérile tout comme les crachats, il suffit de disposer d'un

réceptient simplement propre. En ce qui concerne les urines, il est préférable de faire porter l'examen sur les premières urines émises le matin, et non sur les urines de 24 heures, beaucoup plus contaminées. La répétition des examens trois jours de suite est particulièrement recommandée.

A l'inverse, pour les produits pathologiques qui proviennent des lésions fermées non contaminés (liquide pleural, péritonéal clair, épanchement articulaire, liquide céphalo-rachidien, etc...), le prélèvement fait d'une manière rigoureusement aseptique, doit être placé aseptiquement dans un récipient stérile (tube à essai bouché au coton ou à vis, stérilisé au poupinel ou à l'autoclave). La culture pourra être effectuée directement, le produit pathologique étant ensemencé tel quel sur des milieux de culture, ou dilué au 2/5^{ème} avec de l'eau distillée stérile. On évitera ainsi l'étape de la décontamination, qui s'accompagne toujours d'une destruction importante des bacilles.

2. Transport et conservation des produits

La majorité de nos produits pathologiques était prélevée au Point G et au DAT. C'est au DAT que la bacilloscopie directe était généralement faite, avant de transporter les crachats à l'INRSP pour la culture et l'antibiogramme.

Avant d'aborder le problème de transport, il convient de rappeler quelques caractères du bacille tuberculeux ; notamment sa vitalité.

2.1 Vitalité du bacille tuberculeux

2.1.1 Chaleur

Les bacilles tuberculeux sont aussi sensibles à la chaleur que les autres bactéries non sporulées. Ils sont détruits par autoclavage à 120°C pendant 30 mn et par la chaleur sèche au four pasteur à 175°C pendant 30 mn ; un séjour prolongé à une température de plus de 40°C diminue considérablement sa vitalité.

2.1.2 Froid

Au réfrigérateur, à +4°C le bacille tuberculeux n'est pas affecté dans sa vitalité pendant cinq à huit jours. A -35°C, surtout à -76°C, il n'y a pas de diminution notable de la vitalité du bacille pendant plusieurs mois.

2.1.3 Dessiccation

Les bacilles tuberculeux sont assez résistants à la dessiccation ; à l'abri de la lumière solaire, ils peuvent survivre pendant plusieurs mois. L'association dessiccation refroidissement (lyophilisation) est le meilleur procédé de conservation.

2.1.4 Lumière

Les bacilles tuberculeux perdent rapidement leur vitalité sous l'action de la lumière solaire ou des rayons ultra-violetts d'où l'absolue nécessité de conserver les pots contenant les prélèvements dans les locaux sombres à l'abri de la lumière du jour.

2.1.5 Produits chimiques

Les bacilles tuberculeux sont très sensibles à l'alcool à 90°C, qui les détruit en 5 minutes. Ils sont relativement sensibles aux acides (acide sulfurique par exemple) aux bases (soude), à l'eau de javel, au crésyl.

2.2 Transport (15)

Le transport des produits pathologiques (crachat, pus, etc...) doit s'effectuer sans danger pour ceux qui sont amenés à les manipuler. Les produits pathologiques doivent être placés dans un récipient fermé hermétiquement (flacons bouchés à vis) entouré d'une capsule et le tout dans un étui en bois, de manière à éviter tout écoulement du produit, même en cas de bris du premier récipient.

Les moyens dont on dispose actuellement pour s'opposer à la pullulation des germes saprophytes donc à la diminution de la vitalité du bacille tuberculeux sont les suivants par ordre d'intérêt décroissant :

- la réduction maximale du temps de transport,
- l'action du froid : les produits pathologiques étant placés dans des boîtes isothermes contenant de la glace,
- l'adjonction de produits chimiques comme le phosphate trisodique ou le bromure de cetyl pyridium permet de réduire la pullulation des germes saprophytes en plaçant dans le récipient collecteur : du phosphate trisodique à 10% (23% de $\text{PO}_4\text{Na}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) ou du bromure de cetyl pyridium à 1% en quantité égale au crachat ; ces produits détruisent lentement les germes saprophytes en respectant le bacille tuberculeux.

Après plusieurs jours de contact, le crachat peut être cultivé après centrifugation sans autre décontamination.

L'utilisation d'antibiotiques ordinaires comme la pénicilline, les tétracyclines et autres ne s'est pas révélée intéressante car à dose élevée, ils diminuent considérablement la vitalité du bacille tuberculeux sans empêcher la multiplication des germes saprophytes qui sont généralement résistants aux antibiotiques utilisés.

En résumé, le froid est le meilleur agent de conservation. Le problème posé par le transport n'est pas encore complètement résolu.

2.3 Conservation (15)

Il n'est pas toujours possible d'examiner sur place et dans un court délai les expectorations, ou les autres produits pathologiques. On est donc amené à les conserver pendant un temps plus ou moins prolongé et parfois à les transporter sur d'assez longues distances. Nous traitons ici le problème posé par la conservation des produits pathologiques contaminés, car les produits non contaminés prélevés aseptiquement posent moins de problème pour leur conservation.

A la température ambiante, il se produit une pullulation de la flore associée, toujours nombreuse dans les crachats. Cette pullulation qui entraîne en quelques jours, la liquéfaction complète du produit pathologique (crachat, pus, etc...) a un double inconvénient. D'une part, elle gêne la mise en évidence microscopique du bacille, qui ne peut plus être recherché sur le frottis d'une parcelle purulente, mais doit obligatoirement l'être sur le culot de centrifugation du produit liquéfié. Cet inconvénient est mineur, car cette homogénéisation spontanée ne diminue pas la colorabilité du bacille tuberculeux. D'autre part, cette pullulation de la flore associée a une influence très défavorable sur la culture du bacille tuberculeux. Entraînant des variations de pH et surtout la libération d'enzymes bactériens, il affecte considérablement la vitalité du bacille. A ce premier effet néfaste, s'ajoute celui que va exercer la décontamination puissante qu'il faudra effectuer avant la mise en culture.

Pour ces multiples raisons, tout produit qui ne peut être examiné dès émission doit être gardé au froid à +4°C, notamment dans un réfrigérateur. Cela permet une conservation relativement satisfaisante pendant plusieurs semaines.

Cependant, dans la mesure du possible, l'examen immédiat est préférable. D'autre part, les produits du tubage gastrique, toujours acides (par HCl stomacal) doivent être neutralisés avec de la soude ou du bicarbonate de soude en présence de quelques gouttes d'indicateur de pH.

Il faut enfin des mesures de protection du personnel travaillant. La conservation est une opération bactériologique très décisive dans le diagnostic des infections à mycobactéries.

3. Examen microscopique

La mise en évidence de bacilles acido-alcoolo-résistants à l'examen microscopique du frottis fait à partir du produit pathologique est le moyen le plus rapide et le moins coûteux de faire le diagnostic de présomption de la tuberculose.

3.1 Confection du frottis

Passer l'anse de platine à la flamme et la laisser refroidir. Prélever une parcelle purulente ou hémorragique du crachat. Faire un frottis fin sur les 2/3 de la lame à 0,5cm de chaque bord. Le contenu de l'anse est étalé en couche mince par des mouvements de va et vient longitudinaux et transversaux, une fois l'étalement fini, stériliser l'anse à la flamme (un frottis fin permet de voir à travers, les lettres noires d'une page imprimée). La confection est déterminante pour les résultats de l'examen microscopique.

3.2 Fixation du Frottis

Laisser sécher le frottis à l'air libre (5 à 10 mn).

* *Fixation à la chaleur*

Prendre la lame avec une pince, et le frottis étant tourné vers le haut, passer la lame trois fois à travers la zone chaude de la flamme d'un bec bunsen.

* *Fixation à la chaleur et à l'alcool*

Verser deux gouttes d'alcool sur le frottis et flamber.

3.3 Coloration (16)

La recherche microscopique des mycobactéries s'effectue après coloration. Les méthodes de coloration utilisées sont basées sur la propriété tinctoriale caractéristique des mycobactéries : l'acido-alcool-résistance.

Nous nous limiterons aux colorations les plus couramment utilisées.

3.3.1 Coloration de Ziehl Neelsen :

a) Méthode de Ziehl -Neelsen (49)

* *Réactifs :*

Fuchsine phéniquée de Ziehl :

-	Fuchsine basique	1 g
-	Phenol aqueux	5,5 g
-	Alcool éthylique à 95%	10 ml
-	Eau distillée	100 ml

Acide sulfurique à 25%

-	Acide sulfurique	25 ml
-	Eau distillée	75 ml

Bleu de méthylène phéniqué

-	Bleu de méthylène	2 g
-	Alcool éthylique à 95%	10 ml
-	Phénol aqueux	2,2 ml
-	Eau distillée	100 ml

* *Technique*

- Couvrir le frottis de fuchsine phéniquée,
- chauffer très doucement jusqu'à l'émission de vapeur,
- laisser agir 10 mn. chauffer la lame trois fois. Eviter l'ébullition et le dessèchement du colorant,
- rejeter le colorant, rincer à l'eau ordinaire,
- recouvrir la lame d'acide sulfurique à 25% pendant 3mn. Laver, recouvrir d'alcool à 90°C pendant 5mn, rincer,
- recouvrir le frottis de bleu de méthylène pendant 30 secondes. Rincer et laisser sécher.

b) *Méthode de Ziehl-Neelsen (69) modifiée selon l'Union Internationale contre la Tuberculose*

* **Réactifs**

Fuchsine phéniquée de Ziehl

-	Cristaux de Phénol	5	g
-	Eau q.s.p	90	ml
-	Solution alcoolique de	10	ml
	{ Fuchsine basique	3	g
	{ Alcool méthylique à 95 %	100	ml

Acide sulfurique à 25 %

-	Acide sulfurique	100	ml
-	Eau distillée	300	ml

Contre colorant ou bleu de méthylène

-	Chlorure de bleu de méthylène ou bleu de méthylène hydrosoluble	0,3	g
-	Eau distillée	100	ml

* **Technique:**

- couvrir le frottis de fuchsine phéniquée,
- chauffer très doucement jusqu'à l'émission de la vapeur (le colorant ne doit ni bouillir ni se dessécher sur la lame) ; contact 5 minutes,
- rincer à l'eau ordinaire,
- recouvrir la lame d'acide sulfurique à 25% pendant 3 minutes, laver puis recouvrir le frottis avec le bleu de méthylène à 0,3%,
- laisser agir le colorant pendant 2 minutes, rincer et laisser sécher.

c) **Méthode à froid**

* **Réactifs**

<u>Solution A</u> :	-	Fuchsine basique	5	g
	-	Alcool absolu	3	ml
	-	Phénol	10	mg
	-	Teepol	15	gouttes
	-	H ₂ O	100	ml

<u>Solution B</u> :	-	Alcool	20	ml
	-	Acide sulfurique au 1/4	10	ml
	-	Bleu de méthylène 1 %	70	ml

* Technique : La coloration à froid a lieu en 2 temps.

1er temps : Placer la lame sur un support en métal ou en verre. Recouvrir de solution A. Laisser agir 5 minutes. Au bout de ce temps, rejeter le colorant.

2ème temps : Recouvrir la lame de la solution B pendant 3 minutes. Au bout de ce temps laver à grande eau, et laisser sécher. La préparation est prête pour l'examen microscopique.

3.3.2 Méthode de coloration fluorescente

La méthode de coloration par fluorescence est basée sur le même principe que la méthode classique à la fuchsine basique. C'est une coloration de la totalité de la préparation suivie d'une décoloration sélective par l'alcool-acide puis d'une recoloration du fond. Il y a plusieurs variantes.

a) Principe

Il consiste à colorer les bacilles avec des substances organiques excitables par une lumière de longueur d'onde déterminée et qui, après excitation, émettent une lumière de longueur d'onde plus élevée. Les colorants les plus courants sont excités par la lumière rouge ou verte.

Exemple : Fluorescéine, Rhodamine, Orangé d'acridine, Auramine et rouge thiazine.

b) Méthode de DEGOMMIER (49)

* Réactifs

<u>Solution alcool-acide</u>	-	Alcool à 90°	1000 ml
	-	Acide chlorhydrique	5 ml
	-	Chlorure de sodium	5 g

Dissoudre le chlorure de sodium dans 100 ml d'eau ; ajouter l'alcool et l'acide chlorhydrique.

Auramine

<u>Solution 1</u>	-	Chlorure de magnésium	2 g
	-	Phénol aqueux	50 ml
	-	Eau distillée q.s.p	500 ml

<u>Solution 2</u>	-	Auramine	1 g
	-	Eau distillée	500 ml

Verser l'auramine en pluie dans l'eau en agitant ;
verser lentement la solution 2 dans la solution 1 en agitant ;
filtrer;

le filtrat est recueilli dans un flacon teinté à l'abri de la lumière et conservé au réfrigérateur.

* **Préparation du phénol aqueux**

- 1 kg phénol cristallisé
- 100 ml eau distillée.

Faire fondre le phénol au bain-marie.

Ajouter les 100 ml d'eau.

Laisser refroidir, le phénol aqueux reste liquide.

Contre colorant

- | | | |
|---|-----------------------|----------|
| - | Rouge Thiazine | 1 g |
| - | Chlorure de magnésium | 2 g |
| - | Phénol aqueux | 50 ml |
| - | Eau distillée q.s.p | 1000 ml. |

Technique:

- | | | |
|---|----------------------------|---------|
| - | fixation alcool méthylique | 10 mn |
| - | lavage à l'eau distillée | |
| - | auramine | 20 mn |
| - | lavage à l'eau distillée | |
| - | acide-alcool | 3 mn |
| - | lavage à l'eau distillée | |
| - | rouge Thiazine | 1 mn 30 |
| - | lavage à l'eau distillée. | |

c) **Méthode SMITHWIK : modifiée**

C'est cette méthode qui est utilisée au D.A.T.

* **Réactifs**

Auramine phéniquée

- Auramine 0,1 g
- Ethanol à 90-95% 10 ml.

Ajouter à une solution de 3g de phénol dans 87ml d'eau distillée. Stocker en bouteille ombrée.

Acide-Alcool

- Acide chlorhydrique 0,5 ml
- Alcool à 70% 100 ml.

Contre colorant

- Orange d'acridine ou rouge thiazine 0,01
- solution aqueuse de phosphate disodique à 0,01% 100 ml

* **Technique :**

- couvrir le frottis avec la solution d'auramine phéniquée, laisser agir 15mn ;
- rincer à l'eau ordinaire,
- recouvrir la lame de la solution acide-alcool pendant 2mn, rincer,
- contre colorer pendant 2mn ;
- rincer et laisser sécher.

Remarque :

La méthode par fluorescence est rapide car la lecture se fait à l'objectif 40-25 voire 10. Donc elle permet d'éliminer rapidement les lames négatives.

Mais l'inconvénient de la méthode est que la plupart des produits pathologiques contiennent des particules (autre que les bacilles) naturellement fluorescentes qui, à l'occasion peuvent être confondues avec les bacilles et conduire à des résultats faussement positifs.

En effet, toutes les lames positives à la fluorescence doivent être confirmées par la méthode de Ziehl-Neelsen.

On peut soit faire une nouvelle lame sur le produit pathologique positif ou tout simplement en surcolorant par la méthode de Ziehl-Neelsen les préparations utilisées pour la fluorescence.

3.4 Lecture des lames

- * Après la coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen : la recherche des bacilles acido-alcoolo-résistants exige un bon microscope et demande de la patience. On utilise un objectif à immersion (X 100).

La lecture est faite de façon systématique et standardisée. La lame étant placée sur la platine et la mise au point étant faite.

Commencer la lecture de la lame au milieu de l'extrémité gauche du frottis et après avoir examiné un champ microscopique, déplacer la lame longitudinalement afin que le champ voisin de droite puisse à son tour être examiné. De cette façon, tous les champs microscopiques de la longueur centrale de la lame doivent être examinés. Le nombre de champs microscopiques sur une longueur de frottis correspond environ à 100. A la fin de la première longueur (centrale) déplacer la lame latéralement de quelques millimètres vers son bord postérieur et lire une seconde longueur (de la droite vers la gauche). Après la lecture de celle-ci, déplacer la lame vers son bord antérieur pour effectuer la lecture de la troisième longueur (de la gauche vers la droite). L'ensemble des trois longueurs correspond à 300 champs et leur lecture doit prendre 15 à 20 mn pour un microscopiste entraîné.

En faisant varier légèrement la vis micrométrique, observer systématiquement la surface de chaque champ, en commençant par la périphérie et en terminant par le centre.

Les bacilles tuberculeux apparaîtront comme des fins bâtonnets rouges légèrement incurvés, longs de 0,5 à 1,4 μ sur 0,5 à 0,6 μ , plus ou moins granuleux, isolés, par paires ou en amas, se détachant nettement sur le fond bleu de la préparation. (107)

- * Après coloration en fluorescence : la lecture se fera après accommodation en chambre noire ou très sombre avec ou sans objectif à immersion.

La coloration fait apparaître les bacilles acido-alcoolo-résistants en jaune pâle avec un contraste de fond variant avec les méthodes de coloration.

Mais chaque fois qu'il y a un doute quant à la nature réelle d'un point lumineux avec l'objectif faible (x10), on doit revenir à un objectif de grossissement plus élevé (x40) pour lever le doute.

On n'hésitera pas non plus à récolorer par la méthode de Ziehl-Neelsen une lame douteuse. Cette méthode bien qu'elle soit plus rapide que la précédente, doit être réservée aux laboratoires spécialisés vu le coût de l'appareillage et le risque d'erreur, étant donné que les expectorations contiennent souvent beaucoup de produits naturels acido-alcoolo-résistants et excitables autre que les bacilles.

3.5 Expression des résultats :

Les résultats doivent être toujours quantifiés, c'est-à-dire préciser le nombre de bacilles. Ceci permet en effet de faire une idée sur la richesse des lésions, donc de la gravité de la maladie, et de la contagiosité du sujet. Par ailleurs, les bacilloscopies quantitatives répétées au cours du traitement permettent de juger l'efficacité du traitement.

En effet un traitement efficace fera chuter rapidement le nombre de bacilles dans les lésions, alors qu'avec un traitement inefficace le nombre restera stationnaire ou augmentera. Les résultats sont notés au moyen de croix après énumération des B.A.A.R par champ, 10 champs, 100 ou 300 champs.

Codification des résultats de la bacilloscopie (voire Tableau XV).

4. Isolement des mycobactéries :

Le diagnostic direct de la tuberculose repose sur la mise en évidence du bacille par examen microscopique et/ou par culture.

La première culture du bacille tuberculeux a été obtenue par Robert Koch en 1882 sur sérum de boeuf coagulé.

Nocard et Roux ont obtenu une croissance satisfaisante du bacille en 1887 par l'adjonction de glycérine en proportion convenable (5 à 8%). Depuis lors, de nombreux milieux de culture ont été élaborés.

On distingue deux groupes :

- Les milieux liquides,
- les milieux solides.

En effet, obtenir en culture pure le germe responsable est certainement le moyen le plus rigoureux de faire le diagnostic de certitude de la tuberculose, c'est aussi un moyen très sensible, puisqu'à priori tout bacille viable va donner naissance à une colonie mais d'exécution relativement laborieuse et dont les résultats ne sont disponibles qu'après un délai de 3-4 semaines voire plus.

L'isolement du bacille tuberculeux dans les produits de l'expectoration nécessite :

- la décontamination préalable de l'expectoration,
- l'ensemencement sur un milieu de culture enrichi.

4.1 Milieux liquides (86)

Leur genèse remonte à 1884 avec Proskaner et Beck qui mirent au point une formule simple constituée d'une solution tampon dans laquelle le carbonate d'ammonium est la source d'azote et la glycérine celle du carbone. En 1912 Sauton ajoute un acide aminé et du fer. Youmans en 1947 réalise un milieu semi-synthétique en ajoutant au milieu de Proskaner et Beck 10% de sérum de boeuf :

<u>Composition</u>	-	asparagine	5 g
	-	phosphate diacide de potassium	5 g
	-	citrate de magnésium (14H ₂ O)	1,5g
	-	sulfate de potassium	0,5g
	-	glycérol	20 g
	-	eau distillée	100 ml

Ajuster le pH à 7,2 avec la soude 1/10.

Milieu de Dubos (96)

Milieu liquide, inhibant la croissance des autres germes, alors que le bacille tuberculeux y pousse facilement.

<u>Composition</u>	-	hydrolysate de caséine (poudre)	2	g
	-	citrate de fer ammoniacal	0,05	g
	-	chlorure de calcium	0,0005	g
	-	sulfate de magnésium (7H ₂ O)	0,01	g
	-	sulfate de zinc (zinc)	0,0001	g
	-	sulfate de cuivre	0,0001	g
	-	eau distillée	900	ml

Amener à pH = 6,8. Stériliser à +115°C pendant 20 mn puis ajouter :

-	tween 80 en solution à 10%	5	ml
-	albumine de boeuf (fraction V de Cohn en solution)	100	ml

Stériliser par filtration sur bougie ou membrane stérilisante. Souvent pour un bon rendement de culture de souches pures de Mycobacterium tuberculosis ; on enrichit ce milieu en ajoutant par litre :

-	asparagine	2	g
-	phosphate mono-acide de sodium (12H ₂ O)	6	g
-	phosphate diacide de potassium	1	g
-	glycérol (ou glycérine)	4	g.

Milieu SULA : Enrichi en alanine, c'est le seul d'ailleurs qui contient du vert malachite.

4.2 Milieus solides

Ce sont les plus utilisés pour l'isolement des mycobactéries à partir des produits pathologiques.

Le milieu solide le plus utilisé est le milieu de Loewenstein-Jensen; c'est ce milieu que nous avons utilisé pour nos travaux.

4.2.1 Milieu de Loewenstein-Jensen (70)

Composition

<u>Solution 1</u>	Phosphate monopotassique	2,4	g
	Sulfate de magnésium	0,24	g
	Citrate de magnésium	0,60	g
	Asparagine	3,60	g
	Glycérine	12	ml
	Eau distillée	600	ml

Ce mélange est chauffé jusqu'à dissolution. On le stérilise à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Ajouter 30g de fécule de pomme de terre (stérile) à la solution 1 et chauffer à 100°C pendant 15 minutes, puis maintenir à 56°C. Mélanger à cette solution un litre d'oeufs (cassés stérilement) et 20ml de vert malachite à 2%.

Les milieux de Loewenstein-Jensen (L.J) que nous avons utilisés, étaient déjà préparés et déshydratés, nous devons y ajouter des oeufs et de la glycérine pour la préparation (voire préparation des milieux de culture).

On peut aussi préparer les milieux Loewenstein-Jensen enrichis de pyruvate de Na à 0,2%. Le pyruvate de Na stimule la croissance des M. africanum et M. bovis qui ont une multiplication lente sur le milieu L.-J.

4.2.2 Coletsos-base

C'est un milieu enrichi avec des oligo-éléments: du pyruvate, du gluconate et de l'osséine. Il permet une croissance rapide des mycobactéries et est particulièrement indiqué pour la culture de Mycobacterium bovis et Mycobacterium africanum.

4.3 Technique de culture

La majorité des produits pathologiques qui contient des mycobactéries contient également d'autres bactéries; ces dernières doivent être éliminées avant l'ensemencement afin d'éviter la contamination des milieux de culture.

4.3.1 Produits pathologiques non contaminés

L'étape de la décontamination est toujours accompagnée de perte de bacilles tuberculeux. Les produits pathologiques des lésions fermées étant paucibacillaires la décontamination peut être évitée s'ils sont prélevés aseptiquement.

Les produits pathologiques non contaminés n'ayant eu aucune communication avec le milieu extérieur (L.C.R, pus ganglionnaire, pleurésies sero-fibrineuses, etc...) sont ensemencés directement sur les milieux de culture sans traitement à raison de 3 à 4 gouttes par tube de milieu.

Cependant, les liquides purulents seront dilués aux 2/5^è avec de l'eau distillée stérile.

4.3.2 Produits contaminés

La décontamination encore appelée homogénéisation du produit pathologique se fait en deux mécanismes simultanés :

- un premier mécanisme de liquéfaction du mucus qui permet à la substance décontaminante d'atteindre la flore associée,
- un deuxième mécanisme de destruction des bactéries saprophytes.

De nombreuses méthodes de décontamination existent parmi lesquelles nous retenons seulement deux méthodes avec lesquelles nous avons travaillé.

4.3.2.1 Méthode de Petroff (modifiée) (49)

a) Réactifs

Solution décontaminante stérile :

- Hydroxyde de sodium pur en pastilles 4 g
- Eau distillée q.s.p 100 ml

solution de neutralisation

- Acide sulfurique à 4% + solution aqueuse de bleu de tournesol ou de bleu de bromothymol

b) Technique

- mettre le crachat dans un tube à centrifuger à vis de 50 ml,
- ajouter un volume égal de solution de soude,
- agiter jusqu'à l'obtention d'une bonne homogénéisation apparente,
- mettre le tube à l'étude à 37°C pendant 40mn ; ne pas dépasser ce temps d'incubation,
- neutraliser,
- centrifuger à 2.000 G, soit à vitesse réduite (3000t/mn) pendant 20mn.
- décanter le liquide surnageant ; ensemercer 5 gouttes du culot neutralisé sur chaque milieu de culture.

4.3.2.2 Méthode au Lauryl-sulfate de Sodium (49)

a) Réactifs

Solution décontaminante

- Lauryl-sulfate de sodium pur 30 g
- Hydroxyde de sodium pur en pastilles 10 g
- Eau distillée q.s.p. 1000 ml

Maintenir le flacon à l'étuve à 37°C.

Solution de neutralisation

- Pourpre de bromocrésol à 1/250 2 ml
- Acide phosphorique pur 1,5 ml
- Eau distillée q.s.p 1000 ml

Répartir par flacon de 30 ml et stériliser à l'autoclave.

Remarques

En plus de ces deux méthodes de diagnostic (microscopie directe - culture) dites des méthodes conventionnelles de diagnostic de la tuberculose, il existe d'autres méthodes pour pallier les insuffisances de ces méthodes.

Les insuffisances des méthodes Conventionnelles

L'examen microscopique :

La mise en évidence de bacilles acido-alcool-résistants à l'examen microscopique du frottis fait à partir du produit pathologique est le moyen le plus rapide et le moins coûteux de faire le diagnostic de présomption de la tuberculose. Malheureusement, cette méthode n'est pas très sensible puisqu'il faut que le produit pathologique examiné contienne au moins 10 000 bacilles par millilitre pour être positif (76). La tuberculose pulmonaire étant souvent très riche en bacilles, la moitié des produits pathologiques d'origine respiratoire qui sont positifs à la culture sont positifs à l'examen microscopique (37).

L'examen microscopique permet donc de détecter les tuberculeux les plus contagieux. Sa sensibilité est augmentée par l'examen d'échantillons successifs, en règle générale au moins 3. Les produits pathologiques d'origine extra-respiratoire sont généralement paucibacillaires. Seulement 10% des cas positifs à la culture le sont à l'examen microscopique (37). En plus de ce manque de sensibilité, il n'identifie pas l'espèce mycobactérienne.

La culture

C'est la méthode de référence et permet de déterminer l'espèce en cause. Mais plusieurs semaines (3 à 6 pour M. tuberculosis par exemple) sont nécessaires avant que n'apparaissent les colonies sur les milieux solides de L.J et Coletsos.

A cette lenteur de la culture s'ajoutent d'autres difficultés de culture telles que :

- la décontamination qui s'accompagne de perte de bacilles,
- la souillure de cultures par insuffisance de décontamination.

Pour pallier ces difficultés, plusieurs approches tentent de trouver une méthode de diagnostic rapide, fiable et applicable à une utilisation de routine.

Méthodes récentes

Parmi ces méthodes récentes, de détection de mycobactéries dans les échantillons citons :

- Hémoculture Isolator

Cette méthode ne s'applique qu'à la recherche des mycobactéries dans le sang. Elle consiste à prélever le sang sur un agent lytique et anticoagulant, puis le centrifuger, le culot est ensuite ensemencé sur les milieux solides classiques ou sur milieu liquide type Bactec. La centrifugation permet de concentrer les mycobactéries, améliorant ainsi la sensibilité de

la culture et le délai d'apparition des colonies. L'hémoculture est une technique non vulnérante qui permet le diagnostic de mycobactérie notamment à M. avium-intracellulaire à un stade précoce de l'infection (22).

- Méthodes de détection radiométrique de culture en milieu liquide

Principe :

Il repose sur l'association d'une culture en milieu liquide et d'une détection radiométrique. La croissance des mycobactéries est détectée par l'augmentation de radioactivité dans l'atmosphère de culture.

- Amplification en chaîne par polymérase (P.C.R)

La PCR permet, en théorie, la détection de l'ADN à partir d'une seule molécule cible, dans un délai de 24 - 48 heures. L'ADN est extrait de l'échantillon puis est soumis à l'action de l'enzyme Taq polymérase thermostable. Le nombre de séquences d'ADN encadrées par les amorces oligonucléotidiques spécifiques augmente en théorie de façon exponentielle. Les séquences amplifiées sont détectées à l'aide de sondes nucléiques spécifiques, radioactives ou froides. (22) .

5. Identification :

L'identification des mycobactéries donnant des colonies pigmentées est souvent facile. Ce qui n'est pas le cas avec les autres mycobactéries. Leur identification repose sur les caractères cultureux. Les caractères biochimiques et la sensibilité aux antibiotiques.

5.1 Caractères cultureux

On doit rechercher 4 caractères :

- la date d'apparition des colonies (vitesse de croissance),
- l'aspect des colonies (aspect rugueux - taille),
- la pigmentation des colonies à l'obscurité et à la lumière (photo - induction),
- la température de croissance.

5.2 Caractères biochimiques

Il est fondamental de considérer que le développement de colonies sur milieux de L.J n'est pas systématiquement synonyme de B.K. Avant de conclure, il est nécessaire de procéder à un certain nombre de tests d'identification qui permettent de reconnaître une mycobactérie tuberculeuse d'une mycobactérie non tuberculeuse.

Il existe plusieurs caractères biochimiques permettant l'identification des mycobactéries :

- présence de la catalase à 22° et à 70° ,
- présence de la peroxydase,
- production d'acide nicotinique,
- réduction des nitrates,
- transformation du citrate de fer ammoniacal,
- glycosidase,
- uréase,
- aryl-sulfatase,
- hydrolyse du Tween 80.

Parmi lesquels nous nous limiterons à la recherche de 3 principaux :

- * la catalase est un enzyme qui décompose l'eau oxygénée en libérant de l'oxygène sa présence dans une souche donnée se traduit par un dégagement gazeux lorsque l'on met cette souche en présence d'eau oxygénée.
- * Les souches de Mycobacterium tuberculosis produisent une importante quantité d'acide nicotinique dont la présence est révélée par le bromure de cyanogène.
- * les mycobacteries présentent une nitrate réductase leur permettant de réduire les nitrates en nitrites ($\text{NO}_3 \text{ -----} > \text{NO}_2$).

5.2.1 Recherche de la catalase : A 22° et 70° (86)

la recherche de la catalase doit être faite sur des cultures jeunes de moins d' un mois.

Placer 10 mg ou une anse pleine de colonies dans deux tubes à hémolyse contenant chacun deux gouttes d'eau distillée stérile. Porter l'un des tubes au bain-marie à 70°C pendant 15mn, le refroidir aussitôt, après introduire dans les deux tubes 1ml de la solution suivante:

- | | |
|------------------------------|--------|
| - eau distillée | 170 ml |
| - Tween 80 | 10 ml |
| - eau oxygénée à 110 volumes | 10 ml |

Pour préparer cette solution, dissoudre à chaud le tween 80 dans l'eau, ajouter l'eau oxygénée lorsque le premier mélange est refroidi.

Ou encore on pourra préparer et conserver séparément la solution de tween 80 et d'eau oxygénée à 110 volumes au réfrigérateur à l'abri de la lumière à +4°C.

Dans ce dernier cas le mélange Tween 80 et eau oxygénée sera fait extemporanément au moment de l'emploi. Le mélange se faisant à volume égal on prendra soin d'ajouter toujours l'eau oxygénée au tween 80. La lecture se fera après 5mn de contact.

- * pas de mousse : résultat négatif, absence de catalase,
- * hauteur de mousse moins de 4 cm : résultat douteux,
- * hauteur de mousse plus de 4 cm : résultat positif.

Toutes les mycobactéries synthétisent de la catalase à 22°C sauf certaines souches isoniazido-résistantes de *M. bovis* et *M. tuberculosis*. Il existe différentes souches distinguables les unes des autres par leur sensibilité thermique.

5.2.2 Recherche de la Niacine (Test de Konno) ou Niacin-test

La recherche s'effectue sur les cultures âgées de plus d'un mois, contrairement à la recherche de la catalase et de la peroxydase.

C'est sur les cultures âgées que la production d'acide nicotinique est assez importante pour être facilement décelée. On opère sous hotte ou devant une fenêtre ouverte.

Technique:

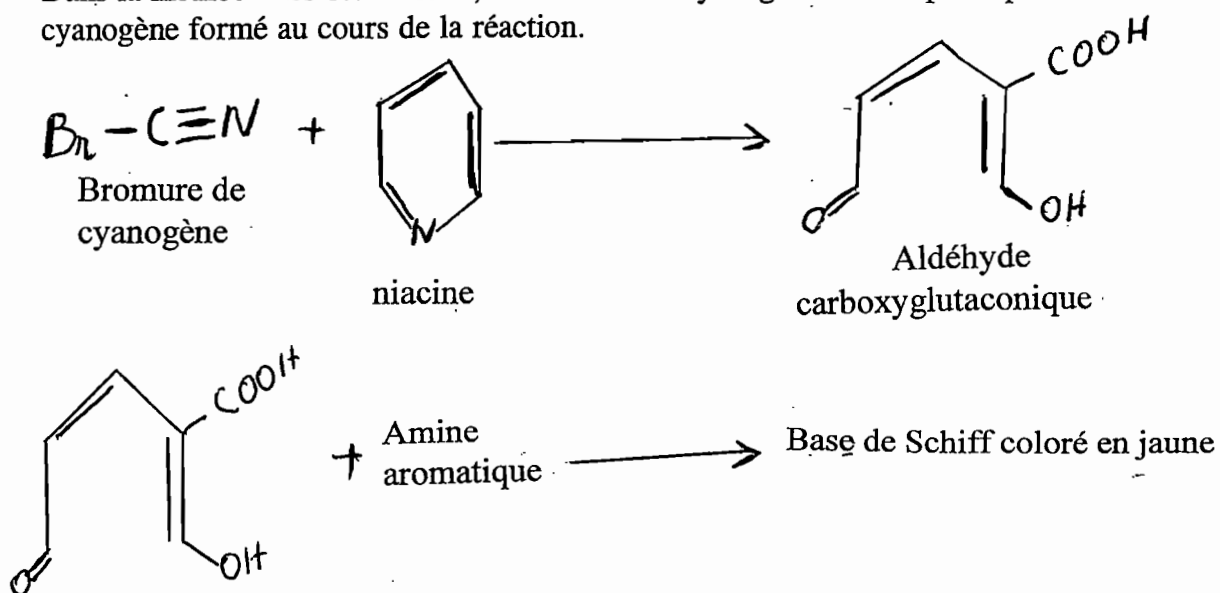
Sur une culture abondante sur milieu de L.J ajouter 1ml d'eau distillée stérile. Placer à l'étuve pendant au moins 1 à 2 heures en position inclinée afin que l'eau recouvre la surface de la culture. Si la culture est confluente, briser la masse cellulaire pour faciliter l'extraction du milieu. (la Niacine est extra-cellulaire et s'accumule dans le milieu).

Prélever l'eau riche en bacilles et ajouter 1ml de solution d'aniline à 4% à l'aide d'une pipette-Pasteur, celle-ci doit être incolore, puis 2ml de solution de bromure de cyanogène (53).

La réaction est instantanée, l'apparition d'une coloration jaune indique que la réaction est positive. La réaction est négative si le milieu est incolore.

Dans le cas des bandelettes réactives, procéder comme pour la méthode précédente jusqu'à l'extraction. Puis introduire des bandelettes avec flèche dessous. Visser le tube immédiatement. Le développement d'une couleur jaune dans le liquide indique une réaction positive. La lecture doit être immédiate puisque la réaction est fugace. (96)

Dans la méthode des bandelettes, le bromure de cyanogène est remplacé par le chlorure de cyanogène formé au cours de la réaction.



5.2.3 Recherche de la Nitrate réductase (86)

Cette propriété des mycobactéries à réduire le nitrate en nitrite a été étudiée par Virtanen. Il a observé que les mycobactéries diffèrent quantitativement dans leur pouvoir de réduction. Ce qui pourrait être utilisé pour leur identification.

Notamment Mycobacterium tuberculosis réduit fortement les nitrates alors que Mycobacterium bovis donne une réaction négative ou très faible.

a) Réactifs

Substrat 0,01 M. nitrate de sodium dans 1/45 M. tampon phosphate :

-	NaNO ₃	0,85 g
-	KPO ₄ H ₂	0,117 g
-	Na ₂ PO ₄ H(12H ₂ O)	0,487 g
-	Eau distillée	10 ml

Réactif 1 :

- R1: une dilution au 1/2 d'acide chlorhydrique dans l'eau (10ml de HCl + 10ml d'eau)
- R2 : 0,2mg de sulfanilamide dans 100ml d'eau distillée;
- R3 : 0,1 g de bichlorhydrate de N-(1-naphthyl, éthylène, diamine dans 100ml d'eau).

Les trois réactifs R1, R2, R3 et le substrat seront conservés au réfrigérateur et à l'obscurité. On les jette en cas de formation de précipité ou de changement de couleur.

b) Technique

Mettre dans un tube à essai 2 à 3 gouttes d'eau distillée. Puis émulsionner dans l'eau de la solution de NaNO₃.

Agiter pour mieux mélanger et incubé à 37°C au bain-marie pendant 2 heures.

Enlever du bain-marie et ajouter ensuite une goutte de réactif R₁, une goutte de R₂ et une goutte R₃.

On doit observer un virage à la couleur rouge si la réaction est positive. Dans le cas contraire, soit la réaction est négative, soit les nitrates ont été réduits jusqu'au stade d'azote. Dans ce cas, ajouter de la poudre de Zinc qui catalyse la réduction des nitrates en nitrites. Si la couleur rouge apparaît, c'est la réaction qui est réellement négative. Si la solution reste incolore, c'est que la réaction est positive, car tous les nitrates ont été réduits jusqu'au stade d'azote.

6. Tests de sensibilités aux antibiotiques

Plusieurs méthodes ont été décrites pour les tests de sensibilité. La méthode que nous avons utilisée est celle des proportions décrites par Cannetti-Rist et Grosset (15). La mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux antibiotiques est actuellement bien codifiée.

Il y a 2 techniques.

Technique directe : qui est plus rapide car fait économiser le temps de culture. Mais elle ne peut être faite que sur les produits pathologiques riches en bactéries généralement les crachats qui ont au moins 1 BAAR par champ (++)).

Technique indirecte : qui nécessite une culture préalable (peut être employée quelque soit la richesse des produits pathologiques en bacilles).

Dans les deux variantes, le principe, et l'interprétation des résultats sont les mêmes.

6.1 Méthode des proportions

Principes

C'est la détermination de la proportion de mutants résistants à un antibiotique dans une population de bacilles tuberculeux. Pour y parvenir, le test doit permettre de savoir le nombre total de bacillesensemencés qui ont donné naissance à une colonie et parmi eux le nombre de bacilles qui sont résistants à chaque antibiotique du test.

On ensemence trois dilutions bacillaires qui sont de cent en cent fois plus faibles les unes que les autres : 10^{-1} ; 10^{-3} ; 10^{-5} sur milieu de L.J avec antibiotiques incorporés avant la coagulation et deux témoins pour chaque dilution sans antibiotique incorporé.

Les dilutions sont choisies de manière que l'une d'entre elles donne naissance à des colonies comptables. En confrontant le nombre de colonies obtenues sur les milieux avec antibiotique (bacilles résistants) avec le nombre de colonies obtenues sur les milieux sans antibiotique (bacilles résistants et sensibles ou population bacillaire totale).

On obtient facilement la proportion de bacilles résistants qui existe dans la souche testée. En deçà d'une proportion dite proportion critique, la souche est classée comme sensible et au delà comme résistante.

Le seuil critique varie suivant les antibiotiques.

Tableau VI : Concentrations critiques des antibiotiques antituberculeux sur différents milieux et proportions critiques des mutants résistants (102 ; 103). (ml/l de milieu)

MOLECULES	7H10	7H11	Loewenstein Jensen	BACTEC	PROPORTIONS CRITIQUES
Isoniazide	0,2	0,2	0,2	0,1	1 %
Rifampicine	1,0	1,0	40	2,0	1 %
Pyrazinamide	25,0	50,00a	200	100	10 %
Ethambutol	2,0	7,5	2,0	2,5	1 %
Streptomycine	2,0	2,0	4,0	2,0	10 %
Thioacetazone			4		1%

a : milieu 7H10 acidifié à pH final de 5,7- 0.1

6.2 Autres méthodes

A cause de la lenteur de la précédente méthode, beaucoup d'autres méthodes généralement plus rapides ont été décrites, mais ces méthodes demandent généralement des équipements lourds, donc ne sont pas possibles dans les laboratoires d'analyses médicales de routine.

a) L'antibiogramme par radiométrie

La mesure de la sensibilité aux antituberculeux par la méthode radiométrique est basée sur le même principe de la détection de *M. tuberculosis* dans les prélèvements par cette méthode, c'est-à-dire la mesure de la production de $^{14}\text{CO}_2$ par les mycobactéries (méthode BACTEC*). Les milieux contiennent les concentrations critiques d'antibiotiques.

Les résultats sont disponibles après 4 à 5 jours d'incubation à 37°C.

Les résultats de cette technique sont corrélés avec ceux de la méthode classique dans 90 à 98% des cas (92).

b) La détermination rapide de la sensibilité par la méthode PCR-SSCP

L'amplification génique suivie de l'analyse de conformation de l'ADN simple brin (PCR-Single Strand Conformational polymorphisme ou PCR-SSCP) et une technique rapide pour la détection de la sensibilité ou la résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux, dont les bases moléculaires (gènes cibles et sites de mutation).

Le principe est la modification de la configuration de l'ADN en simple brin révélée par l'altération de sa mobilité électrophorétique sur gel de polyacrylamide dénaturant lorsqu'il y a une modification dans la séquence nucléotidique de cet ADN.

Cette méthode a été appliquée pour la détermination de la résistance de M. tuberculosis à la Rifampicine (43 - 97 - 98), à la streptomycine (44) et en fluoroquinolone (95).

Après amplification des régions cibles de la rifampicine (*rpoB*), de la streptomycine (*rpsL* ou *rrs*) ou des fluoroquinolones (*ggrA*) qui sont connues comme étant le site des modifications conférant la résistance à ces antibiotiques. On a pu mettre en évidence des polymorphismes chez 97% de souches résistantes à la rifampicine (97) chez environ 60% des souches résistantes à la streptomycine (44) et chez quatre souches résistantes à l'ofloxacine (95).

Les résultats sont obtenus en 24 à 48 heures.

c) *La détection rapide de la sensibilité ou résistance par les phages portant le gène de la luciférase*

(Luciférase Reporter phager, LRP)

Cette technique consiste en l'émission des photons par des mycobactéries viables due à l'infection par des phages qui portent le gène de la luciférase FFLux) (50)

6.3 Conclusion

Il existe plusieurs méthodes de détermination de la sensibilité des mycobactéries actuellement ; mais c'est la méthode de proportion qui est la méthode classique, qui est utilisée en routine dans les laboratoires d'analyses médicales. Les autres méthodes pour le moment sont réservées pour les laboratoires de recherche qui sont bien équipés.

La détermination de la sensibilité de M. tuberculosis aux agents antituberculeux est généralement la suite logique d'un isolement de M. tuberculosis. Néanmoins, des malades nouvellement diagnostiqués n'ayant pas été traités précédemment seront mis sous traitement sans attendre les résultats de l'antibiogramme.

Les indications de l'antibiogramme peuvent être classées selon l'ordre de priorité suivant :

1. malades ayant un examen microscopique positif persistant malgré un traitement correct, ayant donc une tuberculose chronique.
2. malades ayant des prélèvements positifs à l'examen microscopique et/ou à la culture ayant deux mois ou plus après le début d'un traitement ou malades ayant interrompu leur traitement après au moins deux mois de traitement.
3. malades ayant été guéris d'une tuberculose et ayant de nouveau des prélèvements positifs à l'examen microscopique ou à la culture (rechute).
4. malades récemment détectés.

Pour ce travail, nous avons systématiquement fait les antibiogrammes pour voir le profil de résistance primaire et secondaire des B.K aux antibiotiques actuellement utilisés.

V. LES DIFFERENTES DROGUES ET SCHEMAS THERAPEUTIQUES DE LA TUBERCULOSE UTILISES AU MALI

1. Bases bactériologiques du traitement

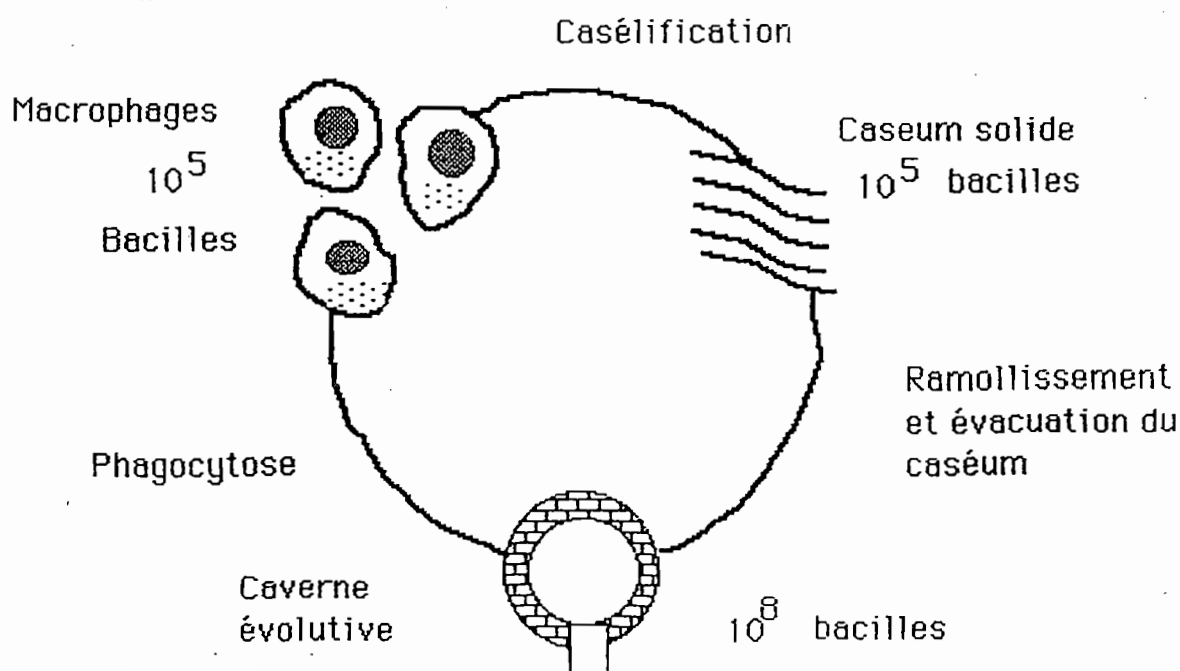
Le traitement de la tuberculose est relativement long par rapport au traitement d'autres maladies infectieuses. En effet, la durée de ce traitement dépend de la diversité de la population du bacille tuberculeux chez le malade mais essentiellement aussi de la lenteur de la multiplication du B.K. Le temps de génération est de 20 heures en moyenne (contre 20mn chez le staphylocoque) soit un rapport de 60. Donc mathématiquement, le temps de traitement de la tuberculose doit être 60 fois plus long que celui d'une infection à staphylocoque.

1.1 Les différentes populations bacillaires des lésions tuberculeuses

Au sein des lésions tuberculeuses, on peut individualiser trois populations bacillaires distinctes.

- la première est la population des bacilles qui se multiplient activement, à pH neutre, dans les parois des lésions caséuses ramollies et évacuées, des cavernes. Cette population, la plus nombreuse, atteint couramment 10^8 bacilles.
- la deuxième est la population des bacilles phagocytés par les macrophages. Etant dans un environnement acide, et subissant l'effet de nombreuses enzymes, ces bacilles ont une multiplication ralentie. Leur nombre n'excède certainement pas 10^4 à 10^5 bacilles.
- la troisième population est constituée par des bacilles extracellulaires présents dans les foyers caséux solides. Bien qu'à pH neutre, ces bacilles ont une multiplication fortement ralentie, voire intermittente en raison notamment des mauvaises conditions d'oxygénation. Leur taux dépasse rarement 10^4 à 10^5 bacilles (75).

SCHEMA 3 : Les populations bacillaires dans les lésions de la tuberculose humaine.



1.2 Efficacité des principaux antibiotiques antituberculeux (41)

L'efficacité est liée à trois facteurs essentiels :

◆ L'intensité de l'activité antibactérienne :

Elle est appréciée par le coefficient de dépassement moyen (C.D.M)

$$\text{C.D.M} = \frac{\text{concentration sérique moyenne (C.S.M)}}{\text{concentration minimale inhibitrice (C.M.I)}} > 1$$

Si ce coefficient est élevé, l'antibiotique est dit bactéricide (le bacille est soumis à un effet antibactérien puissant). Lorsque le coefficient est bas, l'antibiotique est bactériostatique.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la concentration minimale nécessaire pour inhiber la croissance d'une souche normale de bacille tuberculeux.

◆ le facteur de pénétration de l'antibiotique jusqu'au siège d'action :

Les mycobactéries ne sont pas sensibles à la majorité des antibiotiques à cause d'un défaut de passage à travers la paroi mais non d'une insensibilité de la cible d'action. Ce qui impose le choix sur les antibiotiques qui sont spécifiquement efficaces (les antituberculeux).

En outre, ces facteurs de pénétration de l'antibiotique jusqu'au siège des bacilles, conditionnent l'activité de l'antibiotique respectivement sur les bacilles extra-cellulaires (dans le caseum) et sur les bacilles intracellulaires (dans les macrophages).

◆ la proportion de mutants résistants :

C'est cette proportion qui est généralement responsable des échecs de traitement, même si les antibiotiques naturellement actifs sont administrés.

La proportion de mutants résistants aux antibiotiques existe dans des souches normales de bacilles tuberculeux avant le début du traitement. L'efficacité d'un antibiotique est inversement proportionnelle à la fréquence des mutants.

In vitro, on peut établir le comportement des bacilles tuberculeux par rapport à des concentrations d'antibiotiques identiques à celles réalisées in vivo, permettant ainsi d'apprécier l'activité des différents antibiotiques (75).

Au cours de la tuberculose humaine, malheureusement, les bacilles ne se comportent pas tous comme dans un tube de culture.

La streptomycine, l'INH, la rifampicine sont les antibiotiques les plus efficaces sur les bacilles à multiplication active dans les parois cavitaires, dont on peut confondre le comportement in vitro et in vivo. Le pyrazinamide, l'INH et la rifampicine sont les plus efficaces sur les bacilles qui sont dans un environnement acide à l'intérieur des macrophages ; tandis que seule la rifampicine est efficace sur les bacilles à multiplication

ralentie au sein des foyers caséux. D'autres dont l'éthambutol, et le PAS (acide para aminosalicylique) sont bactériostatiques.

TABLEAU VII : Activités des principaux antibiotiques antituberculeux selon l'état métabolique des bacilles.

ANTIBIOTIQUES	ACTIVITE SUR LES BACILLES		
	à multiplication active (pH neutre)	pH acide	pH neutre
Streptomycine (SM)	+++	0	0
Isoniazide (INH)	++	+	0
Rifampicine	++	+	0± ?
Ethambutal	±	±	0
Pyrazinamide	0	++	0

- +++ Très active
- ++ Active
- ± Bactériostatique
- 0 Activité nulle.

2. Conduite du traitement antibiotique (75)

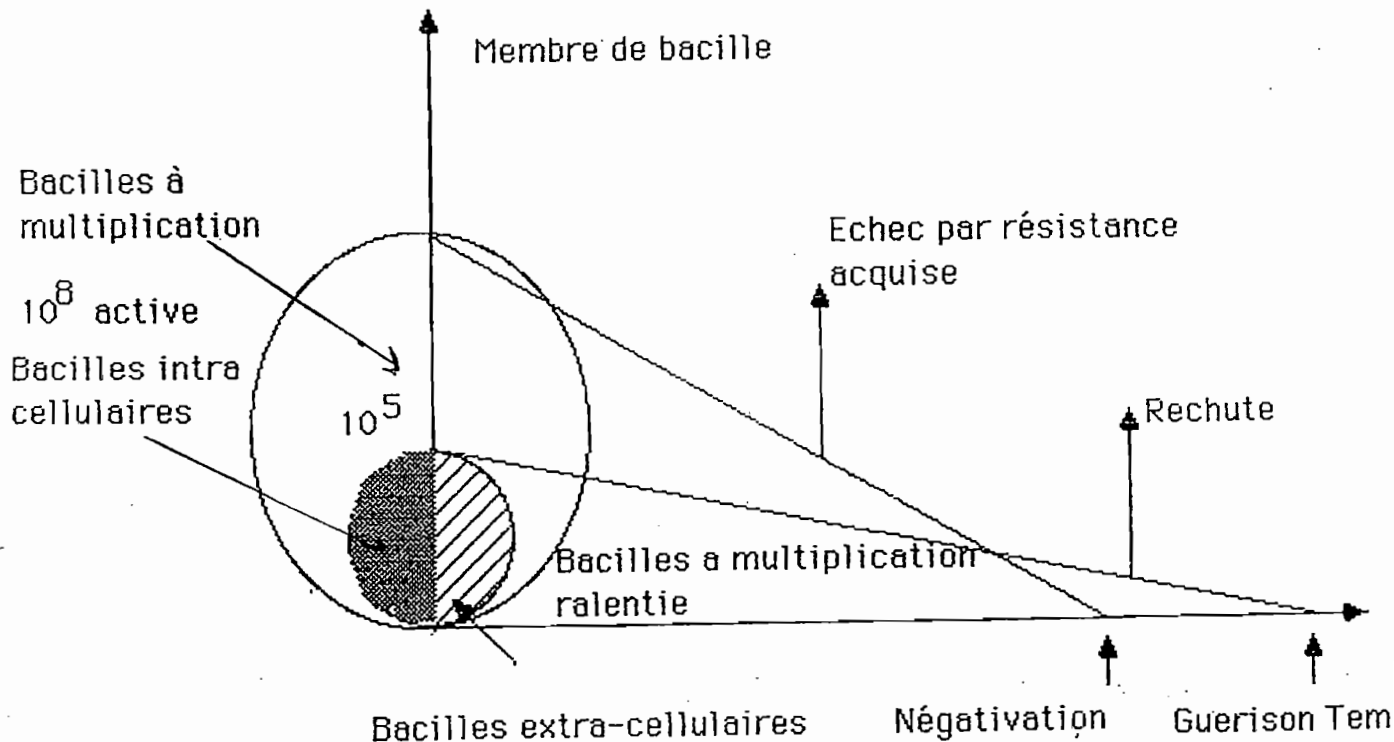
Le traitement antituberculeux doit assurer la destruction la plus rapide et la plus totale possible de tous les bacilles présents dans les lésions.

Ainsi, les premiers à détruire sont ceux qui forment la population active dans les parois caséuses. En raison de sa richesse, cette population contient d'emblée des mutants résistants aux antibiotiques dont la sélection conduirait à l'échec thérapeutique par résistance acquise. On atteint cet objectif en administrant simultanément plusieurs antibiotiques auxquels les bacilles sont sensibles. Egalement, en raison de sa richesse, mais aussi de sa situation dans la couche caséuse superficielle de la paroi cavitaire, la population bacillaire en multiplication active est responsable de la présence des bacilles dans l'expectoration des malades et par conséquent de la contagiosité des tuberculeux. C'est pourquoi il est nécessaire de chercher à négativer le plutôt possible l'expectoration des malades. On y parvient en administrant non seulement plusieurs antibiotiques, mais les antibiotiques les plus bactéricides sur les bacilles à multiplication active.

Comme la destruction des bacilles ne s'opère pas immédiatement, et le risque de sélection des mutants résistants dure tant que la taille de la population bacillaire n'est pas fortement réduite, l'antibiothérapie doit rester bactéricide et rigoureusement associée pendant plusieurs semaines, en pratique jusqu'à la négativation de l'expectoration.

Les bacilles à multiplication ralentie ne posent pas les mêmes problèmes thérapeutiques. Etant en nombre relativement limité, ils ne contiennent pratiquement pas de mutants résistants et ne font donc courir aucun risque de résistance acquise aux antibiotiques. Mais comme ils se multiplient au ralenti ou d'une manière intermittente, la majorité des antibiotiques ont sur eux une activité bien moins puissante que sur les bacilles à multiplication active. Il peuvent donc persister au sein des lésions et être à l'origine des rechutes (bacilles sensibles). Pour éviter les rechutes, il faut donc administrer soit un traitement particulièrement prolongé, soit un traitement particulièrement actif sur les bacilles à multiplication ralentie.

SCHEMA III : Illustration du traitement de la tuberculose.



A cause des bacilles à multiplication ralentie, la durée du traitement antituberculeux doit être obligatoirement longue.

3. Résistance du bacille tuberculeux et ses conséquences

Le bacille tuberculeux comme les autres bactéries est capable d'acquérir une résistance aux différentes drogues antibacillaires. Ces phénomènes sont fondamentaux pour la conduite du traitement (86).

3.1 La résistance du bacille tuberculeux

La résistance est la capacité d'une bactérie de survivre à l'exposition à une concentration de drogue qui inhibe ou tue les cellules parentales et de transmettre cette propriété à ses descendants. La descendance constitue la population résistante. Dans cette population la proportion de mutants résistants s'approche de 100 % ; un petit nombre seulement de cellules peut être sensible du fait de mutations reverses. (70)

Cette définition de la résistance n'est pas utilisée en tuberculose, parce que toute souche sauvage de bacilles tuberculeux (souche qui n'a jamais été en contact avec un antibiotique) renferment spontanément un certain pourcentage de bacilles résistants. Ce qui implique que les critères nouveaux de résistance doivent être définis en tuberculose.

Différents critères, applicables à des populations bactériennes (souche) ont été obtenus empiriquement. Tous les critères proposés et toutes les techniques adoptées reposent sur la mesure d'une proportion de mutants résistants au dessous de laquelle une souche peut être sûrement classée comme sensible.

Ce problème de résistance préoccupe à la fois cliniciens et bactériologistes car elle demeure une des causes majeures de l'échec du traitement antituberculeux.

Cette résistance est actuellement considérée comme de nature chromosomique. Aucune résistance plasmique n'a jusqu'ici été démontrée ou suspectée. Mais cette résistance chromosomique se différencie des résistances chromosomiques des autres bactéries par le taux élevé des mutants résistants présents dans les populations bacillaires normales qui, joint à un grand nombre des bacilles présents dans certaines lésions, explique la fréquence d'apparition de ces résistances au cours du traitement (résistance secondaire). Ainsi la proportion des mutants résistants dans une population bacillaire normale est d'environ :

- 1 pour 10^5 bacilles pour l'INH,
- 1 pour 10^5 bacilles pour la Streptomycine (SM),
- 1 pour 10^6 bacilles pour l'Ethambutol (EMB),
- 1 pour 10^3 bacilles pour l'Ethionamide,
- 1 pour 10^8 bacilles pour la Rifampicine.

Le nombre de bacilles présents dans les lésions donc de mutants résistants dépend du type anatomique de celles-ci. (86)

- Les nodules et autres foyers caséux fermés sont pauvres en bacilles 0 à 10^3 ; donc ne contiennent pratiquement pas de mutants résistants ;
- Un foyer caséux ouvert dans les bronches, moins bien oxygéné contient environ 10^4 à 10^6 , il n'y a pas ou très peu de mutants résistants ;
- Les cavernes évolutives sont très riches en bacilles. Une caverne de 2 mm de diamètre peut en contenir 10^7 à 10^9 bacilles. Le nombre de mutants résistants étant dépendant du nombre de bacilles.

Ainsi pour l'isoniazide où existe 1 mutant résistant pour 10^5 bacilles de population :

$$\text{alors } 10^7 \text{ bacilles donneront } x = \frac{10^7}{10^5} = 10^2 \text{ bacilles résistants}$$

$$10^9 \text{ bacilles donneront } y = \frac{10^9}{10^5} = 10^4 \text{ bacilles résistants}$$

En conclusion dans une caverne évolutive de 2 mm de diamètre on a :

10^2 à 10^4 bacilles résistants à l'INH.

De la même manière on a :

10^2 à 10^4	"	"	"	la SM,
10^4 à 10^6	"	"	"	l'Ethionamide,
10 à 10^3	"	"	"	l'EMB,
0 à 10	"	"	"	la Rifampicine.

D'où l'explication du grand risque de sélection de mutants résistants en cas de traitement insuffisant ou mal adapté (Exemple : une monothérapie).

Cette mutation -sélection est le seul mécanisme actuellement connu d'apparition de souches résistantes en clinique.

Il est, par conséquent, indispensable que la chimiothérapie des malades à frottis positifs commence avec au moins trois médicaments.

3.2 Prévention de la résistance (86)

L'émergence des souches résistantes étant la conséquence directe de la sélection par les antibiotiques des mutants présents dans les populations bacillaires, certaines règles sont à respecter scrupuleusement dans la prescription de ces drogues.

Eviter une monothérapie. En effet, une monothérapie sera suivie inéluctablement de la sélection d'une souche résistante dans une lésion riche en bacilles.

Par contre, la prescription de deux antibiotiques réduit considérablement cette possibilité si du moins la souche infectante est normale. Exemple : dans les souches normales, la proportion de mutant résistant à l'INH et la SM, pour chaque antibiotique est 10^5 . La proportion de résistants à ces deux antibiotiques est donc 10^{10} en raison de l'indépendance des mutations ; dans une caverne contenant 10^7 à 10^9 bacilles, il est donc peu probable qu'il existe un mutant double.

Mais ce mode de prévention n'est efficace que si la souche est normale ; si au contraire elle comporte un nombre plus élevé de mutants, la prescription de deux antibiotiques peut être insuffisante. D'où la nécessité de :

- Pratiquer des tests de sensibilité *in vitro* et en attendant de prescrire de préférence trois antibiotiques. Pour les antibiotiques mineurs dont le taux de mutation est plus élevé, il est impératif d'administrer même vis à vis d'une souche normale, trois antibiotiques simultanément pour éviter la sélection ; d'où deux règles fondamentales :

- * nécessité de l'antibiogramme,
- * nécessité aussi de prescrire une association médicamenteuse comportant au moins deux antibiotiques majeurs et plutôt trois au début du traitement.

4. Les différentes drogues antituberculeuses (67)

En 1975, l'Union Internationale Contre la Tuberculose (U.I.C.T) et l'Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies (OCCGE), ont cité douze médicaments antituberculeux qui étaient utilisés à travers le monde entier. Il s'agit de : l'Ethambutol, l'Isoniazide, la Rifampicine, la Streptomycine, la Kanamycine, l'Acide Para-aminosalicylique (PAS), la Viomycine, la Cyclosérine, le Pyrazinamide, la Capréomycine, le Thiosemicarbazone et l'Ethionamide.

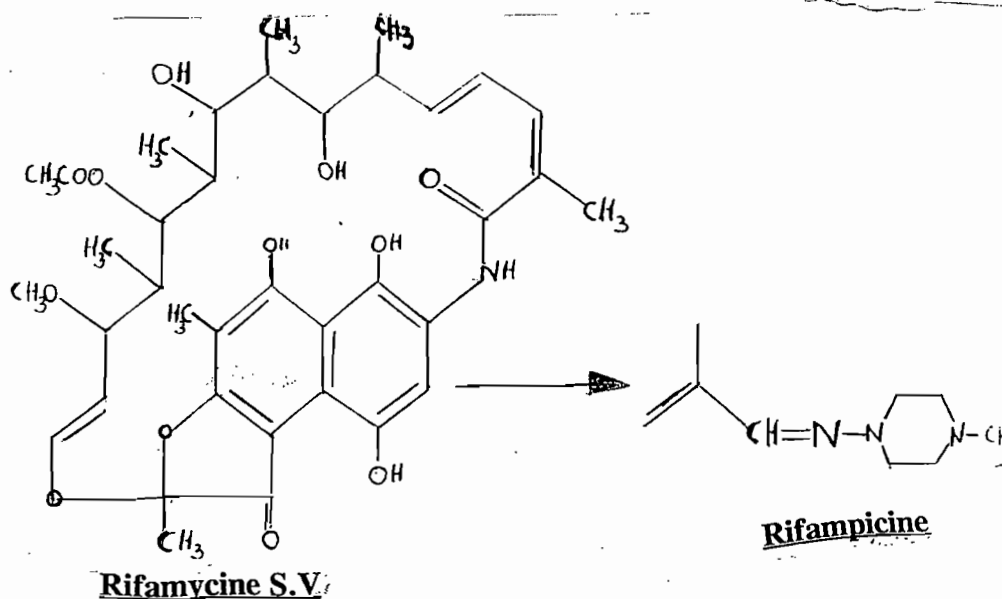
C'est en 1982 à la Conférence de Buenos Aires que six médicaments ont été retenus comme médicaments essentiels de la tuberculose. Il s'agit de : l'Isoniazide (INH ou H), la Rifampicine (R), l'Ethambutol (EMB ou E), la Streptomycine (SM), le Thiosemicarbazone et le Pyrazinamide (Z).

4.1 Rifampicine

Considérée comme l'antituberculeux le plus efficace parce que ayant le taux le plus réduit de résistant, et agissant sur toutes les 3 populations de bacilles en cas de tuberculose, la rifampicine est aujourd'hui un antituberculeux très utilisé.

La rifampicine est un dérivé de la rifamycine SV qui provient de la réduction de la rifamycine S, issue de la transformation en solution aqueuse de la rifamycine B, substance produite par Streptomyces mediterranei.

Structure chimique : Formule développée



Nom chimique : [Méthyl-4, (Pipérazinyl-1) iminométhyl]-3 rifamycine S.V.

Formule simple : $C_{43}H_{58}N_4O_{12}/C_{43}H_{58}N_4O_{12}$.

Pharmacocinétique

* **Absorption** : digestive, rapide et pratiquement totale entravée par l'alimentation d'où la prise en jeun.

Pic sérique entre la 2^e et la 4^e heure et se situant en moyenne, en administration répétée à 8mg/ml pour une prise de 600 mg et 18 mg/ml pour une prise de 900 mg.

* **Distribution** :

◆ bonne pénétration intracellulaire jusque dans les macrophages incluant les B.K ;

◆ diffusion tissulaire excellente dans le poumon, le foie et le rein ; bonne dans les autres tissus mais faible dans l'os compact, passage faible dans le L.C.R. sauf en cas de méningite.

Important passage placentaire. Liaison aux protéines est environ 80 % (sérum humain).

* **Biotransformation** : transformation en désacétylrifampicine qui a la même activité antibactérienne.

* **Elimination** : l'excrétion biliaire est prédominante (2/3 par la bile ; 1/3 par les urines). Concentré dans la bile principalement sous la forme de désacétylrifampicine (85 %) et la rifampicine 15 % qui est absorbée par le cycle entérohépatique.

La durée de vie est environ 2 heures pour une prise de 600 mg et d'environ 3 heures pour une prise de 900 mg en administration répétée.

Coefficient de Dépassement Moyen : (Cdm 74)

$$CDm = \frac{\text{Taux sérique moyen}}{CMI}$$

Propriété :

La CMI : (Concentration minimal inhibitrice) est de l'ordre de 0,1 µg/ml.

Posologie - voie d'administration - spécialités :

Propriétés : Antibiotique de la famille des rifamycines dont le mode d'action est la formation d'un complexe stable avec la RNA polymérase des bactéries. Pas de résistance croisée avec les autres antituberculeux.

Posologie : 600 mg/jour chez l'adulte et 12 à 15 mg/kg chez l'enfant à jeun en une prise quotidienne.

Voie d'administration : Voie orale et intraveineuse (en perfusion de 1h30mn). A la dose quotidienne de 600 mg chez l'adulte et 10 à 15 mg chez l'enfant.

Spécialités : Rifadine*, Rimactan*, Rifinah*.

Toxicité :

- Inhibe par compétition l'entrée dans l'hépatocyte de divers composés organiques choléphilés dont la bilirubine et surtout la bromosulfone phtaléine (BSP). D'où l'arrêt de l'antibiotique un ou deux jours avant l'épreuve.

- Ictère en association avec INH par induction enzymatique entraîne une formation de métabolites instables de l'INH cause de l'ictère. D'où l'arrêt de l'INH et non la rifampicine en cas d'ictère.

Deux effets secondaires peu fréquents, moins graves peuvent survenir (108).

- un syndrome respiratoire consistant en un essoufflement, rarement associé à un collapsus, et un choc. De tels cas nécessitent une Hospitalisation immédiate pour des soins d'urgence ;

- un purpura et d'autres réactions rares telles qu'une anémie hémolytique aiguë, un choc et une insuffisance rénale. Si l'un de ces derniers accidents survient, la rifampicine doit être immédiatement arrêtée et l'on ne devra plus jamais l'administrer au malade; une hospitalisation immédiate est absolument nécessaire ;

Il peut aussi avoir des réactions mineures qui nécessitent souvent des traitements symptomatiques.

- un syndrome cutané fait de rougeur et/ou de prurit, avec ou sans éruption, intéressant surtout la face et le cuir chevelu avec parfois rougeur des yeux ;

- un syndrome grippal fait d'accès fébriles, de frissons, de sensation de malaise, de céphalées ou de douleurs osseuses ;

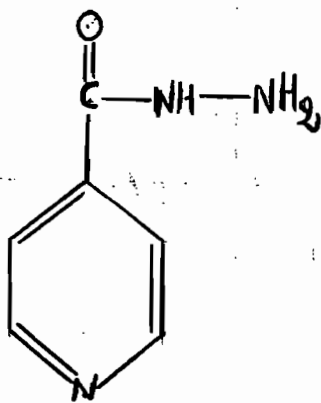
- un syndrome abdominal fait de douleurs et de nausées, accompagnées parfois de vomissements ou, moins fréquemment, de diarrhées.

La rifampicine donne une couleur rouge-orange aux urines, aux selles, à la salive, aux crachats, aux larmes et à la sueur. Ces phénomènes n'ont pas de conséquences pathologiques, mais les malades doivent en être avertis.

4.2 Isoniazide ou INH

Dénomination commune de l'Hydrazide de l'acide isonicotinique (INH). L'isoniazide a été synthétisée en 1912, mais son action sur le bacille tuberculeux n'a été mise en évidence qu'en 1952, à la suite des travaux portant sur les propriétés bactériostatiques des dérivés de la nicotinamide (28).

C'est un antibiotique bactéricide, agissant électivement sur le bacille de Koch. Elle est peu toxique et active par la voie orale.

StructureStructure de l'isoniazideActivité

Pouvoir bactéricide sur les bacilles tuberculeux. Il a une action spécifique : actif sur les formes à multiplication active et sur les formes intracellulaires. Mais pas d'action sur les formes cavitaires à multiplication lente. La proportion de mutants résistants est de 10^5 .

Les résultats de différents travaux effectués sur l'activité de l'INH in vivo, concordent avec les résultats des travaux sur son activité in vitro. Ils prouvent en plus que son association avec la rifampicine est plus efficace que son association avec les autres médicaments anti-tuberculeux. (41)

PHARMACOCINETIQUE

Excellente diffusion tissulaire et dans les macrophages. Passe la barrière placentaire et méningée.

La concentration dans le lait maternel est identique à celle du plasma.

Taux sérique après 200 mg per os = 1,6 $\mu\text{g/ml}$ à la 3^{ème} heure et 0,7 à la 6^{ème} heure.

- C_{Dm} = 25 à 75
- Fixation protéique = 20 à 30 %

L'isoniazide est métabolisé au niveau des hépatocytes qui le transforment en acétyl-Isoniazide inactif mais très toxique pour le foie. Cette dégradation se fait plus ou moins rapidement chez les sujets. Ce qui retentit sur le taux sérique. On définit aussi l'indice d'inactivation.

$$I_3 = \frac{C_3 + 0,6}{D}$$

C_3 = concentration sérique en INH inactif exprimé en $\mu\text{g/ml}$ et mesurée 3 Heures précises après la prise buccale du médicament.

D = dose d'isoniazide buccale exprimée en mg/kg.

On distingue ainsi :

$I_3 < 0,40$ inactivateur rapide

$I_3 > 0,65$ inactivateur lent

$0,40 < I_3 < 0,65$ inactivateur indéterminé. (67)

L'élimination est surtout urinaire sous trois formes :

L'isoniazide libre, dérivés acétylés et hydrazines. (67)

L'acétylisoniazide peut être hydrolysé en acétylhydrazine qui est en partie transformé en métabolite instable. Ce métabolite serait responsable de l'hépatotoxicité de l'isoniazide.

Il y a aussi une faible quantité qui est éliminée par la voie biliaire sous forme métabolisée.

Posologie voie d'administration et spécialités

Posologie : Per os 5mg/kg/jour chez l'adulte et 10mg/kg/jour chez l'enfant en début de traitement.

Spécialités :

Rimifon* : * sous forme de comprimés dosés à 50mg et 150mg,
* sous forme d'ampoules injectables dosées à 500mg.

Hexoniazide*

Isobenzacyl*

Rifinah* ou Rimactazid*	}	Rifampicine 150mg
comprimé		INH = 100mg
Diatébène* ou Thiazina*	}	INH = 300mg
		Thioacétazone = 150mg.

Voie d'administration

La voie parentérale (IM, perfusion) est possible de même que les instillations locales. Cependant la voie orale est la voie d'administration la plus utilisée.

Toxicité

L'INH est le moins toxique des antituberculeux, cependant divers types d'accidents ont été signalés.

L'hépatite est un effet secondaire majeur de l'isoniazide qui se produit dans environ 0,5 % des cas. (108)

Il y a aussi des signes mineurs, des signes de neurotoxicité (paresthésies, engourdissement, et douleurs musculaires dans les cas de neuropathie périphérique), ou une confusion mentale ; ces effets peuvent être réduits par l'administration de pyridoxine (vitamine B₆), 5mg/jour, ou complexe vitaminique (3).

- un syndrome ressemblant à la pellagre,
- une variété d'éruptions cutanées (108),
- algo-dystrophie des épaules,
- accidents neuro-psychiques très rares,
- gastrite, atteinte hépatique.

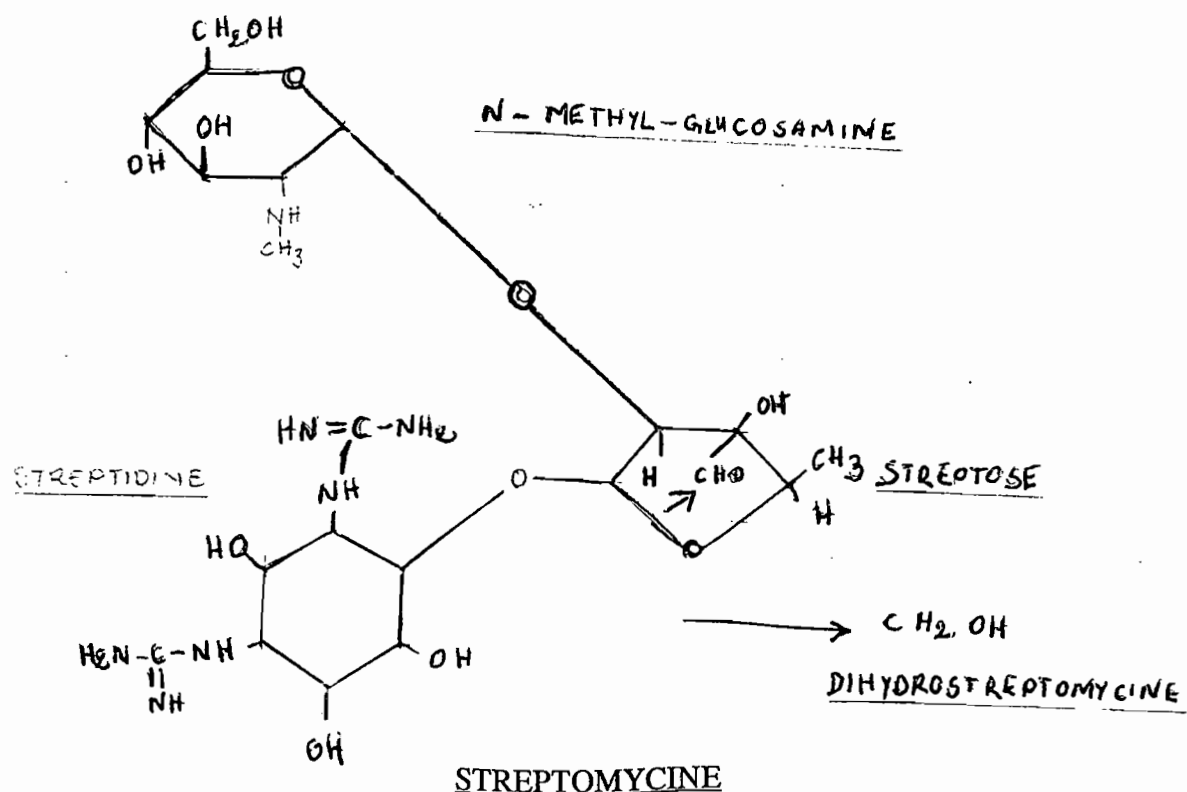
4.3 La Streptomycine

C'est le premier antibiotique du groupe des oligo-saccharides ou aminosides ou aminoglycosides. C'est aussi le 1^{er} des antituberculeux. Elle a été isolée en 1944 par Waksman et Coll de Streptomyces-griseus.

Activité

Elle a un pouvoir bactéricide sur les formes à multiplication active. Elle est inactive sur les formes à multiplication lente et sur les formes intracellulaires. La proportion de mutants résistants est environ 1 pour 10⁵ bacilles.

Structure chimique



PHARMACOCINETIQUE

La streptomycine n'est pas absorbée par la voie digestive. Elle n'est donc utilisée dans le traitement de la tuberculose que sous forme injectable.

Après administration par voie I.M, la concentration sérique maximale est atteinte au bout d'une heure. En moyenne :

- 0,5 g/IM : donne une concentration sérique maximale de 20 $\mu\text{g/ml}$;
- 1 g/IM : concentration sérique maximale de 40 $\mu\text{g/ml}$;
- demi-vie = 2 à 3 heures ;
- bonne diffusion humorale, pulmonaire, rénale, biliaire ;
- passage placentaire et dans le lait maternel ;
- mauvaise diffusion dans le liquide céphalo-rachidien et les tissus ;
- ne franchit pas la barrière méningée, sauf en cas d'inflammation ;
- liaison aux protéines plasmatiques : 20 à 30 %.

Biotransformation : aucun métabolite n'est connu, mais 10 % à 30 % de la dose injectée sont inactivés dans l'organisme. (113)

Excrétion

Reins : 70 à 90 % dans les 24 heures (filtration glomérulaire),

Bile : 1 % environ.

La streptomycine est hémodialysable. (113)

Posologie - Voie d'administration - Spécialité

Posologie :

La posologie est de 1g/j chez l'adulte et 25 à 50 mg/kg chez l'enfant en I.M.

Toxicité :

Le principal effet secondaire de la streptomycine est l'atteinte vestibulaire. Le risque s'accroît avec la posologie et l'âge. L'atteinte du système vestibulaire survient généralement dans les 2 premiers mois et se manifeste par des bourdonnements d'oreille, des vertiges et de l'ataxie.

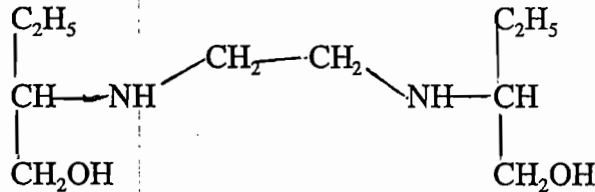
Il peut y avoir :

- des réactions d'hypersensibilités,
- des accidents allergiques,
- des atteintes labyrinthiques, auditives et des convulsions,
- des atteintes de la 8^e paire du nerf crânien.

4.4 Ethambutol

L'éthambutol est l'isomère dextrogyre du 2, 2 (éthylène diamine) di 1 butanol. Il appartient au groupe des éthylènes diamines. C'est une poudre blanche, soluble dans l'eau.

Structure



Ethambutol

Activité

Il est bactériostatique et inhibe les bacilles tuberculeux à la concentration de 1 à 2 $\mu\text{g/ml}$. La concentration minimale inhibitrice de l'éthambutol suivant les différents milieux est illustrée dans le tableau IX.

Le taux de mutation est relativement faible 10^6 . Actif sur les formes à multiplication active et intracellulaires.

Les résultats des travaux effectués sur l'activité in vitro de l'éthambutol concordent avec ceux des travaux in vivo. (67)

Pharmacocinétique

- Absorption digestive lente, rapide de l'ordre de 80 %,
- Bonne diffusion tissulaire, le pic sérique entre la 2^e et la 4^e heure est de 3 $\mu\text{g/ml}$ environ, après une prise de 20mg/kg à jeun. La captation tissulaire est importante notamment au niveau pulmonaire.

Lors d'une atteinte tuberculeuse des méninges, la concentration dans le LCR atteint la moitié de la concentration sérique.

L'éthambutol diffuse dans le placenta mais non dans le lait maternel (113).

Le temps de demi-vie plasmatique : 6 à 8 heures.

- La fixation protéique est négligeable.
- $\text{CDm} = 4,7$
- élimination : 80 % par voie urinaire, sous forme active
- 20 % dans les fèces. (113)

Posologie - Voie d'administration et spécialités

L'éthambutol (Dexambutol* et Myambutol*) est souvent associé à l'INH dans les spécialités : Myambutol* - INH et Dexambutol* - INH - Sobio.

Chez l'enfant la posologie est de 25 à 30 mg/kg/jour.

L'éthambutol est généralement administré par la voie orale dans ce cas, il doit être administré de préférence à jeun.

On peut aussi utiliser l'éthambutol par voie intramusculaire ou intraveineuse à la même posologie.

L'éthambutol est administré généralement à la dose de 20mg/kg/jour chez l'adulte, en prise unique.

Cette posologie peut être portée à 25mg/kg/jour en cas de rechute ou de résistance du bacille de Koch aux autres antibiotiques.

En cas d'insuffisance rénale majeure, la posologie doit être adaptée en raison du risque de surdosage par accumulation, en fonction de la clairance de la créatinine.

Tableau VIII : La posologie de l'éthambutol en fonction de la clairance de créatinine chez l'insuffisant rénal.

Clairance de la créatinine ml/mm	Dose mg/kg/j	Espacement des prises
> 100	20	24 h
70 à 100	15	24 h
< 70	10	24 h

Toxicité

Rarement : l'éthambutol peut être responsable de troubles oculaires à type de névrite optique axiale ou périaxiale, avec baisse de l'acuité visuelle, scotome central et dyschromatopsie pour le vert et le rouge.

Exceptionnellement : troubles digestifs divers, anorexie, rashes cutanés, allergies, hyperuricémie, leucopénie.

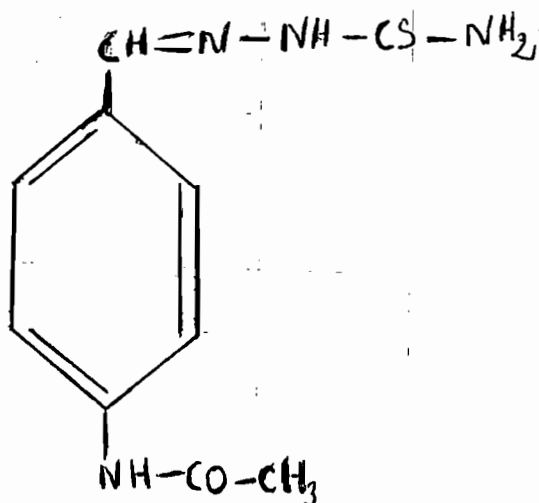
Il n'existe pas de signe d'intoxication aiguë. En cas d'intoxication, l'éthambutol est dialysable. Exception faite chez l'insuffisant rénal.

4.5 Les Thiosemicarbazones (30)

Les thiosemicarbazones ont été introduites par Domagk dans le traitement de la tuberculose en 1946 ; le composé le plus actif est la thioacétazone ou Tb₁ : son activité in vitro sur le bacille tuberculeux est voisine de celle de l'acide para-amino-salicylique ; son efficacité est meilleure en association avec l'Isoniazide après une cure de Streptomycine. Les thiosemicarbazones ont l'avantage d'un prix de revient très bas.

Des réactions allergiques cutanées à type de rashes.

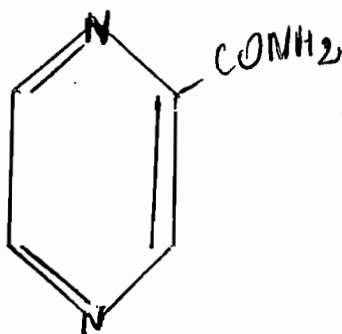
Structure :



THIOACETAZONE

4.6 Le Pyrazinamide

Structure :



PYRAZINAMIDE

C'est un dérivé isométrique de l'acide nicotinique.

Propriétés

Le pyrazinamide est comme l'isoniazide, un dérivé de la nicotinamide. C'est un antituberculeux permettant d'obtenir in vivo aux posologies indiquées, une action bactéricide sur les bacilles tuberculeux intracellulaires (se trouvant donc dans un milieu acide, condition nécessaire à l'action du Pyrazinamide). Le taux de mutant résistant est de 1 pour 10^3 .

Pharmacocinétique

Résorption : rapide et totale, au niveau gastro-intestinal. Le pic sérique, obtenu vers la 2^e heure, est en moyenne 33 $\mu\text{g/ml}$ après une prise de 1,5g et 60 $\mu\text{g/ml}$ après une prise de 3g.

- liaison aux protéines : pratiquement nulle,
- distribution : bonne pénétration intracellulaire jusque dans les macrophages incluant les B.K,
- diffusion tissulaire,
- élimination : presque exclusivement rénale, sous forme principalement d'acide pyrazinoïque (environ 40 %) et d'acide 5 hydroxyde - pyrazinoïque environ (30 %).

L'élimination sous forme de pyrazinamide inchangé ne dépasse pas en 24 heures 4% de la dose administrée.

La demi-vie du pyrazinamide est d'environ 9 heures après une prise de 1,5g et identique après une prise de 3g.(113)

Posologie - voie d'administration - spécialités

Le pyrazinamide est utilisé à la dose de 1,5 à 2g/jour en une seule prise (en moyenne 30mg/kg/jour) chez l'adulte.

Le pyrazinamide est utilisé par la voie orale sous forme de comprimés.

Les spécialités : Piraldine* (Pyrazinamide pur)
Pirilène* (Pyrazinamide)
Piazoline* (N-morpholinomethyl Pyrazinamide ou morphozinamide)

Toxicité

- le pyrazinamide présente une toxicité hépatique dose dépendante,
- élévation de l'uricémie avec parfois arthralgie,
- allergie avec fièvre, rash cutané, anémie, exanthème. (113)

Tableau IX :

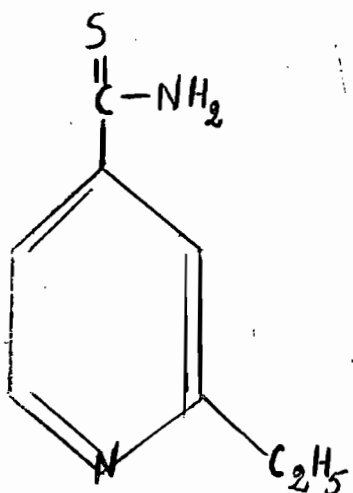
Concentration minimale inhibitrice des médicaments antituberculeux selon les différents milieux.

MEDICAMENTS	CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE mg/l		
	Milieu de Youmans/10 ⁻² mg		Milieu de L. Jensen/10 ⁻⁴ mg
	8 ^{ème} jour	18 ^{ème} jour	28 ^{ème} jour
INH	0,04	0,075	0,05
Rifampicine	0,15	0,30	20
Streptomycine	0,5	1	2
Kanamycine	0,5	1-2	20
Ethambutol	1	2,5	2
Ethionamide	0,5	2,5	20
Cycloserine	10	15	30
Viomycine	3	10	20
Capréomycine	1	2	20
Pyrazinamide	5	10	10
P.A.S	0,1	0,5	0,1
Thiosemicarbazone	0,4	0,6	2

4.7 Ethionamide

Comme l'isoniazide, l'éthionamide est un dérivé de l'acide isonicotinaminique, il s'agit de l'&-éthylthio-isonicotinamide.

Structure :

**Ethionamide**

Activité

L'activité de l'éthionamide sur le bacille tuberculeux est supérieure à celle de la streptomycine et inférieure à celle de l'isoniazide (C.M.I = 1 à 2 $\mu\text{g/ml}$). Cependant, des souches résistantes à cette dernière sont sensibles à l'éthionamide ; le taux de mutation est également élevé : 10^{-3} .

La résistance à l'éthionamide est croisée avec le thioacétazone (113).

Pharmacocinétique

Les concentrations sanguines après absorption de 500mg atteignent 2,6 $\mu\text{g/ml}$ à la 3^{ème} heure et 3,5 $\mu\text{g/ml}$ à la 6^{ème} heure.

L'éthionamide diffuse bien, notamment dans le caseun. L'élimination est faite par voie urinaire (80 % en 24 Heures).

Posologie - Voie d'administration - spécialités

L'éthionamide (Trecator*) est prescrit habituellement par voie orale à la dose quotidienne de 500 mg à 750 mg chez l'adulte et 15 à 25 mg/kg chez l'enfant.

L'utilisation est possible en perfusion dans du soluté bicarbonate, la voie rectale doit être évitée.

Toxicité

troubles digestifs, rares ictères, lésions cutanées très rares troubles dépressifs et gynécomastie.

* Prothionamide (Trevintix*)

Homologue de l'éthionamide dont l'activité antituberculeuse est similaire, il possède une résistance croisée totale avec elle.

Sa tolérance digestive paraît meilleure que celle de l'éthionamide.

4.8 Acide Para-amino-salicylique (P.A.S) (30)

L'activité du PAS est faible, seulement bactériostatique. Largement utilisé aux débuts de la chimiothérapie antituberculeuse, il l'est très peu aujourd'hui. Il peut cependant contribuer à prévenir l'apparition d'une résistance aux médicaments majeurs prescrits simultanément.

Sa posologie quotidienne est de 15g en perfusion veineuse et de 10 à 30g par voie orale chez l'adulte ; chez l'enfant, on emploie 1,5 à 2g par cette voie.

Cependant, ce produit n'est plus commercialisé isolément, les spécialités pharmaceutiques l'associent à l'isoniazide (Paraniazide, Pasiniazide). Le PAS est surtout responsable de troubles digestifs (gastralgies, nausées, diarrhées) et de réactions allergiques, d'autres effets secondaires (hépatite, syndrome mononucléosique, syndrome encéphalitique) ont été décrits ; à long terme peuvent apparaître des symptômes d'hypothyroïdie.

4.9 Viomycine (30)

Ce produit possède des analogies avec la streptomycine, mais son activité antibacillaire est plus faible et sa toxicité plus grande pour la huitième paire crânienne.

Elle est utilisée sous forme de sulfate (Panto-viocine) à la dose de 1g tous les jours ou tous les deux jours chez l'adulte en injection intramusculaire et 30mg/kg chez l'enfant ; on peut aussi l'utiliser en perfusion veineuse ; des préparations à usage local existent également.

4.10 Kanamycine

Comme la streptomycine, la kanamycine est un aminoside. Elle peut être active sur des souches résistantes à la streptomycine. Les aminosides ne sont pas absorbés par la voie buccale.

Le taux sérique après administration de 0,50g en IM est 20 µg/ml.

Le temps de demi-vie est de 5 Heures; ce temps peut être prolongé jusqu'à 100 heures chez l'insuffisant rénal.

Liaison protéique : 0 à 20 %.

La kanamycine (Kamycine*) est administrée à 1g par jour en I.M chez l'adulte ; et 15 à 20 mg/kg/j chez l'enfant.

La toxicité est identique à celle de la streptomycine (30).

4.11 Cyclosérine

Cette substance est la D-4 amino-3-isoxazolidine ; elle est active sur un grand nombre de bactéries, dont le bacille tuberculeux. Commercialisé sous forme de D-cyclosérine, elle est prescrite chez l'adulte à dose progressivement croissante (250 mg jusqu'à 750mg/jour).

La cyclosérine est responsable de troubles neuro-psychiques (confusion, excitabilité, hallucination, dépression) qui nécessitent la diminution des doses, voire l'arrêt du traitement.

4.12 Capréomycine

Sa structure chimique est celle d'un peptide, elle est active sur certaines souches résistantes à la streptomycine, mais il existe une résistance croisée avec la Kanamycine et la viomycine.

Des troubles rénaux, auditifs et allergiques ont été décrits.

4.13 Les fluoroquinolones

Ces quinolones dites de deuxième génération obtenues par addition d'un atome d'halogène, le fluor, en 6 et d'un cycle pipérazinyl en 7 sur le noyau commun d'acide quinoléine-3-carboxylique, se caractérisent par une activité antibactérienne large couvrant aussi bien les bactéries Gram(+) que les bactéries Gram(-).

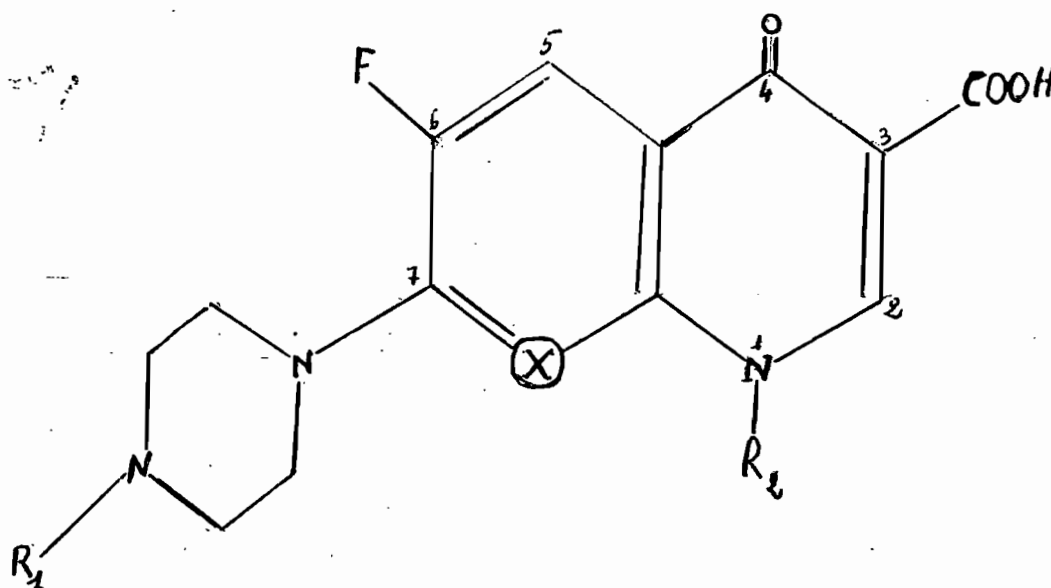
Leur utilisation dépasse le cadre traditionnel des infections urinaires pour s'étendre aux infections vénériennes et intestinales, voire aux mycobactérioses.

Comme les quinolones de première génération, les fluoroquinolones peuvent être administrées par voie orale, ce qui est particulièrement utile lors des traitements de longue durée.

Les fluoroquinolones (Fq) qui ne présentent pas de résistance croisée avec les antituberculeux majeurs sont probablement les nouveaux antibiotiques les plus performants pour traiter une infection à bacilles résistants avec cependant des variations d'une molécule à l'autre et un risque certain de sélectionner des résistances supplémentaires.

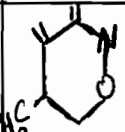

L'ofloxacin et la ciprofloxacin ont des CMI comparables, mais cette dernière est pénalisée par des performances pharmacocinétiques moins favorables.

La sparfloxacin semble la FQ la plus intéressante avec les CMI les plus basses ; son pic sérique relativement faible est compensé par une demi-vie plus longue (96). Le site de mutation a été identifié (95) au niveau du gène de structure *gyrB*. (95)



structure des fluoroquinolones

Tableau IX : les fluoroquinolones

	R ₁	R ₂	NOM DE LA CHAÎNE	X
OFLOXACINE	CH ₃		Oxazine	CH
PEFLOXACINE	CH ₃	C ₂ H ₅	Ethyl	CH
NORFLOXACINE	H	C ₂ H ₅	Ethyl	CH
CIPROFLOXACINE	H		Cyclopropyl	CH
AMIFLOXACINE	CH ₃	NHCH ₃	Methylamino	CH
FLEROXACINE	CH ₃	C ₂ H ₄ F	Fluoroéthyl	CH
ENOXACINE	H	C ₂ H ₅	Ethyl	CH
SPARFLOXACINE				

Pharmacocinétique

- Bonne diffusion tissulaire, -
- demi-vie variable selon la structure moléculaire et varie de 3 à 12 heures,
- élimination essentiellement rénale.

Activité

L'activité antibactérienne de la péfloxacin, appréciée par la détermination des C.M.I est 10 à 20 fois supérieure à celle des quinolones de première génération.

Les études récentes montrent une bonne activité in vitro sur les mycobactéries (M. tuberculosis) et (M. Leprae).

Le spectre antibactérien des nouvelles quinolones, permet leur utilisation dans le traitement d'infections nosocomiales à germes multirésistants de réanimation. Staphylocoques méthi-résistants, Acinetobacter et Pseudomonas aeruginosa.

Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action des fluoroquinolones est incomplètement élucidé (109). Il repose sur la capacité des molécules à traverser les différentes membranes, à inhiber la synthèse de l'ADN associé à un ou plusieurs autres mécanismes entraînant la mort de la cellule bactérienne (11-45-64). Aux concentrations thérapeutiques ni la synthèse de l'ARN, ni la synthèse des protéines ne sont touchées.

Toxicité

- Troubles digestifs mineurs : gastralgies, nausées, vomissements, rarement des diarrhées ;
- allergies cutanées : prurit, rash, urticaire, voire toxidermie ;
- troubles neuro-sensoriels : céphalées, troubles ophtalmologiques, hallucinations, vertiges, troubles de la vigilance.
- Toxicité rénale : la ciprofloxacine peut être responsable de la cristallurie à pH alcalin.
- Atteinte hématologique : neutropénie + thrombocytopénie.

5. Les schémas thérapeutiques au Mali

Les schémas thérapeutiques constituent un élément essentiel de la lutte antituberculeuse dans un pays. En effet, il semble que les taux de résistances (acquise et primaire) soient en partie dépendants des schémas thérapeutiques utilisés dans le pays.

Au Mali, 3 schémas thérapeutiques sont utilisés pour le traitement de la tuberculose :

- Un régime court pour le traitement des nouveaux malades à frottis positifs à l'examen direct au microscope, et les formes graves de tuberculose à frottis négatifs et extrapulmonaire. Exemple : miliaire tuberculeux, méningite tuberculeuse, tuberculose de la colonne vertébrale.

Ce régime dure 8 mois et se résume par :

2RHZS/6TH ; chez les sidéens 2RHZS/6EH.

- Un régime de 12 mois, appelé régime standard actuellement utilisé dans les zones où, la chimiothérapie de courte durée n'est pas encore appliquée. Ce régime est utilisé chez les nouveaux malades et est composé de médicaments à prix de revient bas. Il est utilisé aussi pour les tuberculoses pulmonaires à frottis négatifs et les tuberculoses extra-pulmonaires. 2STH/10TH
- Un régime court de retraitement des anciens malades déjà traités pendant 12 mois (régime standard) et 8 mois (régime court) et qui restent positifs. Sa durée est de 8 mois actuellement. 2RHZSE/1RHZE/5R₃H₃E₃

5.1 Le régime court de traitement des nouveaux malades

Ce régime est destiné aux malades tuberculeux pulmonaire à microscopie positive et les formes graves de tuberculose à frottis négatif et extra-pulmonaire ((78)), qui n'ont jamais subi de traitement antituberculeux.

Pour ce régime sont exclus :

- les cas pour lesquels subsiste un doute quant à la possibilité d'un traitement antérieur ;
- les cas qui ont déjà subi un traitement.

Il faut noter que la prescription du régime de courte durée aux extra-pulmonaires doit relever de la seule initiative du médecin.

Ce régime utilise cinq médicaments au total :

- pendant les 2 premiers mois, 4 médicaments sont utilisés quotidiennement,
- pendant les 6 mois suivant, deux médicaments sont administrés de façon quotidienne également : c'est la phase d'entretien.

Ce régime se résume de la façon suivante : 2HRSZ/6TH

- | | | | | |
|---|-----------------|-------------|----------|--------------|
| * | H = Isoniazide | Rifinah* | Comprimé | } R = 150 mg |
| * | R = Rifampicine | Rimactazid* | | |

Les associations de drogues

- | | | | | |
|---|-------------------------------------|------------|----------|--------------|
| * | S = Streptomycine | | | |
| * | Z = Pyrazinamide | Diatébène* | Comprimé | } H = 300 mg |
| * | T = Thioacétazone = Tb ₁ | Thiazina* | | |

Les doses usuelles varient en fonction du poids du malade.

Tableau X : Schémas thérapeutiques I : 2HRZS/6TH

Poids avant le traitement	Tous les jours pendant les 2 premiers mois			Les 6 derniers mois tous les jours
	S Streptomycine injection I.M	HR Isoniazide 100mg Rifampicine 150mg (combinés en comprimés)	Z Pyrazinamide 500mg (comprimés)	TH Isoniazide 300mg Thiacétazone 150mg (combinés en comprimés)
50 kg et plus	1 g	4	4	1
33 kg à 49 kg	1 g	3	3	1
moins de 33 kg	1 g	2	2	1

Remarques : Ce régime à une variante qui est utilisée au Mali chez les tuberculeux infectés par le VIH. On remplace le thioacétazone par l'éthambutol dans les 6 mois de la phase d'entretien. Cela à cause des réactions d'intolérance à la thiacétazone et de ses réactions toxiques mortelles.

N.B :

- Si l'examen microscopique direct est positif à la fin du 2^{ème} mois de traitement de la phase initiale intensive, on poursuivra le régime quotidien SHRZ, en règle générale jusqu'à la négativation des crachats (Contrôlés chaque semaine) sans modification de la durée (6 mois) de la phase d'entretien ;
- les patients qui ne supportent pas le diatébène continueront la phase d'entretien avec le Rifanah* ou Rimactazid* ;
- les patients demeurant positifs à la fin du 8^{ème} mois suivront le régime de retraitement ;
- le traitement de la phase intensive de deux mois doit être entièrement supervisé;
- un malade qui a pris irrégulièrement l'association Isoniazide/Thioacétazone doit continuer la prise jusqu'à une période totale de 6 mois.
- Un malade qui a abandonné ses médicaments avant la fin du traitement et dont l'expectoration était négative à ce moment là doit à la reprise compléter le reste du traitement avec l'association isoniazide/thioacétazone si les résultats des examens de crachats sont encore négatifs au moment où il revient.

5.2 Le régime thérapeutique de douze mois pour les cas de tuberculose nouvellement diagnostiqués

Le régime de 12 mois est recommandé pour être utilisé pour les tuberculoses pulmonaires à frottis négatif et les tuberculoses extra-pulmonaires.

Au Mali, ce régime est aussi utilisé pour les tuberculoses pulmonaires à frottis positif dans les zones où la chimiothérapie de courte durée n'est pas encore appliquée.

Ce régime emploie seulement 3 antibiotiques et comporte deux phases :

- Une phase de traitement intensif utilisant 3 antibiotiques et qui dure 2 mois.
- une phase d'entretien utilisant 2 antibiotiques et qui dure 10 mois.

Schéma thérapeutique II : 2STH/10TH

Tableau XII : Régime standard de traitement.

PHASE INITIALE 2 MOIS TOUS LES JOURS	PHASE D'ENTRETIEN 10 MOIS TOUS LES JOURS
Diatébène : 1 comprimé	Diatébène : 1 comprimé
Streptomycine : 1 g	

Le régime emploie des médicaments à prix de revient bas mais qui ne semble pas donner de résultats optimums dans les pays en voie de développement (le taux de guérison dépasse rarement 60 % de tous les cas de frottis positifs dépistés). ((78))

Les raisons du faible taux de succès du régime de 12 mois sont :

- la réponse lente au traitement,
- l'irrégularité au traitement,
- la plus grande probabilité d'abandon du fait de la durée du traitement (or avec ce régime, entre 4 et 5 mois lorsque se fait souvent l'abandon, 50 % des malades sont encore frottis positif ou culture positive),
- résistance à l'isoniazide,
- diagnostic tardif - malade vu à un stade avancé de sa maladie,
- autres causes de non observance tel que alcoolisme et toxicomanie.

N.B. :

- **L'utilisation de la streptomycine doit être évitée chez les femmes enceintes à cause des risques pour le nerf auditif du fœtus ;**
- **la streptomycine doit être exclusivement réservée au traitement de la tuberculose. Il ne faut pas l'utiliser pour d'autres maladies.**

Si la streptomycine ne peut pas être administrée à cause de ses effets secondaires graves, on peut la remplacer par l'éthambutol à la dose de 25 mg par kilo de poids corporel pendant 2 mois. ((78))

5.3 Retraitement des cas de rechutes à frottis positifs et des cas d'échecs à frottis positifs

Les malades à expectoration positive qui ont été traités dans le passé avec des médicaments antituberculeux pendant plus d'un mois doivent être considérés comme suspects d'excréter des bacilles tuberculeux résistants à l'isoniazide et/ou à d'autres médicaments antituberculeux. Ces malades doivent être soumis à un régime de retraitement.

Sont justiciables du retraitement :

- les cas de rechute à frottis positifs :

Ce sont les malades qui présentent actuellement une tuberculose pulmonaire à frottis positifs, mais qui ont déjà été traités dans le passé pour une tuberculose active (bactériologiquement confirmée ou non) et qui avaient été déclarés << guéris >> après une chimiothérapie anti-tuberculeuse complète.

- Les cas d'échec à frottis positifs :

Ce sont les malades qui n'ont jamais présenté ou seulement temporairement une négativation des crachats pendant la chimiothérapie de 12 mois ou de courte durée prévue pour les cas de tuberculose nouvellement dépistés.

- Les reprises : les malades qui reviennent après défaillance au traitement

Ce sont les malades qui sont positifs à l'examen direct lorsqu'ils se présentent à nouveau pour le traitement après n'être pas venus pendant plus de trois mois après le début du traitement.

- Les excréteurs chroniques de bacilles tuberculeux :

* Au Mali, on utilise depuis 1993 le schéma de retraitement proposé par l'OMS/UICT - MR qui est un régime court de 8 mois qui se résume comme suit 2RHZSE/1RHZE/5R₃H₃E₃ à la place du régime de retraitement de 6 mois résumé par : 3HREZS₃ /3H₃R₃E₃. Ce nouveau régime de retraitement comporte deux phases de traitement comme les autres régimes de traitement précédemment étudiés.

* **La phase initiale intensive**

Elle comporte de la Rifampicine associée à l'Isoniazide, du Pyrazinamide et de l'Ethambutol, en prise quotidienne pendant au moins 3 mois, avec un supplément de Streptomycine au cours des 2 premiers mois.

La phase intensive continuera jusqu'à ce que le dernier résultat de l'examen direct (mensuel) du frottis de l'expectoration soit négatif (examen à 2 mois et/ou à 3 mois après le début de la chimiothérapie).

* **La phase de continuation**

Au cours de cette phase, et pour une période supplémentaire de 5 mois, les malades continueront le traitement associant Rifampicine (combinée à l'INH) et Ethambutol trois fois par semaine (5R₃H₃E₃).

Les doses administrées varient en fonction du poids des malades.

Tableau XIII : Régime de retraitement et posologie pour les adultes.

Mois de Traitement	Médicaments	Moins de 33 kg	33 à 49 kg	50 kg et plus
Les 2 premiers mois (chaque jour)	RH { R = 150 mg { H = 100 mg (combinés en 1 seul comprimé)	2	3	4
	Z Comprimé de 0,5g	2	3	4
	E Comprimé de 0,4g	1	1-2	2-3
	S Streptomycine	0,5 g*	0,75 g*	0,75 g*
3 ^{ème} mois (chaque jour)	RH { R = 150 mg { H = 100 mg	2	3	4
	Z (0,5 g)	2	3	4
	E (0,4 g)	1	1-2	2-3
Du 4 ^{ème} au 8 ^{ème} mois (3 fois par semaine)	RH	2	3	4
	E	1-2	2-3	3-4
	H (comprimé de 0,3 g)	1	1	1

5.4 Conclusion

Les malades seront déclarés guéris :

- s'ils ont effectivement suivi les traitements quelque soit le régime et
- si les examens microscopiques des crachats sont négatifs depuis plus de deux mois.
- si le régime standard coûte moins cher, donc réservé au pays en développement ; il est nécessaire voire impératif d'appliquer le régime de 8 mois pour avoir des résultats optimums de guérison dans nos pays.

Les essais cliniques ont démontré que la chimiothérapie de courte durée basée sur des régimes contenant de la Rifampicine et du Pyrazinamide est le meilleur traitement de la tuberculose.

PARTIE PRATIQUE

VI. SUJETS ETUDIÉS-MATERIELS ET METHODES

1. Sujets étudiés

780 malades (640 nouveaux et 140 anciens) ont fait l'objet de cette étude. Les patients étaient essentiellement, ceux du DAT et de l'Hopital National du Point G.

Tableau XIV: répartition des produits pathologiques en fonction de leurs provenance.

Provenance	Nombre	Pourcentage
DAT	480	61,54
HPG	211	27,05
AFS	89	11,41
TOTAL	780	100,0

AFS : Autres Formations Sanitaires.

A partir de ces patients, (780) produits pathologiques dont 90% de crachats ont été collectés.

La bacilloscopie directe était positive chez 388 patients et négative chez 309 patients. Elle était positive après homogénéisation chez 70 soit au total 458 prélèvements positifs à la microscopie avant et après homogénéisation.

Parmi tous les échantillons mis en culture (780) ; 292 avaient poussé. Parmi les souches isolées, la sensibilité de 130 a été testée aux antituberculeux et 92 ont été identifiées.

2. Matériels

Nous nous limiterons à citer les matériels et les réactifs que nous avons utilisés.

2.1 Examen direct

- * Microscope électrique ordinaire
- * Microscope à fluorescence
- * Lames porte objets
- * Anse de platine
- * Bec-bunsen avec gaz butane
- * Marqueurs, crayon-diamant, minuterie
- * Colorant de Ziehl-Neelsen à froid : Solutions A et B
- * Huile de cèdre et alcool à 90°
- * Portoir de lames
- * Boîte de conservation de lames
- * Pinces
- * Crachoirs.

2.2 culture :

2.2.1 Décontamination :

- * Réfrigérateurs
- * Centrifugeuse + tubes à centrifuger
- * Hotte à pression négative
- * Agitateur de Kahn
- * Pipettes Pasteur
- * Gants et masques (bavettes)
- * Solution de soude à 4 %
- * Solution de Bleu de bromothymol ou de bleu de tournesol
- * Solution d'acide phosphorique 0,15%
- * Solution de Lauryl sulfate de Na 30g/l
- * Portoir de tubes
- * Etuve
- * Tubes à essai bouchés à vis

2.2.2 Préparation des milieux de culture

- * Coagulateur Gössner
- * Mixeur
- * Casseroles + baguettes en verre
- * Tubes à essai à vis
- * Milieu de Loewenstein-Jensen base en poudre
- * Oeufs
- * Glycérine
- * Balance graduée jusqu'au dixième de mg + papier stérile
- * Coton
- * Pipette graduée de 10 ml.

2.2.3 Mise en culture

- * Etuve à 37° C + plateau Loewenstein-Jensen
- * Milieu de Loewenstein-Jensen en tube (préparé par nous mêmes au Laboratoire) avec ou sans pyruvate)
- * Pipettes graduées de 1 ml ; 2 ml ; 3 ml ; 5 ml et 20 ml stériles.

2.2.4 Identification

- Catalase : * Bain-marie
 - * Eau oxygénée à 110 volumes + eau distillée + Tween 80
- Niacine : * Bandelettes réactives de niacim-test
- Nitrate réductase : * Solution de NaNO_3 : 1M
 - * Les réactifs R_1 ; R_2 ; R_3 qui sont :

R₁ : Une solution d'acide chlorhydrique (10 ml de HCl + 10 ml d'eau)

R₂ : Une solution de sulfanilamide (0,2 % de sulfanilamide + 100 ml d'eau distillée)

R₃ : Une solution de bichlorhydrate de N- (1 naphyl éthylène diamine) dans l'eau. 0,1 %

2.2.5 Antibiogramme

* Ballons de 100 ; 150 ; 250 ml

* Billes de verre

* Milieux de Loewenstein-Jensen en tubes incorporés d'antibiotiques suivants : INH, SM, Rifampicine, EMB, Tb₁

* Etalon B.C.G

* Tubes à essai stériles : à vis

* Spatules

* Becher contenant du sable et de l'alcool.

3. Méthodes

3.1 prélèvements :

Les crachats étaient prélevés au DAT, et examinés au microscope sur place puis transportés à l'INRSP pour la culture et les tests de sensibilité. Ceux des malades hospitalisés au service de pneumo-phtisiologie nous parvenaient tous les lundi et jeudi au DAT où ils étaient examinés. En plus de ces crachats du DAT et de l'HPG; d'autres étaient prélevés à l'INRSP où ils y subissaient l'examen direct, culture, identification et tests de sensibilité.

Pour avoir les trois échantillons de chaque malade, nous avons demandé aux malades de donner un premier échantillon dès qu'ils se présentent au laboratoire. Après le premier échantillon, on donne un crachoir au malade en lui demandant de cracher au réveil dans le récipient qu'ils nous apporteront le lendemain où le 3ème échantillon sera prélevé au laboratoire si le malade a fait lui-même le déplacement dans le cas contraire on lui envoie un autre crachoir pour le lendemain.

On a toujours expliqué aux malades que les crachats sont recueillis après un effort de toux profond et vigoureux.

Les autres produits pathologiques étaient prélevés dans les centres de santé et nous étaient envoyés à l'INRSP où ils étaient analysés.

3.2 Transport et conservation

Les crachats du DAT et l'HPG étaient tous transportés du DAT à l'INRSP. Les crachats prélevés dans les crachoirs en plastique étaient placés dans un carton pour être transportés à l'INRSP.

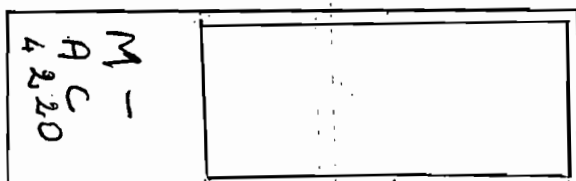
Généralement la culture était faite le même jour ; mais si la culture ne devrait pas être faite le même jour, les crachats étaient conservés au réfrigérateur jusqu'au lendemain.

3.3 Examen microscopique

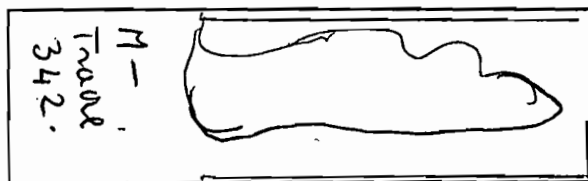
3.3.1 Confection du frottis- fixation-coloration :

- confection du frottis : a partir de l'anse de platine stérilisée à la flamme; nous avons prélevé une parcelle purulente ou hémorragique du produit pathologique. Nous avons fait un frottis fin sur les 2/3 de la lame à 0,5 cm de chaque bord. Le contenu de l'anse est étalé en couches minces par des mouvements de va et vient longitudinaux et transversaux. Une fois l'étalement fini nous avons stérilisé l'anse à la flamme.

SCHEMA : Etalement du crachat



FROTTIS BIEN FAIT



FROTTIS MAL FAIT

- fixation du frottis : les frottis ont été fixés à la chaleur et à l'alcool.
Verser 2 gouttes d'alcool sur le frottis et flamber.

- coloration : nous avons utilisé la technique de coloration de Ziehl-Neelsen à froid.

Méthode à froid

* *Réactifs*

<u>Solution A</u> :	-	Fuchsine basique	5 g
	-	Alcool absolu	3 ml
	-	Phénol	10 mg
	-	Teepol	15 gouttes
	-	H ₂ O	100 ml

<u>Solution B</u> :	-	Alcool	20 ml
	-	Acide sulfurique au 1/4	10 ml
	-	Bleu de méthylène 1%	70 ml

* Technique : La coloration à froid a lieu en 2 temps.

1er temps : Placer la lame sur un support en métal ou en verre. Recouvrir de solution A. Laisser agir 5 minutes. Au bout de ce temps, rejeter le colorant.

2ème temps : Recouvrir la lame de la solution B pendant 3 minutes. Au bout de ce temps laver à grande eau, et laisser sécher. La préparation est prête pour l'examen microscopique.

Coloration à la fluorescence

Méthode SMITHWIK : modifiée

C'est cette méthode qui est utilisée au D.A.T.

* *Réactifs*

Auramine phéniquée

- Auramine 0,1 g
- Ethanol à 90-95% 10 ml.

Ajouter à une solution de 3g de phénol dans 87ml d'eau distillée. Stocker en bouteille ombrée.

Acide-Alcool

- Acide chlorhydrique 0,5 ml
- Alcool à 70% 100 ml.

Contre colorant

- Orange d'acridine ou rouge thiazine 0,01
- solution aqueuse de phosphate disodique à 0,01% 100 ml

* *Technique :*

- couvrir le frottis avec la solution d'auramine phéniquée, laisser agir 15mn ;
- rincer à l'eau ordinaire,
- recouvrir la lame de la solution acide-alcool pendant 2mn, rincer,
- contre colorer pendant 2mn ;
- rincer et laisser sécher.

3.3.2 lecture des lames et expression des résultats

Après coloration par la méthode Ziehl-Neelsen; nous avons utilisé un objectif à immersion (x100). La lecture a été faite de façon standardisée (confère généralités). On fait la lecture sur 3 longueurs du frottis soit environ 300 champs microscopiques.

Les bacilles acido-alcool-résistants apparaissent comme des fins batonnets rouges légèrement incurvés, long de 0,5 à 1,4 micron sur 0,5 à 0,6 micron, isolés, par paires ou en amas se détachant nettement sur le fond bleu de la préparation.

* Après coloration en fluorescence : la lecture se fera après accommodation en chambre noire ou très sombre avec ou sans objectif à immersion.

La coloration fait apparaître les bacilles acido-alcool-résistants en jaune pâle avec un contraste de fond variant avec les méthodes de coloration.

Mais chaque fois qu'il y a un doute quant à la nature réelle d'un point lumineux avec l'objectif faible (x10), on doit revenir à un objectif de grossissement plus élevé (x40) pour lever le doute.

On n'hésitera pas non plus à récolorer par la méthode de Ziehl-Neelsen une lame douteuse. Cette méthode bien qu'elle soit plus rapide que la précédente, doit être réservée aux laboratoires spécialisés vu le coût de l'appareillage et le risque d'erreur, étant donné que les expectorations contiennent souvent beaucoup de produits naturels acido-alcool-résistants et excitable autre que les bacilles.

expression des résultats : les résultats ont été quantifiés et notés au moyen de croix après énumération des B.A.A.R par champ, 10 champs, 100 ou 300 champs.

TABLEAU XV: Codification des résultats de la bacilloscopie

Nombre de bacilles acido-alcool-résistants	Noter	Répondre	Concentration bacillaire par ml de crachat
0/300 champs	négatif	(-)	moins (-) de 1000
1-2/300 champs	nombre observé	douteux à reprendre	environ 5.000
1-10/100 champs	nombre/100 champs	(+)	environ 5000 à 10.000
1-10/10 champs	nombre/10 champs	(++)	environ 50.000
1-10/ champ	nombre/champ	(+++)	environ 100.000
10 ou plus/champ	plus de 10/champ	(++++)	500.000 ou plus

3.4 Isolement des mycobactéries:

Nous avons fait la culture sur le milieu de Loewenstein-Jensen simple et souvent sur ce milieu enrichi de pyruvate que nous avons préparé nous même au service de bactériologie de l'INRSP. Composition du milieu L.J (confère IV diagnostic des mycobactérioses)

3.4.1 Préparation du milieu de Loewenstein-Jensen

* *Préparation des oeufs:*

- brosser les oeufs (20 à 24 selon la grosseur) dans l'eau distillée
- les laisser tremper 1h dans l'alcool à 95°C
- les égoutter sur gaze stérile
- les casser un à un et les verser dans une éprouvette jusqu'à atteindre un volume de 1000ml
- mixer 10secondes à vitesse lente (sur 100v) dans le waring

* *Réhydratation de la poudre du milieu de L.J.:*

Pour réhydrater, mettre en suspension 37.2 grammes de poudre dans 600ml d'eau distillée (ou désionisée) contenant 12ml de glycérol et chauffer jusqu'à ébullition avec une agitation constante. Stériliser à l'autoclave 15mn à 121°C.

Ajouter la base stérile à 1 litre de suspension d'oeufs frais entiers, préparée aseptiquement. Mélanger soigneusement en évitant la formation de bulles d'air

* *Répartir le milieu complet dans des tubes stériles (16/160mm) avec bouchon à vis à raison de 6ml par tube.*

Faire coaguler le milieu 45mn à 85°C dans le coagulateur de Gössner en position inclinée conserver les milieux préparés au réfrigérateur à +4°C.

* *Préparation du milieu L.J.enrichi avec 0.2% de pyruvate de sodium:*

Exemple : pour préparer 100tubes de milieu L.J. à pyruvate de Na.

Dans un grand erlenmeyer; mettre stérilement 600ml de milieu de Loewenstein-Jensen (avec des oeufs mais avant la coagulation). Ajouter stérilement 6ml de pyruvate de Na à 20%. Bien agir et répartir à raison de 6ml par tube . Coaguler 45mn à 85°C

* *Préparation des milieux à antibiotique:*

Comme pour le cas du milieu à pyruvate; pour préparer les milieux à antibiotiques on incorpore les solutions d'antibiotiques respectifs avant la coagulation.

3.4.2 Technique de culture :

Les produits pathologiques non contaminés n'ayant eu aucune communication avec le milieu extérieur (L.C.R, pus ganglionnaire, pleurésies sero-fibrineuses, etc...) sont ensemencés directement sur les milieux de culture sans traitement à raison de 3 à 4 gouttes par tube de milieu.

Cependant, les liquides purulents seront dilués aux 2/5^e avec de l'eau distillée stérile. Les produits contaminés ont été decontaminés par la méthode de Petroff (modifiée) ou par la méthode au lauryl sulfate de sodium. (Voir IV -4.3.2 produits contaminés)

3.5. Identification

L'identification a porté sur la recherche de quelques caractères :

- culturaux : . vitesse de la croissance
. aspect des colonies
- biochimiques : . production de niacine (test de Konno)
. recherche de la catalase.
. recherche de la nitrate réductase

3.6 Test de sensibilité :

Nous avons utilisé la méthode des proportions décrite par Canneti-Rist et Grosset. Nous avons fait essentiellement la technique indirecte et exceptionnellement la technique directe. Dans les deux cas, le principe et l'interprétation des résultats sont les mêmes.

3.6.1 Préparation des dilutions bacillaires et ensemencement

Le test de sensibilité par la méthode de proportion comporte deux variantes, l'une dite méthode directe et l'autre dite méthode indirecte.

3.6.2 Méthode indirecte

Elle est réalisée à partir de la culture des produits pathologiques. Pour nos travaux la culture était faite sur le milieu L.J.

* Préparation des dilutions bacillaires

On prélève avec une spatule en platine stérile de 12 x 6 mm ; des parcelles du plus grand nombre possible de colonies de cette culture. On place le prélèvement dans un ballon stérile 5cm de diamètre contenant une trentaine de billes de verre de 3 mm de diamètre. Agiter vigoureusement le ballon pendant 20 à 30 secondes ; puis ajouter 5 ml d'eau distillée stérile lentement ; le ballon continuant à être agité. Prélever la suspension bacillaire et placer dans un tube stérile de 22 mm de diamètre, on ajuste alors l'opacité de la suspension, par adjonction d'eau distillée stérile à l'opacité d'une suspension bactérienne à 1mg/ml qui sert d'étalon.

Cet étalon fourni sur demande par l'Institut Pasteur est une suspension de B.C.G en eau standardisée à 1mg/ml et placée dans un tube scellé de 22 mm de diamètre. L'étalon doit être gardé au réfrigérateur, et placé à la température du laboratoire 15mn avant l'emploi.

A partir de cette suspension (suspension-mère), on prépare trois dilutions 10^1 ; 10^3 ; 10^5 . On procède par échelle décimétrique (10^1 mg/ml, 10^2 mg/ml jusqu'à 10^5 mg/ml). par exemple : pour préparer la dilution 10^1 mg/ml, on place 0,5 ml de la suspension mère (1 mg/ml) dans 4,5 ml d'eau distillée à l'aide de pipette Pasteur. Mais on prend soin de changer de pipette après chaque dilution.

* **Ensemencement**

Avec chacune des dilutions 10^{-1} ; 10^{-3} mg/ml, nous avons ensemencé deux tubes de milieux sans antibiotiques (tubes témoins) et un tube de milieu avec antibiotique en raison de 0,2 ml par tube. Le nombre de tubes pour chaque dilution est de 7, soit 21 tubes pour un test (car nous avons testé sur 5 antibiotiques. (INH, Strepto, Rif, EMB, Tb₁).

Après ensemencement, les tubes sont légèrement inclinés à l'horizontal permettant ainsi au liquide de couvrir toute la surface du milieu sans toucher l'extrémité du tube. Quand tout le liquide d'ensemencement est évaporé, les tubes sont alors bien vissés, puis remis à l'étuve jusqu'à la lecture des résultats.

3.6.1.2 Méthode directe

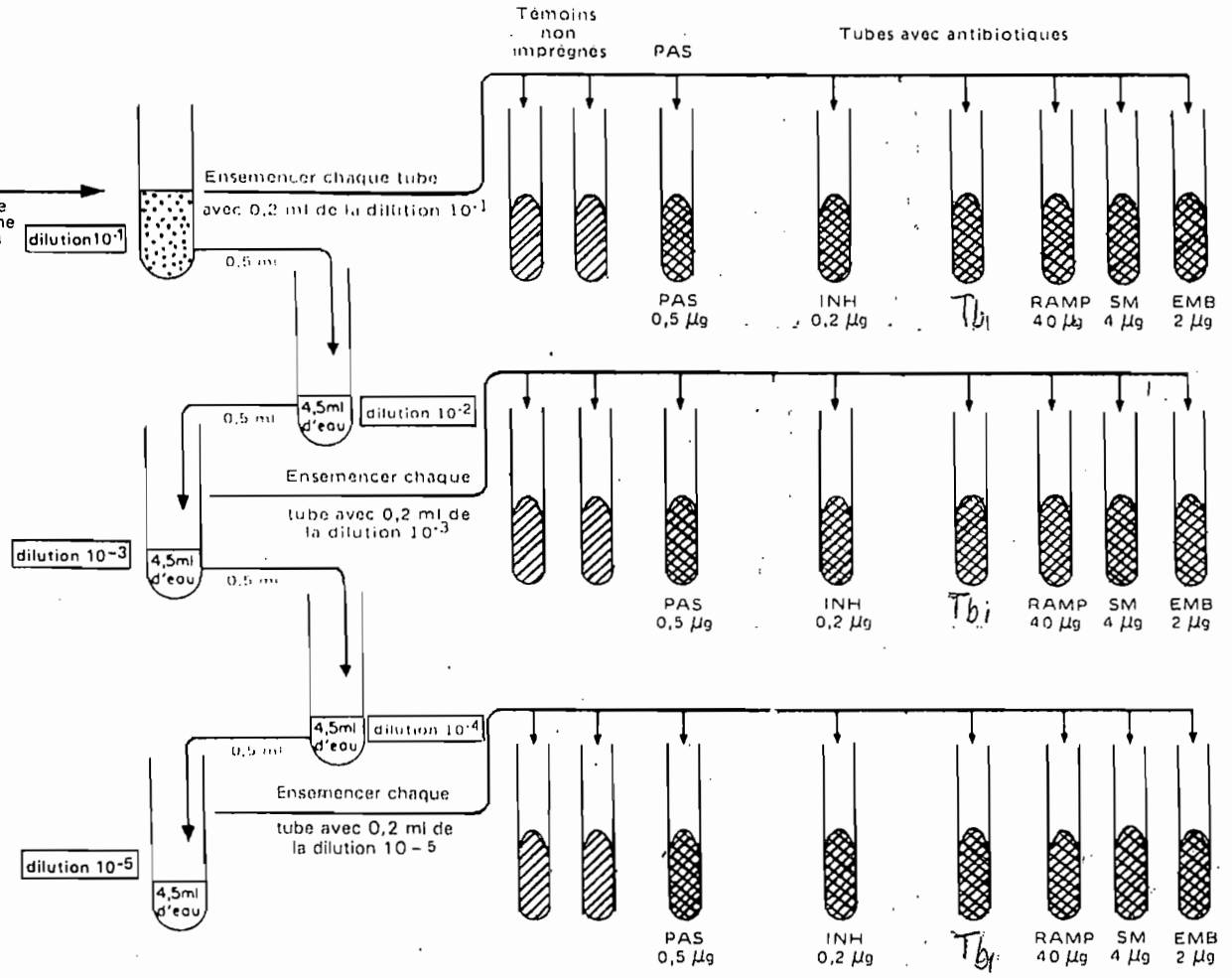
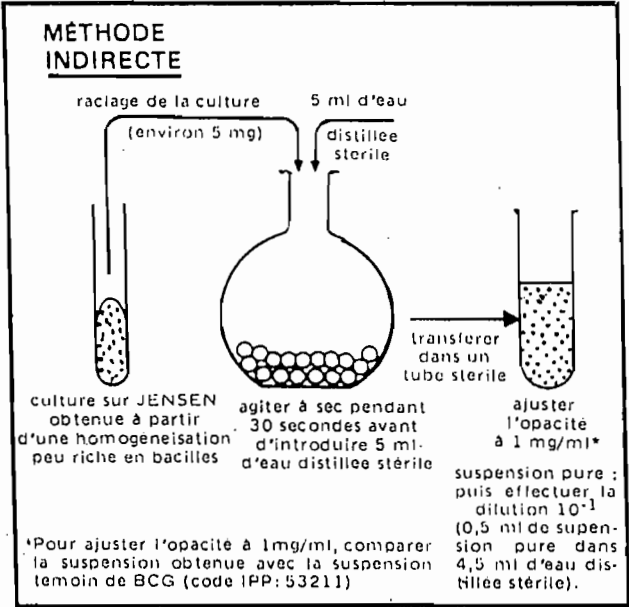
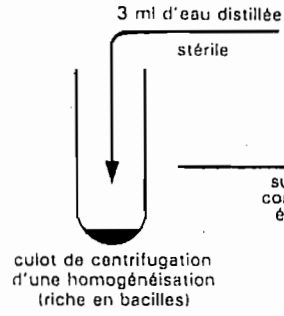
Il se fait directement avec le produit pathologique même. Les frottis étant faits, on décontamine le crachat par l'une des méthodes décrites précédemment, le produit final constitue la dilution I (suspension-mère). Les dilutions à ensemencer dépendent du nombre de bacilles visibles sur le frottis de l'examen microscopique direct. Elles sont indiquées dans le tableau.

Tableau XVI : Titrage direct : dilution à ensemencer en fonction du nombre de bacilles observés à l'examen microscopique.

Nombre de bacilles observés à l'examen microscopique (objectif à immersion)	Dilution à ensemencer	
	Sur les tubes témoins	Sur les tubes à antibiotique
Moins de 1 bacille par champ	pas de titrage direct	
De 1 à 10 bacilles par champ	$1-10^{-2}-10^{-3}$	$1-10^{-2}$
Plus de 10 bacilles par champ	$10^{-1} - 10^{-2}$	$10^{-1} - 10^{-2}$

Schéma d'utilisation de la méthode des proportions pour l'antibiogramme des BK.

MÉTHODE DIRECTE



INCUBATION A 37° C	LECTURE AU 28 ^{ème} JOUR
CHITRES de RÉSISTANCE	
INH 1% à 0,2 µg	RAMP 1% à 40 µg
SM 10% à 4 µg	EMB 1% à 2 µg
Tb 100% à 4 µg	

47

3.6.2 Lecture et interprétation des résultats

La lecture des résultats est effectuée à deux reprises : au 28^e jour et au 42^e jour. Mais dans la majorité des cas, les résultats peuvent être donnés au 28^e jour mais nous avons toujours attendu le 42^e jour pour donner des résultats définitifs.

La lecture des résultats consiste en trois opérations simples :

- compter le nombre des colonies apparues dans les différents tubes,
- déterminer de là, la proportion de bacilles résistants qui existe dans la souche,
- confronter cette proportion avec la proportion critique adoptée pour l'antibiotique correspondant, afin de savoir si elle se situe en deçà (souche sensible) ou au delà (souche résistante).

* **Calcul de la proportion de bacilles résistants contenu dans la souche**

Pour révéler l'antibiogramme, on doit énumérer toutes les colonies dans tous les tubes et noter le nombre par tube dans un tableau. Normalement, on doit obtenir dans les tubes contrôles (témoin) de 10^{-1} une croissance confluyente et dans les tubes contrôles 10^{-3} (ou 10^{-5}) entre 10 et 100 colonies qu'on doit énumérer correctement.

Exemple : tableau XVII

	Temoin	INH	Strepto	EMB	Rif	TB1
dilution 10^{-1}	oo oo	18	84	oo	O	94
10^{-3}	65 87	O	O	28	O	O
	$\frac{65+87}{2}$	S	S	R	S	R

Calcul pour pouvoir conclure "sensible ou "résistant".

Nombre limité pour les antibiotiques.

- nombre de colonies dans les tubes INH au maximum 1% de la moyenne dans les tubes témoins

-	Strepto	10%
-	EMB	10%
-	Rif	1%
-	PAS	1%
-	Tp	1%

Cela veut dire : pour

INH	S < 1%	< R
Strepto	S < 10%	< R
EMB	S < 10%	< R
Rif	S < 1%	< R
PAS	S < 1%	< R
Tb ₁	S < 1%	< R

Dans l'exemple EMB à 10⁻³

Témoin on a une moyenne de $\frac{65+87}{2} = 76$

Limite de la sensibilité 10% : donc on peut avoir pour EMB = 7,6 colonies.

Il y a dans notre cas 28 colonies donc la souche est résistante à l'EMB.

Pour INH :

nous avons dans 10⁻¹

Il y a dans les tubes contrôles (témoins) d'innombrables colonies, le calcul direct est impossible.

On doit donc compter le nombre de colonies dans 10⁻¹ à partir de 10⁻³.

Contrôle 10⁻³ 65 + 87 = 152 moyenne = 76

76 colonies dans 10⁻³

X10 = 760 colonies dans 10⁻²

X10 = 7600 colonies dans 10⁻¹

donc dans 10⁻¹ on a une moyenne de 7600 colonies.

Dans le tube INH de 10⁻¹ on a 18 colonies.

Nombre limité pour INH = 1% alors on peut avoir $\frac{7600}{100} = 76$ colonies

On a seulement 18 colonies. Cela veut dire que la souche est sensible à l'INH.

Pour la Streptomycine :

On calcule de la même façon que l'INH, car on a d'innombrables colonies dans les contrôles 10⁻¹ et 0 colonie dans les tubes 10⁻³ de strepto.

Dans les témoins 10⁻³, la moyenne = 76

Donc les témoins 10⁻¹, il y a une moyenne de 7600 colonies
nombre limités pour la streptomycine = 10% ; 760 colonies.

On a dans le tube 10⁻¹ Strepto on a que 84 donc la souche est sensible à la streptomycine.

Pour la Rifampicine :

Il n'y a pas de problème, les témoins ont bien poussé et rien ne pousse dans les tubes Rifampicine, donc la souche est sensible à la rifampicine.

Interprétation des résultats

La première lecture est faite au 28^e jour, si elle indique une résistance, une lecture au 42^e jour est inutile. Si la souche paraît sensible une deuxième lecture au 42^e jour donne une réponse définitive.

L'important n'est pas de savoir s'il existe ou non des bacilles résistants, car il en existe dans toute population normale nombreuse, mais de savoir si la population des bacilles résistants est normale ou anormale.

Une souche normale de bacilles tuberculeux est sensible aux principaux antibiotiques, antituberculeux : (isoniazide, streptomycine, ethambutol, rifampicine, ...).

La sensibilité au TCH s'effectue en même temps que le test de sensibilité aux antibiotiques. Seules les souches normales de M. tuberculosis poussent sur le milieu imprégné.

Mais rappelons que la résistance à l'INH entraîne une résistance croisée au TCH. Le comportement d'une souche vis à vis du TCH ne peut être interprété que si son comportement vis à vis de l'INH est connu.

Seul Mycobacterium bovis INH sensible et le BCG sont sensibles au TCH. Les souches de BCG sont naturellement résistantes à la cycloserine. Les mycobactéries atypiques sont résistantes au P.A.S.

Mycobacterium bovis a une résistance naturelle partielle au PAS et au Tb₁, totale au Pyrazinamide.

**RESULTATS DISCUSSIONS
CONCLUSIONS**

VII. RESULTATS

Notre travail a eu lieu dans le laboratoire de référence de la tuberculose à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) d'octobre 1993 à Avril 1996.

Il convient néanmoins de distinguer cette période en deux parties :

- Octobre 1993 à Mars 1995 : où nous avons travaillé au ralenti par manque de réactifs et de matériels pour assurer le fonctionnement normal du laboratoire de la tuberculose; seulement 114 cultures positives ont été obtenues parmi lesquelles 7 ont été testées aux antituberculeux .
- Avril 1995 à Avril 1996 : où le laboratoire a fonctionné normalement, nous permettant de faire des cultures et les tests de sensibilités de façon adéquate.

1. Les produits pathologiques étudiés :

Nous avons étudié 780 produits pathologiques repartis de la façon suivante: (tableau XVIII)

TABLEAU XVIII: Répartition des produits pathologiques d'octobre 93-avril 96

PRODUITS PATHOLOGIQUES	NOMBRE	POURCENTAGE
Crachats	702	90
Aspirations bronchiques	3	0.38
Tubages gastriques	3	0.38
Pus	30	3.85
Urines	11	1.41
Liquides de ponction	31	3.97
	<u>780</u>	<u>100</u>

TABLEAU XVIII-1: Répartition des produits pathologiques d'octobre 93-mars 95

PRODUITS PATHOLOGIQUES	NOMBRE	POURCENTAGE
Crachats	333	88,10
Aspirations bronchiques	1	0,26
Tubages gastriques	1	0,26
Pus	19	5,03
Urines	4	1,06
Liquides de ponction	20	5,29
	<hr/> 378	<hr/> 100

TABLEAU XVIII-2: Répartition des produits pathologiques d'avril 95-avril 96

PRODUITS PATHOLOGIQUES	NOMBRE	POURCENTAGE
Crachats	369	91,79
Aspirations bronchiques	2	0,50
Tubages gastriques	2	0,50
Pus	11	2,74
Urines	7	1,73
Liquides de ponction	11	2,74
	<hr/> 402	<hr/> 100

1.1. Repartition des produits pathologiques en fonction de leur provenance :

Les produits pathologiques provenaient essentiellement du dispensaire antituberculeux (DAT) et l'Hopital du Point G (Tableau XIX)

Tableau XIX: Répartition des produits pathologiques en fonction de leur provenance

Produits pathologiques	PROVENANCE			TOTAL
	DAT	HPG	AFS	
Crachats	463	176	63	702
Tubage gastrique	1	1	1	3
Aspiration bronchique	3	0	0	3
Pus	8	15	7	30
Liquide de ponction	2	16	13	31
Urine	3	3	5	11
Total	480	211	89	780

1.2 Repartition des produits pathologiques en fonction de la catégories de malades :

Ils proviennent en majorité des nouveaux malades(tableau xx)

Tableau XX: Repartition des produits pathologiques en fonction de la catégorie des malades

Produits pathologiques	Nouveaux	Anciens	Total
Crachats	562	140	702
Autres	78	0	78
Total	640	140	780

1.3 Répartition des produits pathologiques en fonction de l'âge des patients :

L'âge a pu être déterminé pour 523 patients (tableau XXI)

Tableau XXI : Répartition des produits pathologiques en fonction de l'âge des malades

Tranches d'âge (ans)	Produits pathologiques						Total
	Crachats	Aspirations bronchiques	Tubages gastriques	Pus	Liquides de ponction	Urines	
0 à 9	2	1	1	2	1	0	7
10 à 19	23	0	0	5	2	1	31
20 à 29	115	0	0	2	5	2	124
30 à 39	145	0	0	3	5	1	154
40 à 49	87	0	0	0	2	2	91
50 à 59	64	0	0	2	0	0	66
60 à 69	25	0	0	1	0	0	20
70 à 79	18	0	0	0	0	0	18
80 à 89	4	0	0	0	1	0	5
90 à 99	1	0	0	0	0	0	1
indeterminé	218	2	2	15	15	5	257
TOTAL	702	3	3	30	31	11	780

Nous avons le plus grand nombre de patients dans les tranches d'âge de 20 à 49 ans qui est l'âge de la productivité.

1.4 Répartition des produits pathologiques en fonction du sexe des malades (tableau XXII)

Tableau XXII : Repartition des produits pathologiques en fonction du sexe des malades

Produits pathologiques	SEXE		Total
	Masculin	Feminin	
Crachats	495	207	702
Aspiration brochique	0	3	3
Tubage gastrique	2	1	3
Liquides bronchiques	20	11	31
Pus	20	10	30
Urines	9	2	11
Total	546	234	780

Sexe ratio = 2,33 hommes pour une femme.

La tuberculose est en effet plus fréquente chez l'homme (104).

2. Résultats de la bacilloscopie :

Parmi les 780 prélèvements, 388 (soit 49,74 %) étaient positifs à la bacilloscopie directe et 70 supplémentaires après homogénéisation ; soit un total de 458 (soit 58,72 %) produits pathologiques positifs à la bacilloscopie.

2.1 Résultats de la bacilloscopie en fonction de la nature du produit pathologique: (tableau XXIII)

Tableau XXIII : Résultats de la bacilloscopie en fonction de la nature du produit pathologique.

Produits pathologiques	Nombre total	BACILLOSCOPIE					
		Directe positive		Positive après homogénéisation		Positive avant et après homogénéisation	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Crachats	702	387	55,13	68	9,69	455	64,81
tubage gastrique	3	0	00	0	00	0	00
aspiration bronchique	3	0	00	0	00	0	00
Pus	30	0	00	2	6,67	2	6,67
Urines	11	0	00	0	00	0	00
Liquides de ponction	31	1	3,22	-	-	1	3,22
Total	780	388	49,74	70	8,87	458	58,72

- : homogénéisation non faite car non nécessaire

Ce tableau montre que l'homogénéisation relève d'environ 10% le taux de positivité des crachats; par ailleurs, pour les pus, les échantillons positifs l'ont été après homogénéisation.

2.3 Résultats de la bacilloscopie en fonction de la catégorie des malades :
(tableau XXIV)

Tableau XXV : Résultat de la bacilloscopie en fonction de la catégorie des malades

Bacilloscopie	Catégorie des malades				Total	Pourcentage
	Nouveaux		Anciens			
	Nombre	%	Nombre	%		
Positive	310	48,44	78	55,71	388	49,7
Positive après homogénéisation	61	9,53	9	6,43	70	9,0
Négative	269	42,03	53	37,86	322	41,3
Total	640	100	140	100	780	100

55,71% des anciens malades sont positifs à la bacilloscopie directe ; 48,44% chez les nouveaux patients

3. Culture

Nous avons fait la culture de 780 produits pathologiques sur milieu Loewenstein-Jensen. Nous avons préparé nous mêmes les milieux au laboratoire de bactériologie de l'INRSP. L'utilisation du milieu L.J. additionné de pyruvate a été interrompue par manque de pyruvate.

3.1 Résultats des cultures en fonction des périodes:

Tableau XXV : Culture pendant la première période (octobre 1993 à mars 1995)

Culture	Nombre de cas	pourcentage
Positive	114	31,16
Négative	76	20,10
Contaminée	188	49,74
Total	378	100%

Tableau XXVI : Culture pendant la deuxième période (avril 1995 à avril 1996)

Culture	Nombre de cas	pourcentage
Positive	178	44,28
Négative	156	38,80
Contaminée	68	16,92
Total	402	100%

3.2 Positivité de la culture en fonction de la nature du produit pathologique:

La tuberculose peut atteindre tous les organes.

Tableau XXVII : Positivité de la culture en fonction de la nature du produit pathologique

PRODUITS PATHOLOGIQUES	NOMBRE	CULTURE POSITIVE	
		NOMBRE	POURCENTAGE
Crachat	702	281	40,03
Urine	11	2	18,18
Pus	30	9	30
Liquide de ponction	31	0	0,00
Aspiration bronchique et tubage gastrique	6	0	0,00
TOTAL	780	292	37,44 %

Ce tableau montre que les crachats sont les plus représentés dans les cultures positives (281/292) suivis des pus et des urines. Les liquides de ponction, les produits d'aspiration bronchique et de tubage gastrique n'ont pas donné de culture positive.

3.3 Résultats de la culture en fonction du résultat de la bacilloscopie :

Tableau XXVIII: Résultats de la culture en fonction de la bacilloscopie

Culture	Bacilloscopie				Total
	positive		négative		
	Nombre	%	Nombre	%	
Positive	263	81,93	29	14,28	292
Négative	58	18,07	174	85,71	232
Total	321	100	203	100	524

Tableau XXVIII-1: culture en fonction de la bacilloscopie d'octobre 93-mars 95

Culture	Bacilloscopie				Total
	positive		négative		
	Nombre	%	Nombre	%	
Positive	106	73,10	8	17,78	114
Négative	39	26,90	37	82,22	76
Total	145	100	45	100	190

Tableau XXVIII-2: culture en fonction de la bacilloscopie d'avril 95-avril 96

Culture	Bacilloscopie				Total
	positive		négative		
	Nombre	%	Nombre	%	
Positive	157	89,20	21	13,29	178
Négative	19	10,80	137	86,71	156
Total	176	100	158	100	334

4. Identification

Nous avons seulement pu faire les tests d'identification de 92 souches réparties comme suit : 70 Mycobacterium tuberculosis (76,09%) ; 16 Mycobacterium africanum (17,39 %) et 6 mycobactéries atypiques (06,52 %). Nous n'avons pas trouvé de Mycobacterium bovis.

Tableau XXXI : Identification des mycobactéries

SOUCHES	Nombre	Pourcentage
<u>M. tuberculosis</u>	70	76,09
<u>M. africanum</u>	16	17,39
M. atypiques	6	6,52
TOTAL	92	100%

5 Sensibilité

Nous avons fait 192 antibiogrammes, mais seulement 130 (soit 67,71 %) ont pu être interprétés, dont 31 anciens malades et 99 nouveaux malades. Nous avons testé la sensibilité des souches à 5 antibiotiques qui sont INH - Streptomycine - Rifampicine - Ethambutol et Thioacétazone (Tb₁).

La sensibilité pour les 130 souches a été déterminée sur les 4 premiers antibiotiques mais seulement 83 ont été testées sur la thioacétazone.

5.1 La résistance primaire

C'est la résistance chez un nouveau malade qui n'a jamais reçu un traitement antituberculeux. Elle est la conséquence de la contamination des sujets sains par des porteurs de bacilles résistants. La résistance primaire peut être simple (monorésistance = résistance à un seul antibiotique) ou multiple (polyrésistance).

Nous avons pu déterminer la sensibilité pour les souches provenant de 99 nouveaux malades à l'INH ; la Rifampicine, - la Streptomycine et l'Ethambutol, cependant la Thioacétazone n'a pu être testée que sur 65 souches, car le produit a été reçu tardivement.

Tableau XXX : Résultat de l'étude de la résistance primaire

PROFIL DE RESISTANCE	NOMBRE TOTAL	RESISTANCE	
		NOMBRE	POURCENTAGE
INH seul	99	16	16,16 %
Streptomycine seule	99	9	9,09 %
Rifampicine seule	99	0	0
EMB seul	99	1	1,01 %
TB ₁ seule	65	4	6,15 %
HS	99	3	3,03 %
HR	99	1	1,01 %
HT	65	1	1,54 %
HSR	99	1	1,01 %
HST	65	1	1,54 %
HSRE	99	2	2,02 %
HSRET	65	1	1,54 %
TOTAL	99	40	40,40 %

Nous avons trouvé 59 souches (soit 59,60) sensibles à tous les antibiotiques.

La résistance primaire semble être dominée par la monorésistance surtout celle à l'Isoniazide, à la Streptomycine et à la Thioacétazone avec les taux de résistance respectifs suivants : 16,16 % ; 9,09 % et 6,15 %.

Nous n'avons trouvé aucune résistance primaire simple à la rifampicine.

30 souches (30,30 %) présentent la monorésistance et 10 (10,10%) une polyrésistance. Tous les phénotypes de polyrésistance comporte de l'INH.

5.2 La résistance chez les anciens malades:

La résistance secondaire dite résistance acquise est la résistance apparue au cours du traitement chez un sujet qui auparavant hébergeait des bacilles sensibles. Elle est la conséquence de la sélection des mutants résistants dans une population normale de bacilles tuberculeux par une antibiothérapie inadéquate.

Notre étude a porté sur les malades déjà traités mais n'ayant pas favorablement répondu au traitement.

D'une manière générale, nous avons déterminé la sensibilité aux antituberculeux des souches provenant de 31 anciens malades.

Tableau XXXIa : Phénotypes de la résistance chez les anciens malades

PHENOTYPE DE RESISTANCE	NOMBRE TOTAL	NOMBRE DE RESISTANT	POURCENTAGE DE RESISTANT
INH seul	31	5	16,12 %
Streptomycine seule	31	2	06,45 %
TB ₁ seule	18	2	11,11 %
HS	31	1	03,22 %
HR	31	1	03,22 %
HT	18	1	05,55 %
HSR	31	4	12,90 %
HSE	31	1	03,22 %
HST	18	2	11,11 %
SRE	31	1	03,22 %
HSRE	31	6	19,35 %
HRET	18	1	05,55 %
HSRET	18	2	11,11 %

Tableau XXXIb :Résumé des phenotypes de la résistance chez les anciens malades

PHENOTYPES DE RESISTANCE	RAPPORT	POURCENTAGE
Sensible à tous les antibiotiques	2/31	6,45
Résistant à 1 antibiotique	9/31	29,03
Résistant à 2 antibiotiques	3/31	9,68
Résistant à 3 antibiotiques	8/31	25,81
Résistant à 4 antibiotiques	7/31	22,58
Résistant à 5 antibiotiques	2/31	6,45

Ce tableau montre que la multirésistance à l'INH, Streptomycine, Rifampicine et l'Ethambutol est le phénotype de résistance acquise le plus fréquent ; ensuite celle à l'INH, la Streptomycine, la Rifampicine avec 12,90 % ; puis la résistance au 5 antibiotiques avec 11,11 %.

La résistance simple, la plus fréquente est celle à l'isoniazide avec (16,12 %) puis à la thioacétazone (11,11 %) et à la Streptomycine (6.45%). Il n'y a pas de résistance simple à la Rifampicine ni à l'Ethambutol.

5.2.1 La résistance chez les malades en cours de traitement

Parmi les anciens malades 13 étaient en cours de leur premier traitement. Ces malades avaient en fait plus de deux mois de traitement mais sont restés encore positifs à la bacilloscopie.

Tableau XXXIIIa : Phénotype de résistance chez les malades en cours de traitement

PROFIL RESISTANCE	NOMBRE TOTAL	NOMBRE DE RESISTANT	POURCENTAGE DE RESISTANT
INH seul	13	2	15,38
Streptomycine seule	13	1	07,69
Rifampicine seule	0	0	0
TB ₁ seule	8	1	12,50
HR	13	1	07,69
HT	8	1	12,50
HSR	13	1	07,69
HSE	13	1	07,69
HST	8	1	12,50
SRE	13	1	07,69
HSRE	13	3	23,08

Tableau XXXIIb :Résumé des phenotypes de la résistance chez les malades en cours de traitement

PHENOTYPES DE RESISTANCE	RAPPORT	POURCENTAGE
Sensible à tous les antibiotiques	0/13	0,00
Résistant à 1 antibiotique	4/13	30,77
Résistant à 2 antibiotiques	2/13	15,38
Résistant à 3 antibiotiques	4/13	30,77
Résistant à 4 antibiotiques	3/13	23,08

Il est à remarquer que toutes les souches présentent une résistance. Il existe aussi des cas de monorésistances à l'Isoniazide (15,38 %) à la Tb₁ (12,05 %), à la Streptomycine (7,69 %).

Les 3 malades résistants à la fois aux 4 antibiotiques, vont inéluctablement vers un échec de traitement car ils sont tous traités par le régime court de 8 mois (2HRSE/6TH).

Pour les 4 souches résistantes à 3 antibiotiques ; 2 étaient à 6 mois de traitement, 1 à 3 mois de traitement et 1 à 4 mois de traitement, vont eux aussi probablement vers un échec de traitement.

Il est donc nécessaire d'envisager pour le retraitement de ces malades de nouveaux antibiotiques tels que les fluoroquinolones molécules actives sur les souches devenues résistantes aux antituberculeux classiques (24) et actuellement couramment utilisés dans le traitement de la tuberculose dans d'autres pays.

Quant aux monorésistants, 2 sont à 3 mois de traitement et 1 à 4 mois de traitement. Ces cas semblent être des malades qui n'ont pas régulièrement suivi leur traitement. Ils doivent être sensibilisés, en leur montrant qu'une amélioration de leur état de santé ne signifie pas guérison.

5.2.2 Les malades en retraitement

Ils sont au nombre de 18, dont 4 pour rechute et 2 pour reprise. Les autres sont en retraitement pour non négativation des expectorations au bout du premier traitement.

Pour les 2 cas de reprise, les patients avaient abandonné leur premier traitement . L'un était sensible à tous les 5 antibiotiques et l'autre était résistant à la thioacétazone seulement.

Tableau XXXIIIa : Phénotype de résistance chez les malades en retraitement

PHENOTYPE	NOMBRE TOTAL	NOMBRE RESISTANT	POURCENTAGE
INH seul	16	3	18,75
Streptomycine seule	16	1	6,25
HS	16	1	6,25
HSR	16	3	18,75
HST	8	1	12,50
HSRE	16	3	18,75
HRET	8	1	12,50
HSRET	8	2	25

Tableau XXXIIIb : Résumé des phénotypes de la résistance chez les malades en retraitement

PHENOTYPES DE RESISTANCE	RAPPORT	POURCENTAGE
Sensible à tous les antibiotiques	1/16	6,25
Résistant à 1 antibiotique	4/16	25,00
Résistant à 2 antibiotiques	1/16	6,25
Résistant à 3 antibiotiques	4/16	25,00
Résistant à 4 antibiotiques	4/16	25,00
Résistant à 5 antibiotiques	2/16	12,50

Il y a un cas de rechute qui est sensible à tous les antibiotiques; ce serait probablement une nouvelle contagion. Il y a aussi 4 cas de monorésistance dont 2 cas de rechute résistants à l'Isoniazide qui sont peut être due à une nouvelle contagion.

Les monorésistances à l'INH et à la Streptomycine, qui sont en retraitement pour non négativation des crachats, seraient dues à des traitements irréguliers par ces malades.

Quant aux polyrésistants, ce sont les cas d'échec de traitement qu'il faut traiter avec de nouvelles molécules antituberculeuses.

5.3 Comparaison

5.3.1 Comparaison de la résistance primaire et la résistance chez les anciens malades:

Tableau XXXIV Comparaison de la résistance primaire et la résistance chez les anciens malades

PHENOTYPE DE RESISTANCE	POURCENTAGE DE RESISTANCE PRIMAIRE	POURCENTAGE DE RESISTANCE CHEZ LES ANCIENS MALADES
INH (H)	16,16%	16,12%
Streptomycine (S)	9,09%	6,45%
Rifampicine (R)	00,00%	00,00%
Ethambutol (E)	1,01%	00,00%
Thioacetazone (T)	6,15%	11,11%
HS	3,03%	3,22%
HR	1,01%	3,22%
HT	1,54%	5,55%
HSR	1,01%	12,90%
HSE	00,00%	3,22%
HST	1,54%	11,11%
SRE	00,00%	3,22%
HSRE	2,02%	19,35%
HRET	00,00%	5,55%
HSRET	1,54%	5,55%

La résistance primaire comporte essentiellement la monorésistance H, S et T et accessoirement l'association HS.

La résistance chez les anciens malades comporte les mêmes monorésistances signalées dans la résistance primaire mais aussi la polyrésistance portant sur HST et même R et E.

Ce tableau montre qu'il y a environ 16 % de résistance de part et d'autre à l'Isoniazide. Mais pour les autres cas, il semble que la monorésistance est plus fréquente dans la résistance primaire que dans la résistance chez les anciens malades exception faite pour la Tb₁.

La polyrésistance est plus fréquente chez les tuberculeux qui ont déjà fait un traitement antituberculeux. En effet, la polyrésistance acquise est plus fréquente que la résistance primaire. C'est aussi dans ce groupe qu'on trouve de nouveaux phénotypes de résistance tels que : HSE ; SRE et HRET qui n'existent pas dans la résistance primaire.

5.3.2 Comparaison entre les malades au cours de traitement et les malades en retraitement

Tableau XXXV : comparaison de la résistance chez les malades en cours de traitement et chez les malades en retraitement.

PHENOTYPE DE RESISTANCE	MALADES EN COURS DE TRAITEMENT	MALADES EN RETRAITEMENT	TOTAL
INH	2	3	5
Streptomycine	1	1	2
TB ₁	1	0	1
HS	0	1	1
HR	1	0	1
HT	1	0	1
HSR	1	3	4
HSE	1	0	1
HST	1	1	2
SRE	1	0	1
HSRE	3	3	6
HRET	0	1	1
HSRET	0	2	2
	13	15	28

Ce tableau montre qu'il y a 8 cas de monorésistance (soit 25,81 %) qui peuvent être traités facilement, en plus du cas de rechute sensible à tous les antibiotiques et les 2 cas de reprise soit 11 cas (35,48 %) d'anciens malades qui peuvent être guéris ; par le schéma de retraitement.

En ce qui concerne les cas de polyrésistance, leur traitement semble être délicat, il faut envisager de nouvelles molécules antituberculeuses.

VIII DISCUSSIONS

L'examen direct, la culture, l'identification et les tests de sensibilité ont été faits par nous-mêmes au service de bactériologie à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) à Bamako.

A. DISCUSSIONS DE LA METHODE

La méthodologie a consisté à faire la bacilloscopie, la culture, l'identification et l'antibiogramme.

Bacilloscopie

Elle est la méthode la plus simple et la plus rapide du dépistage de la tuberculose ; mais elle n'est pas très sensible il faut au moins 10.000 bacilles/ml du produit pathologique pour qu'elle soit positive dans 90 % des cas (99).

Elle n'est pas aussi spécifique en effet la bacilloscopie permet de voir seulement les B.A.A.R. ; qu'ils soient tuberculeux ou non, morts ou viables.

En plus de cela, la méthode de fluorescence peut donner des faux positifs à cause de la présence d'éléments acido-alcool-résistants excitables par la lumière dans certains produits pathologiques.

La culture :

Elle est plus sensible que la bacilloscopie, car tout bacille viable donnera naissance à une colonie. Son exécution pose un certain nombre de problèmes.

- la décontamination qui entraîne des pertes de bacilles pouvant donner ainsi des résultats faussement négatifs pour les prélèvements paucibacillaires. Ce qui pose le problème de diagnostic des tuberculoses extrapulmonaires (surtout des lésions non fermées) ;
- une mauvaise décontamination peut entraîner la contamination de la culture ;
- la durée est relativement longue ce qui demande une mobilisation plus longue du matériel ; en plus de la lenteur des résultats.

L'Antibiogramme :

La méthode des proportions reste la méthode classique de l'antibiogramme mais elle est lente et demande beaucoup de matériels.

B. DISCUSSIONS DES RESULTATS

1. Examen direct

- sur 780 prélèvements 388 (soit 49,74 %) étaient positifs à la bacilloscopie directe ; 70 supplémentaires étaient positifs après homogénéisation, donc la microscopie était positive à 58,72 %. Ce taux de positivité à la microscopie est inférieure à celui de Guindo (41) qui avait 339 positifs sur 404 (soit 83,91 %) produits pathologiques ; à celui de Ba (4) qui avait 67,39% de positifs à la bacilloscopie

L'homogénéisation a donc relevé le taux de pourcentage de la positivité des expectorations. Cette constatation ne concorde pas avec celle de Ba (4) qui avait trouvé les résultats identiques avant et après l'homogénéisation.

On a le plus grand nombre de positivité avec les crachats, cela n'est pas étonnant quand on sait que les crachats représentent plus de 90 % de produits pathologiques étudiés. En plus de cela, la tuberculose pulmonaire est responsable de la contagion épidémiologique de la maladie. Guindo (41) avait 352 crachats sur 444 (soit 87,13%) produits pathologiques et Ba avait 442 crachats sur 460 (soit 96,09%) produits pathologiques.

La tuberculose pulmonaire est plus fréquente que les tuberculoses extra-pulmonaires.

- Dans notre étude 76,60 % des malades ont un âge compris entre 20 et 59 ans. En 1989 TANGARA (D) avait trouvé que 40 % des malades (96) avaient en âge compris entre 40 et 49 ans ; et 28 % entre 30 et 39 ans. Ce qui montre que la tuberculose touche surtout la couche la plus productive de la population.

Dans notre étude nous avons 640 produits pathologiques provenant de nouveaux patients et 140 (soit 17,95%) d'anciens malades

2. Cultures

Sur 780 cultures, dont 458 positives à la microscopie, nous avons eu 292 cultures positives. Ce taux faible de positivité de la culture est due à plusieurs facteurs.

Dans notre cas, il pourrait s'agir :

- la contamination des cultures pendant la première période de notre travail 49,74% (188) des cultures alors que dans la deuxième période nous n'avons eu que 16,92% de contamination;

- la bacilloscopie était négative pour 322 produits pathologiques ; pour ces cas négatifs seulement 29 avaient donné des cultures positives. Ce qui veut dire qu'on a fait la culture chez plusieurs patients qui ne sont pas des tuberculeux d'où un pourcentage faible de cultures positives.

- il y a aussi 58 produits pathologiques positifs à la bacilloscopie mais négatifs à la culture parmi lesquels 36 proviennent d'anciens malades donc on avait observé des bacilles non viables à l'examen microscopique.

- les méthodes de décontamination, surtout la méthode de Petroff à la soude qui semble être la méthode la plus brutale.

- du manque de coletsos et de milieu enrichi de Pyruvate. En effet, le pyruvate a été utilisé au début du travail. Comme il y avait beaucoup de contamination avec les milieux à pyruvate même à l'arrivé du matériel ; nous avons décidé de sursoir à l'utilisation du pyruvate.

3. Identification

Dans ce travail, nous avons identifié 70 Mycobacterium tuberculosis (76,01 %) ; 16 Mycobacterium africanum (17,04 %) et 6 Mycobacterium atypique (06,05 %). Nous n'avons pas identifié de Mycobacterium bovis.

Nous constatons que dans leurs travaux, Mr SANGARE (S) (87) avait trouvé 68,18 de M. tuberculosis et 29,54 % de M. africanum en 1981-1982 ; MAIGA (M.D) (65) trouvait 65 % de M. tuberculosis contre 32 % de M. africanum en 1982-1983 ; tandique BAH (4) a donné 95 % de M. tuberculosis contre 2,5 % de M. africanum et 2,5 % de M. atypiques en 1989.

Bien que nos résultats abondent dans le même sens, nous pensons que l'utilisation ininterrompue de pyruvate aurait pu changer le taux de M. africanum et de M. bovis.

Ces résultats déjà disponibles confirment la fréquence plus élevée de l'infection à M. tuberculosis par rapport à celles dues aux autres espèces de mycobactéries. En effet, en 1972-1973, Grosset et Coll trouvaient 67,50 % de M. tuberculosis ; en 1979-1980 TOURE et COLL trouvaient 67,20 % (102).

Des études similaires ont été faites dans d'autres pays et selon la publication de l'O.C.C.G.E N° 166/BIO-CM-7533/DOC-Techn 80, on note :

- en Mauritanie : sur 156 souches 67 M. tuberculosis (57 %) ; en 1979
- Au Niger à Niamey : sur 264 échantillons 54,4 % de M. tuberculosis ; en 1980
- Au Burkina Faso : sur 55 souches à Dori 49 % de M. tuberculosis ;
- En 1987, 67,04 % de M. tuberculosis contre 32,06 % de M. africanum ;
- En 1975 sur 429 cultures positives 68 % de M. tuberculosis contre 32 % de M. africanum ; en haute volta (Burkina faso)
- Au Togo : en 1981-1983 TOURE et Coll trouvaient 47,80 % de M. tuberculosis contre 48,25 % de M. africanum (104).

En Afrique Centrale et de l'Est, le taux de M. africanum reste encore élevé 60 à 90 % (102). M. africanum ne se trouvant pas en Afrique du Nord, apparait donc comme une espèce de l'Afrique Noire (41).

4. Antibiogrammes

Nous avons déterminé la sensibilité de 130 souches aux antituberculeux. Il y avait 99 nouveaux malades pour la détermination de la résistance primaire et 31 anciens pour la résistance secondaire.

4.1 Résistance Primaire

La résistance primaire à l'INH et à la Streptomycine est respectivement 16,16 % et 9,09 %. La résistance simple à ces deux antibiotiques les plus utilisés a fait l'objet de plusieurs études. En effet, GUINDO (A) (41) avait trouvé 22,70, % pour l'INH et 18,20 % pour la Streptomycine. La résistance à l'INH et/ou la Streptomycine (SM) a été trouvée dans 18 % des cas en 1972-1973 par Grosset et collaborateurs (39) dans 18 % des cas en 1981 par KOUMARE (B) ; Truffot (C) ; et Grosset (J) (56) ; dans 18,18, % des cas en 1981 par SANGARE S ; dans 22,41 % des cas par MAIGA en 1982 (65) et dans 23,26 % des cas pour BA (A) (4).

Dans notre étude, nous avons trouvé une sensibilité totale des souches à la Rifampicine, une résistance faible à l'Ethambutol (EMB) avec 1,01 % ; et une monorésistance primaire à la thioacétazone à 6,15 %.

Tableau XXXVI : Evolution de la résistance primaire à certains antibiotiques (INH; SM et Rifampicine) au Mali de 1972 à 1991.

Auteurs	1972-73 Grosset et Coll (39)	1979-80 Touré (IM) (102)	1980-81 Touré (IM) (103)	1981-82 Sangaré S(87)	1980-82 Touré (101)	1982-83 Maïga (MD) (65)	1989-90 Ba (A) (4)	1990-91 Guindo (A) (41)	1993-96 Ce Travail
Antibiotiques									
INH seul	-	-	35 %	10,10%	15,05	12,06 %	23,26 %	22,70%	16,16 %
SM seule	-	-	33,03 %	05,10 %	19	05,17 %	20,93 %	18,20 %	09,09 %
INH et SM	-	-	-	20,80 %	9,5	09,17 %	18,60 %	18,20 %	03,03 %
INH et/ou SM	18 %	30 %	16 %	18,18 %	-	22,41 %	23,26 %	22,70 %	-
Rifampicine	-	-	03,03 %	01,40 %	3,5	01,72 %	02,32 %	02,70 %	00,00 %

Nos résultats sont plus faibles que ceux de GUINDO (A) (41) qui avait 22,70 % pour l'INH ; 18,20 % pour la Strepto en 1990, mais semblent confirmer, ceux de MAIGA (MD) (65) et TOURE (I.M) (101) qui ont respectivement trouvé pour l'INH 12,06 % et 15,05 %.

Dans notre étude, nous avons eu une sensibilité totale à la Rifampicine et une résistance très faible à l'Ethambutol. Ces résultats corroborent ceux de GUINDO (A) (41) qui avait trouvé 02,70 % de résistance à la Rifampicine et 0 % à l'Ethambutol.

Nos résultats sont les plus faibles par rapport aux derniers résultats. Exemple : GUINDO (A) (41) avait 22,72 % de résistance à l'INH alors que nous avons 16,16 %.

Pour la SM nous avons 9,09 % alors que GUINDO avait eu 18,20 %; BA (A) (4) avait 20,93 %.

Nos résultats abondent dans le même sens que TOURE (101) qui avait conclu dans une étude en 1981 que la résistance primaire aux antibiotiques diminue d'année en année.

Tableau XXXVII : la résistance primaire par antibiotique dans certains pays de l'Afrique de l'Ouest.

Années	Pays	Auteurs	Nbre de souches	% de Résistance aux ATB				
				INH	SM	TB ₁	Rif	EMB
1966	Haute-Volta	Albert (2)	101	13	18	-	-	-
1967	"	Albert	115	14,8	22,6	-	-	-
1967	Sénégal	Sarrat (88)	202	20	10,4	-	-	-
1970	Haute-Volta	Albert (2)	109	20,2	21,1	-	-	-
1971	"	"	88	18,1	14,7	-	-	-
1974-77	Côte d'Ivoire	Rondant (84)	318	10,4	13,51	-	-	-
1975-76	Mauritanie	Villon (110)	90	13,3	20,0	-	-	23,9
1975	Sénégal	Desouza (23)	638	18,4	18,7	18,4	-	-
1977	Côte d'Ivoire	Rondant (84)	583	5,6	8,8	-	-	-
1977	Haute-Volta	Rey (83)	-	19,5	23,9	25,8	-	-
1978	"	Rey (83)	-	8,7	6,5	47,8	-	-
1980	Mali	Touré (103)	120	35,0	33,3	31,7	3,9	39,2
1980-87	"	Touré (101)	116	15,5	19	24,1	3,5	36,2
1981	"	Sangaré (87)	33	11,1	5,5	-	1,4	-
1981-83	Togo	Touré (104)	227	19,82	29,07	30,97	7,49	-
1982	Mali	Maïga (65)	58	12,06	5,17	-	1,72	-
1989-90	"	Ba (4)	43	23,26	20,93	20,93	2,33	9,30
1989-90	"	Touré (101)	98	6,1	7,1	16,3	1,1	32,7
1990-91	"	Guindo (41)	44	22,70	18,20	-	2,70	0
1995	Côte d'Ivoire	Maurice (18)	105	21	12	-	-	-
1993-95	Mali	Ce travail	99	16,16	09,09	6,15	0	1,01

N.B : Haute-Volta (actuel Burkina Faso)

L'examen de ce tableau fait ressortir les points suivants :

- la fréquence de la résistance primaire est variable d'un pays à l'autre.
- au Mali : la fréquence varie d'une étude à l'autre et surtout d'une année à l'autre ;
- dans la majorité des cas :
 - * de 1966 à 1977 : la résistance à la Streptomycine est plus élevée que celle à l'INH, sauf en 1967 au Sénégal (20 % pour l'INH contre 10,04 % pour la SM) et en 1971 en Haute-Volta (18,18 pour l'INH contre 14,07 pour la SM).
 - * de 1978 à 1996 : c'est la phénomène contraire que l'on constate ; c'est à dire que la résistance à l'INH est plus élevée que celle à la SM, sauf au Togo où TOURE (IM) trouvait la résistance à la SM (29,07 %) plus élevée que celle à l'INH (19,82 %). En ce qui concerne notre travail nous avons eu 16,16 % pour l'INH et 9,09 % pour la Streptomycine.

En 1987 la résistance primaire était 7% à la Streptomycine, 4 % à l'INH, 0,02 % à l'Ethambutol et 0,05 % à la Rifampicine (85) en France.

La résistance est de l'ordre de 8 % en Algérie pour l'INH et la Streptomycine (65).

La Polyresistance primaire

tableau XXXVIII : Etude comparative de la polyrésistance primaire dans certains pays de l'Afrique de l'Ouest (41)

Années	Pays	Auteurs	Nombre de souches étudiées	% de Résistance aux associations d'ATB				
				INH+SM	H+TB ₁	H+Rif	H+SM+Rif	H+SM+TB ₁
1966	Côte d'Ivoire	Delormas (51)	130	-	4,7	-	-	-
1973	Sénégal	N'Diaye (74)	16	6,2	6,2	-	-	-
1974	Côte d'Ivoire	Rondant (84)	318	2,2	0,65	-	-	-
1974	Sénégal	N'Diaye (74)	32	9,3	6,2	-	-	-
1975	"	"	116	6	4,3	-	-	-
1975-76	Mauritanie	Villon (110)	90	23,0	-	-	-	-
1976	Sénégal	N'Diaye (74);	71	7	2,8	-	-	-
1977	"	"	66	0	0	-	-	-
1978	"	"	99	10	4	-	-	-
1981	Mali	Sangaré (87)	33	18,18	-	-	1,4	-
1980-82	"	Touré (101)	116	9,5	10,3	1,7	-	7,8
1981-83	Togo	" (104)	227	6,25	2,34	0,78	10	1,56
1982	Mali	Maïga (65)	58	5,17	-	-	-	-
1989-90	"	Ba (4)	43	18,60	13,95	0	2,33	13,95
1989-90	"	Touré (101)	98	6,1	6,1	1,0	-	3,1
1990-91	"	Guindo (41)	44	18,20	-	-	2,70	-
1993-96	Côte d'Ivoire	Maurice (18)	105	-	-	5	-	-
1993-96	Mali	Ce travail	99	3,03	1,54	1,0	1,01	2,02

Ce tableau montre que la polyrésistance concerne surtout l'INH et les autres antibiotiques et principalement l'INH et SM qui sont les antibiotiques les plus utilisés.

Mais aussi, il y a une résistance à la Rifampicine et l'Isoniazide 01,01 % dans notre étude. Ces antibiotiques jouent un rôle majeur du fait de leur pouvoir bactéricide, en effet, la résistance à deux de ces antibiotiques compromet gravement les chances de guérison.

A cet égard, il est intéressant de noter que les études de Mitchison (présentées à la 25^e Conférence Mondiale de l'U.I.C.T. à Buenos Aires en 1982) ont montré qu'une résistance simple à l'INH ou à la Streptomycine a peu d'effet nefaste sur la réussite du traitement. Par contre une résistance double à l'INH et Streptomycine expose à des échecs lors des polychimiothérapies conformément au tableau suivant.

Tableau XXXIX :

SOUCHES RESISTANTES A	MALADES TRAITES	ECHEC DU TRAITEMENT
INH seul	21	0/21
Streptomycine seule	32	0/32
INH et SM	22	8/22

4.2 Résistance chez les anciens malades

L'analyse et l'interprétation des résultats des test de sensibilité, nous permet de faire les remarques suivantes :

- * le taux de résistance secondaire est très élevé, sur les 31 souches testées, 29 sont résistantes à un antibiotique au moins soit 93,55 %. Ce résultat même s'il est élevé, reste inférieur à celui de TANGARA (D) (96) qui avait trouvé 96 %.

Mais comme le résultat de TANGARA (96) ; celui-ci pose le problème des échecs de traitement car nous avons une résistance primaire de l'ordre de 40,40 % (40 souches résistance sur 99) pour une résistance de 93,55% chez les anciens malades.

- * Il s'agit le plus souvent d'une polyrésistance. En effet, sur les 29 souches résistantes, 20 présentent une polyrésistance. Une polyrésistance qui est marquée par une résistance à l'Isoniazide et d'autres antituberculeux.

L'INH est présent dans tous les phénotypes de résistance (exception faite pour 1 seul cas de phénotype SRE).

- * La polyrésistance à 2 antibiotiques est observée dans seulement 3 cas ; et à 3 antibiotiques dans 8 cas sur 20 et à 4 antibiotiques au moins dans 9 cas.

Ce phénomène de polyrésistance est très inquiétant, et compromet gravement les chances de guérison de ces malades.

IX Conclusion

A l'issue de cette étude sur la résistance du bacille tuberculeux au Mali, entreprise à Bamako au Laboratoire de Bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) nous avons réussi à collecter 780 prélèvements de produits pathologiques qui provenaient essentiellement du DAT et de l'Hôpital Point G. Ces 780 produits pathologiques étaient composés de 702 (90 %) crachats ; 31 (3,7 %) liquides de ponction ; 30 (3,85 %) pus ; 11 (1,41 %) urines ; 3 aspirations bronchiques et 3 (0,38 %) tubages gastriques.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

- sur les 780 produits pathologiques, 458 ont été positifs à la bacilloscopie ,
- nous avons eu 292 cultures positives soit 37,44 % ; parmi lesquelles nous avons pu faire l'identification de 92 souches dont 70 (76,09 %) M. tuberculosis ; 16 (17,39 %) M. africanum et 6 (6,52 %) M. atypiques. Nous n'avons pas rencontré de M. bovis,
- nous avons fait 192 antibiogrammes, mais seulement 130 (soit 67,71 %) ont pu être interprétés, dont 99 nouveaux malades et 31 anciens malades :

* parmi les 99 souches provenant de nouveaux malades (résistance primaire) 59 (soit 59,60 %) étaient sensibles à tous les antibiotiques testés. Nous avons obtenu les taux de résistance les plus élevés à l'INH (16,16 %) ; à la SM (9,09 %) et à la Thioacétazone (6,15 %). Nous avons trouvé une sensibilité totale des souches à la rifampicine seule. Pour la polyrésistance, nous avons eu le taux le plus élevé pour l'association INH-Streptomycine avec 3,03 % suivi de HSRE avec 2,02 % ;

* parmi les 31 souches provenant d'anciens malades 2 (6,15 %) sont sensibles à tous les antibiotiques testés ; 9 (29,03 %) souches monorésistantes et 20 (64,52 %) souches polyrésistantes. Parmi ces dernières, nous avons eu le taux le plus élevé pour l'association HSRE avec 19,35 % (6/31).

Par comparaison avec les résultats obtenus antérieurement, nous constatons que la résistance primaire tend à stabiliser et même à diminuer légèrement.

Etant donné que l'évolution du taux de résistance primaire permet de justifier l'efficacité de la lutte antituberculeuse dans un pays, nous pensons que les chiffres actuellement obtenus sont encourageants et engagent à poursuivre et intensifier les efforts actuellement consentis.

ANNEXES

BIBLIOGRAPHIE

1. ACTUS (E)

An uncommon pathogenic Mycobacterium.
Arch. Inst. Pasteur, Tunis, 1956, 33, 245-257

2. ALBERT (JP), MENARD (M), RETIF (M)

Résultats des antibiogrammes pratiqués sur les mycobactéries isolées au Centre Muraz en 1967 - 1968.
Med. Afr. Noire 1969 16, 425-426

3. AUDRIN (J)

L'isolement du bacille tuberculeux à partir des produits pathologiques surinfectés.
Thèse pharmacie Marseille 1955.

4. BA (A)

Nouvelle contribution à l'étude de la résistance primaire du bacille tuberculeux au Mali.
Thèse pharmacie Bamako 1989, N° 18

5. BARRY (V.C)

Development of the chemotherapeutic agent of tuberculosis in chemotherapy of tuberculosis.
Ed. Butte Worth London 1964 p. 46

6. BENNEDSEN (J.) T LARSEN (S.O)

Scandinavian of respiratory diseases , 47 ; 114 ; 1966

7. BOISVERT (H)

L'identification des mycobactéries par la recherche de l'acide nicotinique.
Ann. Inst. Pasteur 1960 99, 600-607.

8. BOISVERT (H)

L'ulcère cutané à Mycobacterium ulcerans.
Etude bactériologique.
Bull. Soc. Path. Exo, 1977, 70, 125-131.

9. **BOULAHBAL (F) , GROSSET (J)**

L'utilisation du bromure de cetyl pyridinium comme milieu de transport des crachats tuberculeux.

Ann. Inst. Pasteur Algérie 26.

10. **BOULAHBAL (F)**

Manuel technique pour la recherche du bacille tuberculeux au microscope (aspects techniques et économiques).

Inst. Pasteur Alger et Laboratoire Central de la tuberculose 1983.

11. **BRYAN LE, BEDARO (J)**

Impermeability to quinolones in Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Eur clin. Microbiol infect Dis 1991 ; 10 : 232-239

12. **CALMETTE (A)**

L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux.

Ed. Masson et Cie. Paris 1936 1024 p.

13. **CANETTI (G) ; GROSSET (J) ; CETRANGOLO (A)**

Une simplification technique de la méthode des proportions pour tests de sensibilité du bacille tuberculeux : l'emploi d'une anse de platine.

Arch. Inst. Pasteur Alger 1964 42 14-37.

14. **CANETTI (G) ; GROSSET (J)**

Techniques et indications des examens bactériologiques en tuberculose.

Edition de la Tourelle Saint-Mondé 1968.

15. **CANETTI (G) ; RIST (N) ; GROSSET (J)**

Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode de proportions : méthodologie, critères de résistance, résultats, interprétations.

Rev. tub. Pneum. 1963, 27 ; 217-272.

16. **CASTETS (M) ; RIST (N) ; BOISVERT (H)**

La variété africaine du bacille tuberculeux humain.

Med. Afri. Noire 1969 ; 16 321.

17. **CASTETS (M) ; BOISVERT (H) ; GRUMBACH (F) ; BRUNEL (N) ; RIST (N)**

Les bacilles tuberculeux, type africain.

Rev. tuber. Pneumol. Paris 1968, 32, 179-184.

18. **CHANTAL (M) ; ADAM (M.L) ; KOUASSI(J); COULIBALY (I.M)
COULIBALY (D) ; ABOUGU (L) ; SASSAN (M.D) ; WIHTOR (S) ; GREENBERG
(A.E.)**

La résistance aux antibiotiques de *Mycobacterium tuberculosis* à Abidjan
Côte d'Ivoire).

1^{er} Congrès Scientifique de la SOAMI p.49. N°1 tub

19. **CHAN W et AL**

Bulletin of the World Health organization.

45, 551, 1971.

20. **CLAVEL (S)**

Lysotypie du bacille tuberculeux dans quelques pays d'Afrique tropicale et en
Guadeloupe.

Rapports avec classification de *Mycobacterium africanum*

Ann. Sclavo, 1975, 571-577

21. **COLETSOS (P.J)**

Milieus et modalités de culture adaptés à la réanimation et à la multiplication, in
vitro de *Mycobacterium tuberculosis* de vitalité réduite, de viabilité éphémère ou en
état de quiescence.

Ann. Inst. Pasteur 1960 : 99, 475-495.

22. **C. PIERRE AUDIGIER**

Techniques biologiques récentes pour le diagnostic des infections a mycobactéries.

Pierre C. - Audigier

La Presse Médicale, 1994 25 , (14), 601-70

23. **DE SOUZA (V.C)**

Contribution à l'étude bactériologique, épidémiologique et immunologique de
Mycobacterium africanum

Thèse Médecine Dakar 1974, N° 8.

24. **DIALLOUX (M) ; PETIT PAIN (N) ; HENRY (C) ; WEBER (M)**

Détermination in vitro de la sensibilité des mycobactéries aux fluoroquinolones.

Path. Biol, 1989, 37, 5, 346-349.

25. **DICTIONNAIRE LAROUSSE**

Petit Larousse Ed. 1967 30^{ème} tirage.

- 26. DISPENSAIRE ANTITUBERCULEUX DE BAMAKO (DAT) MALI**
1. Directive pour le traitement de courte durée de nouveaux cas de tuberculose pulmonaire.
Manuel thérapeutique 1989. DAT Bamako (Mali)
 2. Directive pour le régime court de retraitement.
Manuel thérapeutique 1989. DAT Bamako (Mali).
- 27. DIVISION DE L'EPIDEMIOLOGIE DE BAMAKO (Mali)**
- Données épidémiologiques de morbidité et de mortalité de vingt maladies transmissibles.
Année 1989 Volume 1 Juin 1990.
- 28. DOMART (A) ; BOURNEUF (J.)**
- Nouveau Larousse médical 1981.
- 29 DOUMBIA (S)**
- Organisation de la chimiothérapie antituberculeux à l'échelle Nationale au Mali (à l'exclusion de la région de Kayes).
Thèse Médecine Bamako 1978 N° 17
- 30. DUVAL (J)**
- Antibiothérapie (bases bactériologique pour l'utilisation des antibiotiques)
J. Duval ; J. Soussy.
Paris - Masson 1977 - 1985 21^{ème} -180 p.
- 31. FELDMAN (W.H) et HINSHAW (H.C)**
- Proceedings of the staff meetings of the Mayo clinic.
19, 593 ; 1944.
- 32. FRANKEL (G)**
- L'infection bacillaire et la tuberculose.
Ed. Masson et Cie Paris 1936 16.
- 33. GERNEZ RIEUX (CH) ; TACQUET (A) ; DEVULDER (B) ; DE BRUYNLS (J)**
- Les mycobactérioses humaines. Méthodes actuelles de diagnostic bactériologique.
Aspects cliniques et épidémiologiques.
XVI^{ème} Congrès National de la tuberculose et des maladies respiratoires.
Bordeaux 1970. Ed. Masson Paris 1971.

34. GIROUND (JP) ; MATHE (G) ; MEYNIEL (G) et COLL

Pharmacologie clinique

Base de la thérapeutique.

2^{ème} édition - Expansion scientifique français 1988; p 1477-1481.

35. GROSSET (J)

Les principes bactériologiques des traitements de la tuberculose.

Bull. U.I.C.T. 1989 5 20-70.

36. GROSSET (J)

Hiérarchie des médicaments antibacillaires. Données biologiques.

XVII^{ème} Congrès National de la tuberculose et des maladies respiratoires

Clermont. Ferrand 1974 ; 3-25.

37. GROSSET (J)

Place des examens microbiologiques et anatomopathologiques dans la décision diagnostique et thérapeutique.

Méd. Mal. infect. : 1995, 25 - 327-33.

38. GROSSET (J) - BOISVERT (H)

Le bacille de Koch en 1987 Dr. J. Grosset

L'objectif médical

Edi. Afrique Noire - Francophone N° 47 Décembre 1987 p.42-64

39. GROSSET (J) ; SANGARE (S) ; RIST (N) ; MEYER (L)

Caractères cultureux et biochimiques des bacilles tuberculeux isolés chez 230 tuberculeux pulmonaires au Mali.

Bull. U.I.C.I.T 1974, 49 : 1990 - 200.

40. GROSSET (J) ; TRUFFOT (C)

Le laboratoire : son rôle dans le diagnostic et le traitement de la tuberculose.

Rev. Fr. Mal resp. 1989, 3 ; 1-100.

41. GUINDO (A)

Etude de la résistance aux antibiotiques antituberculeux des souches de bacilles hébergés par les malades tuberculeux à Bamako.

Thèse pharmacie (ENMP) Bamako Mali 1992-90

42. HOLST (E) et al.

Indian journal of medical research.

47, 495, 1959

43. HONORE (N) ; COLE (S.T.)

Molecular basis of rifampin resistance in Mycobacterium leprae.
Antimicrob. Ag. chemother. 1993 ; 37 : 414-8.

44. Honore (N) Cole (S.T.)

Streptomycin and mycobacteria ; the molecular basis of resistance in M tuberculosis. Antimicrob Agent chemother 1994; 38-238-42

45. HOOPER (DC) ; WOLFSON (S.)

Mode of action of the new quinolones : new data Encycl. Med. chir.
Infect Dis 1991 ; 10 : 223-231.

46. HUET (M) ; RIST (N)

Interêt des milieux au pyruvate pour la culture du bacille tuberculeux en Afrique Noire.
Bull U.I.C.T. 1973 43 : 97-102.

47. HUET (M) ; RIST (N) ; BOUBE (G) ; POITIER (D)

Etude bactériologique de la tuberculose au Cameroun
Rev. Tubercul. pneumol 1971, 35 : 413-426.

48. INSTITUT ALFRED FOURNIER

Cours International M.S.T et SIDA.
Paris 1995

49. INSTITUT PASTEUR (Division diagnostie)

Les mycobactéries : Recherche - identification et antibiogramme.
Production 1995.

50. JACOBS (Jr W.R.) ; BARLETTA (R.G.) ; UDANIR (R.) et al

Rapid assessment of drug susceptibilities by means of luciferase reporter phages.
Science 1993 ; 260- : 819-822.

51. KANGOYÉ (L.T)

Contribution à l'étude de la tuberculose de l'enfant en Afrique de l'Ouest.
thèse médecine Dakar 1976 N° 19.

52. KEITA (B)

Organisation du dépistage de la tuberculose pulmonaire à l'échelle nationale au Mali
(à l'exclusion des régions de Kayes et Tombouctou).
Thèse Médecine Bamako, 1979, N°21.

53. **KONNO (K) et Al**

Differentiation of human tubercle bacilli from atypical acid fast bacilli I - nacin production clinical application.
Ann. Rev. Resp. Dis. 1958, 77, 669-80.

54. **KOUMARE (B)**

Contribution à l'étude de la réduction des nitrates chez les mycobactéries.
Thèse de Doctorat d'Etat E.S Sciences Pharmaceutiques 1977, Paris

55. **KOUMARE (B) ; BOUGOUDOGO (F) ; DIAKITE (M)**

Résistance aux antibiotiques des souches de Mycobacterium tuberculosis isolés à Bamako (Mali)
(1er Congrès scientifique de la SOAMI à Bamako Mali).

56. **KOUMARE (B) ; TRUFFOT (C) ; GROSSET (J)**

Les espèces mycobactériennes isolées chez les tuberculeux pulmonaires au Mali et leur sensibilité aux antibiotiques.
Colloque Inst. Pasteur Février 1981.

57. **KUBICA (G.P.) et DYE (W. E.)**

Laboratory methods for clinical and public health mycobacteriology. U.S.
Department of Health Education and Welfare, Public.
Health Service, Atlanta 1967.

58. **LALANDE (V) ; TRUFFOT - PERNOT (C) ; PACCALY - MOULIN (A)
et al**

Powerful bactericidal activity of sparfloxacin. (AT - 4140) against Mycobacterium tuberculosis in mice,
Antimicrob. Ag. chemother.1993, 37, 407 - 13.

59. **LAMBIN (S) - GERMAN (A)**

Précis de microbiologie
Ed. Masson et Cie ; Paris 1969.

60. **LANGERON (M) - TACQUET (A)**

Comparaison des différentes méthodes d'homogénéisation et de purification des produits pathologiques en fonction des milieux de culture solides ou liquides.
Bul. Org. Mond. Santé : 1968, 39, 663 - 680.

61. **LEBAUX (B) - ROCHEMAURE (J)**

Indication, Posologie et Association des grandes médications antituberculeuses.
Rev. P. Ch. ant. 1979 : 29 - 33.

62. **LEDERER (E)**
The mycobacterial Cell wall.
Pure appl. Cher 1971, 25, 135 - 165.
63. **LEMINOR (L) et VERON (M)**
Bactériologie medicale
Flam ; Paris 1982 : 2^{me} édi.
64. **LEWIN (C.S.) - HOWARD (B. M.) - RATCLIFFE (N.T.) - SMITH (T)**
Quinolones and the S.O.S reponse
Encycl. Med. Microbiol 1989, 29, 139 - 144
65. **MAIGA (MD)**
Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la tuberculose pulmonaire au Mali.
Thèse Pharmacie Bamako, 1982, 52 p n°3.
66. **MC CLATCHY (J. K.)**
Antimycobacterial drugs : mecanismns of action, drug resistance, susceptibility testing, and assays of activity in biological fluids.
LORIAN V. (Ed.) "Antibiotics in Laboratory medicine" WILLIAMS & WILLIAMS, Baltimore 1986 : 181 - 222.
67. **MEYER (L)**
Evolution, signification et caractères épidémiologiques de la résistance primaire de bacille tuberculeux en France de 1962 -1972
Thèse Médecine Paris 1974.
68. **MEYER (L) et DAVID (H.L.)**
Evaluation de l'activité urease et l'activité β glucosidase pour l'identification pratique des mycobacteries.
Ann.Microbiol (Institut Pasteur) 1979 ; 130 B ; 323 - 332.
69. **MEYER (L) et HUGO (D)**
Mycobacteriologie en Santé Publique.
Publication du centre National de référence pour la tuberculose et les mycobactéries. Institut Pasteur, Paris 1979.
70. **MEYER (L) - HUGO (D)**
Mycobactériologie en Santé Publique.
Centre National de Référence pour la tuberculose et les Mycobactéries.
Institu Pasteur ; Paris 1980.

71. **MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE, DE LA SOLIDARITE ET DES PERSONNES AGEES**

Division de l'Épidémiologie de Bamako (Mali).
Annuaire statistique des services de Santé Année 1990.

72. **MITCHISON (D.A.)**

In : Procudings of the 6th International Congres of Tropical Medicine and malaria,
Lisbon, 5 - 13 Sept 1958
Vol 4 : Imprensa Portugnesa ; 1959 p; 270.

73. **MOUSTARDIER (G)**

Bactériologie médicale
Ed. Maloine S.A. Paris 1972 : 923-993.

74. **N'DIAYE (I)**

Surveillance et évolution des résistances aux antituberculeux des mycobactéries
humaines isolées à Dakar (1973-1978)
Thèse Médecine Dakar ; 1979 : N° 51.

75. **PARROT (R) - BRAUM (J) - GAILLAR (J.P) - SORS (C.H) - GROSSET (J)**

Les mycobactérioses pulmonaires à M. xenopei
A propos de 50 cas, éléments de diagnostic.
Rev. Fr. Mal. Resp. 1979, 7, 501 - 503

76. **PARROT (R) - GROSSET (J) - AUGIER et COLL**

Le rôle et la place des informations bactériologiques dans l'identification des sources
de contagion.
Rev. Fr. Mal resp. 1976, 4, 289 - 304.

77. **P.N.L.T.**

Rapport d'activité du Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT);
Mali 1993.

78. **P.N.L.T.**

Rapport d'activité du Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT)
Mali Année 1994.

79. **PENSON (G)**

Premier colloque international sur les mycobactéries.
Ed. P.G. Jansens. Anvers 1959 : p. 52 - 70.

80. **PETTROF (S.A)**

Some cultural Studies on the tubercle bacilli
Bull Hepkins Hosp. 1915 : 276 -279.

81. **QUENUM (C) - N'DIAYE (P.B) - UM (J)**

La tuberculose au Sénégal à travers les documents anatomo-pathologiques.
Med. Af. Noire 1969, 4 , 359 - 365.

82. **RASTOGI (N) - DAVID (H)**

Mode of action of antituberculous drugs and mechanisms of drug resistance in
Mycobacterium tuberculosis
Res. Microbiol. 1993, 144, 133 - 43.

83. **REY - VILLON (A)**

Etude bactériologique succincte des souches de bacilles tuberculeux isolées dans la
région de Bobo-Dioulasso en 1975 et 1976.
Doc. Techn; O.C.C.G.E 1977 : N° 6567.

84. **ROUDAUT (M) - TIENDREBEOGO (M) - SCHMIDT (D) -
DELORMAS (P)**

La résistance initiale du bacille de Koch en Côte d'Ivoire.
Rev. Fr. Mal. Resp. 1977, 5 , 683 - 696.

85. **ROUSSEL (G)**

Les différents aspects cliniques de la tuberculose de l'adulte.
Revue mensuel : objectif Médical N° 47 Décembre 1987, 46 - 47.

86. **SANGARE (B)**

Aspects bactériologiques de la tuberculose pulmonaire à Bamako.
Mémoire Pharmacie 1980 ; Bamako : p.102 N° 2.

87. **SANGARE (S)**

Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la tuberculose pulmonaire au
Mali.
Thèse Pharmacie Bamako 1982 N° 8.

88. **SARRAT (H)**

Infection à mycobactéries au Sénégal. Aspects biologique
Monographie Inst. Pasteur Dakar 1972, 210 p.

89. **SCHATZ A et Al**

Proceeding of the Society for experimental biology and médecine.
55, 66, 1944.

90. **SEMEGA (C)**

Problèmes de la lutte antituberculeuse dans les zones rurales du Mali.
Etude critique du Projet pilote de Kayes.
thèse Médecine Bamako, 1977 N° 25.

91. **SMITHWICK (R.W)**

Laboratory manual for acid; fast microscopy, 2nd éd., US Department of health,
education & Welfare, Atlanta, GA, 1976.

92. **SNIDER (Jr. D.E) - GOO (R.C.) - KILBURN (J.O) et al**

Rapid drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*.
Ann. Rev. Resp. Dis. 1981, 123 : 402 - 6.

93. **SY (B)**

Considérations épidémiologiques et aspects radiocliniques de la tuberculose
pulmonaire au Mali.
Thèse Médecine Bamako : 1974 N° 6.

94. **TACQUET (A) - TISON (P)**

Nouvelle technique d'isolement des mycobactéries par le lauryl sulfate de sodium.
Ann. Inst. Pasteur 1961, 100, 676 - 680.

95. **TAKIFF (H.E) - SALAZAR (L) - GUERRERO (W) et al**

Cloning and nucleotide sequence of the *Mycobacterium tuberculosis* Gyr A and B
genes, and characterization of quinolone resistance mutations.
Antimicrob. Ag. chemother 1994, 38, 773 - 70

96. **TANGARA (D)**

Etat de sensibilité aux antibiotiques antituberculeux des souches de bacilles hébergés
par les malades tuberculeux en traitement à Bamako.
Thèse pharmacie : 1990 Bamako 124 p. N° 29.

97. **TELENTI (A) - IMBODEN (P) - MARCHESI (F) et al**

Detection of rifampicin-resistance mutation in *Mycobacterium tuberculosis*.
Lancet. 1993, 341, 647 - 50.

98. **TELENTI (A) - IMBODEN (P) - MARCHESI (F) et al**

Direct, Automated detection of rifampicin resistant Mycobacterium tuberculosis by polymerase chain reaction and single-strand conformation polymorphism analysis. Antimicrob. Ag. chemother 1993, 37, 2054 - 8.

99. **TOMAN (K)**

Dépistage et chimiothérapie de la tuberculose.
Ed. Masson : 1980 p. 79.

100. **TOUNKARA (B)**

Contribution à l'étude de la place que doit occuper la rifampicine dans le traitement de la tuberculose pulmonaire au Mali.
Thèse Médecine Bamako 1983 ; 83 p. N° 32.

101. **TOURE (I.M) - KEITA (B) - SANGARE (S)**

Evolution des résistances primaires des bacilles de la tuberculose au Mali entre 1980 et 1990.
Bull ; Soc. Path. Ex. (87) 1994, p. 152 - 156.

102. **TOURE (I.M) - SANGARE (S)**

Contribution à l'étude des souches de mycobactéries isolées à Bamako et leur sensibilité à différentes drogues antibacillaires.
Af. Med. 1980, (21) 10 - 20.

103. **TOURE (I.M) - SANGARE (S) - DOUMBIA (S)**

Etude bactériologique de 235 expectorations provenant du service national de la tuberculose de la République du Mali.
Doc. Techn. O.C.C.G.E. N° 8234 1983.

104. **TOURE (I.M) - TIDIANI (O) - AMEDOME (A) et COLL**

Etude des résistances initiales des bacilles tuberculeux isolés d'expectorations de malades atteints de tuberculose pulmonaire du service de pneumophtisiologie du CHU de Lomé (Répu. du Togo).
Méd. Af. Noire 1987, 34, 5, 429-442.

105. **U.I.C.T. (Commission de traitement)**

La chimiothérapie de la tuberculose considération sur les médicaments antituberculeux et recommandations sur les régimes de chimiothérapie. Texte intégral du rapport présenté à la conférence mondiale de l'U.I.C.T. à Mexico en Septembre 1975.

106. **U.I.C.T. (commission de traitement)**

Recommandations de l'U.I.C.T concernant la chimiothérapie antituberculeuse.
Bull U.I.C.T. 1983, 58, 2 - 166.

107. U.I.C.T.

Guide Technique concernant le recueil, la conservation, le transport et l'examen des crachats, pour le diagnostic de la tuberculose par microscopie directe.
1977 - 2^{ème} édition, 28 p.

108. U.I.C.T. M.R

Guide de la tuberculose pour les pays à haute prévalence.
2^{ème} édition.

109. VEYSSIER (P) - BRYSHIER (A)

Fluoroquinolones - Editions techniques - Encycl. Med. chis (Paris - France)
Thérapeutique 2^{ème} ; 25 - 16 1^{ère} édition : 1993 10 p.

**110. VILLON (A) - REY (J.L) - SALIOU (P) - RENAUDET (J)
BONEL (J)**

Etude bactériologique de la tuberculose en Mauritanie.
Identification et sensibilité aux antibiotiques des souches isolées (1976)
Doc. techn. O.C.C.G.E. N° 6236.

111. WHO TECHNICAL REPORT SERIES

N° 552 (Ninth report of the Who Expert committee on tuberculosis p. 14 - 25.

112. WHO TECHNICAL REPORT SERIES : N° 607 - 1977

(Fifth report of the Who expert committee on leprosy).

113. WIDAL

Edition 1995.

**114. YOUMANS (G.P) - WILLISTON (E.H) - FELDMAN (W.H)
HINSCHAW (H.C)**

Increase in resistance of tubercle bacilli to Streptomycin.
Preliminary report. Proc. Staff. Meet.
Mayo clin. 1946, 21, 126 - 127.

115. ZELLER (E.A) - OWEN (C.A)

Enzymology of the genus mycobacterium adv.
Tub. Resp. 1951, 4, 39 - 53.

RESUME

Au cours de cette étude sur la résistance aux antibiotiques du bacille tuberculeux au Mali, qui a eu lieu dans le laboratoire de référence de la tuberculose à l'INRSP d'Octobre 1993 à Avril 1996, nous avons collecté 780 prélèvements de produits pathologiques dont 458 positifs à la bacilloscopie.

Parmi ces 780 produits pathologiquesensemencés, 292 cultures ont été positives, parmi lesquelles nous avons identifié 92 souches dont 70 (76,09%) M. tuberculosis ; 16 (17,39 %) M. Africanum et 6 (6,52 %) M. atypiques.

Nous avons déterminé la sensibilité pour 130 souches dont 99 proviennent de nouveaux malades et 31 d'anciens malades.

Chez les nouveaux malades 59/99 (soit 59,60 %) sont sensibles à tous les antibiotiques alors que seulement 2/31 (soit 6,45 %) sont sensibles à tous les antibiotiques testés chez les anciens malades.

Nous avons aussi établi que :

- la résistance primaire comporte essentiellement la monorésistance H ; S et T accessoirement l'association HS ;
- la résistance chez les anciens malades comporte les mêmes monorésistances signalées dans la résistance primaire mais aussi la polyrésistance portant HST et même R et E.

Nous avons comparé nos résultats à ceux des autres études menées dans notre pays depuis 1972. Nous avons ainsi noté avec satisfaction que la résistance primaire aux antibiotiques tend à se stabiliser et même à diminuer.

Mots clés : Mycobactéries ; antituberculeux ; monorésistance(s); polyrésistance (s) ; souche (s) ; Mycobacterium tuberculosis ; bacilles ; mutants résistants.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des Maîtres de la Faculté , des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes Condisciples :

d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

d'exercer , dans l'intérêt de la Santé Publique , ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur , de la probité et du désintéressement ;

de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas , je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.