

République du Mali

Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE



THESE

Année universitaire 2019 -2020

N°...../

**ETUDE D'UNE SERIE DE 8 CAS DE TUBERCULOSE
CHEZ LES ENFANTS DE 0 à 15 ANS DANS LE
SERVICE DE PEDIATRIE DE L'HOPITAL DU MALI.**

Présentée et soutenue publiquement le : 20/08/2020 devant la
Faculté de Pharmacie

**Pour obtenir le grade de docteur en Pharmacie
(DIPLOME D'ETAT)**

Par : M. Moussa BA

JURY

Président :	Professeur Yacouba TOLOBA
Membres :	Docteur IBréhima GUINDO
	Docteur Bourama KANE
Co-directeur :	Docteur Bréhima TRAORE
Directeur de thèse :	Professeur Ag. Bourèma KOURIBA

MINISTRE DE L'EDUCATION NATIONALE,
DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi



FACULTE DE PHARMACIE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.



PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Mahamadou	CISSE	Biologie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
8	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
9	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
10	Alou A.	KEÏTA	Galénique
11	Mamadou	KONE	Physiologie
12	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
14	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
15	Saïbou	MAÏGA	Législation
16	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
17	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
9	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/ Bio-statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
4	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
5	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
6	Ousmane	TOURE	Santé Publiq/Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie -Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OULOQUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEÏTA	Santé publique/Santé Environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation.
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie Chef de DER

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOUCO	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER
2	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

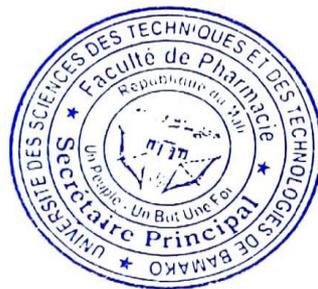
N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie organique
8	Aboubakary	MAÏGA	Chimie organique
9	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
10	Modibo	SANGARE	Anglais
11	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
12	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
13	Fana	TANGARA	Mathématiques
14	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
15	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
16	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique



Bamako, le 3 juin 2020

**P/Le Doyen/PO
Le Secrétaire Principal**

Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

DEDICACES

A mon père (Abdoulaye Ba)

Ce fut difficile, malgré tes nombreuses activités tu as toujours eu du temps pour la formation de tes enfants et de l'amour pour le travail bien fait. J'ai toujours été attiré par ton courage et ton sens de leadership. Tu es une source d'inspiration pour moi. Tes mots d'encouragement retentissent à mes oreilles jour et nuit. Repose en paix père.

A ma mère (Mariam Touré)

Aucune dédicace n'est de taille pour exprimer l'amour, le respect, la considération que j'ai pour toi. Tu n'as jamais manqué à ton devoir de mère. Puisse Dieu t'accorder santé, longévité. J'espère réaliser en ce jour un de tes rêves, et être digne, toute ma vie personnelle et professionnelle, de ton éducation et de ta confiance.

A mes frères (Sékou BA et Bassala Ba)

A travers vous j'ai compris l'importance du lien fraternel. Je ne regretterai jamais de vous avoir dans ma vie. Ces quelques mots ne sont rien comparer à l'affection que j'ai envers vous.

A mes sœurs (Fatoumata Ba, Aminata BA, Ramata Ba et Korotoumou Ba)

En témoignage des liens qui nous unissent, ces quelques mots ne peuvent exprimer tous l'affection que j'ai pour vous.

A mes tantes

Que ce travail puisse exprimer mon profond attachement, mon amour et mon respect.

A mes oncles

Vous m'avez été d'une aide précieuse à travers votre accompagnement. Que Dieu vous bénisse.

REMERCIEMENTS

Je commence par remercier **ALLAH**, le Miséricordieux, l'Omniscient, l'Omnipotent pour m'avoir donné la santé et la force de mener à terme ce travail.

Je remercie le Prophète **MUHAMMAD (PSL)**.

Nous adressons nos remerciements au Doyen de la faculté de pharmacie, Pr Boubacar Traore pour son engagement face à la formation des étudiants.

Nos sincères remerciements à l'endroit du Directeur du CICM en occurrence le Pr Bouréma KOURIBA de nous avoir ouvert les portes de son service et diriger notre travail.

Nous remercions **Dr Bréhima TRAORE** pour tout l'accompagnement effectuer en codirigeant notre étude.

Nous tenons à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions tout le personnel du service de Pédiatrie de l'hôpital du Mali et ceux du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) notamment **Dr Abou COULIBALY**, pour tous ce qu'ils nous ont apporté pour la bonne réalisation du travail.

Nos remerciements vont à l'endroit de tous mes camarades thésard au CICM qui n'ont jamais manqué leur devoir de soutien et d'accompagnement.

Je remercie l'ensemble du personnel de la Pharmacie Moderne.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers les membres de mon groupe de travail particulièrement les sieurs **Coulibaly Mahamadou M, Samaké Demba, Dembélé Idrissa, Coulibaly Yaya et Diallo Lamine.**

Je remercie tous mes amis du quartier ce travail est aussi le vôtre.

Pour terminer, merci à tous les enseignants de la faculté de Pharmacie de l'université des sciences et des techniques de Bamako (USTTB), et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce document de Doctorat en Pharmacie.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maitre et Président du Jury

Professeur Yacouba TOLOBA

- **Maitre de conférences agrégé en pneumologie à la FMOS,**
- **Spécialiste en pneumo-phtisiologie et en allergologie,**
- **Praticien Hospitalier au CHU du point G,**
- **Chef de DER (département des études et de recherches) à la FMOS,**
- **Secrétaire général de la société africaine de pneumologie de la langue française (SAPLF),**
- **Secrétaire général de la société malienne de pneumologie,**
- **Secrétaire général de l'association nationale de formation continue en allergologie au Mali (ANAFORCAL-Mali),**
- **Vice -président de la société africaine d'allergologie et d'immunologie clinique (SAFAIC),**
- **Président de la commission scientifique et rédacteur en chef de la revue pneumologie tropicale (RPT),**
- **Membre titulaire de la société pneumologique de langue française (SPLF),**
- **Membre titulaire de l'European Respiratory Society (ERS).**

Chers Maitre, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré votre agenda chargé. Votre sens du respect ainsi que votre humilité nous vraiment marqués.

Recevez sincère remerciement.

A notre Maitre et juge

Docteur Ibréhima Guindo

- **Pharmacien Microbiologiste,**
- **Chef de département laboratoire et recherche biomédicale à l'Institut Nationale de Santé Publique (INSP),**
- **Maitre-Assistant en Bactériologie-virologie à la Faculté de Pharmacie.**

Chers Maitre vous nous avez honoré en acceptant de prendre part à ce jury de thèse malgré toutes les contraintes qui s'y sont opposées.

Votre engagement sans faille, votre courage ainsi que votre sens de responsabilité élevée ont forcé notre admiration. Veuillez recevoir nos sincères remerciements.

A notre Maitre et juge

Docteur Bourama KANE

- **Médecin pédiatre,**
- **Chef du service de pédiatrie de l'Hôpital du Mali,**
- **Diplômé en néonatalogie et en réanimation néonatale,**
- **Diplômé en nutrition à l'Université de Boston,**
- **Diplômé en pneumologie et en allergologie,**
- **Enseignant chercheur à la FMOS,**
- **Membre de la société pédiatrique de pneumologie et allergologie de France.**

Chers Maitre c'est avec un grand plaisir que nous avons eu votre feu vert pour adhérer à ce jury.

Nous avons été marqués par votre leadership, votre amour de la profession ainsi que vos qualités en tant que clinicien. Recevez chers Maitre notre profonde gratitude.

A notre Maitre et Co-directeur de thèse

Docteur Bréhima TRAORE

- **Docteur en médecine,**
- **Biologiste chercheur,**
- **Responsable de l'unité de recherche de la tuberculose du Centre d'Infectiologie**

Charles Mérieux.

Chers Maitre ce fut un plaisir de travailler avec vous. Malgré votre emploi du temps chargé vous avez pu trouver du temps pour nous. Votre simplicité, votre rigueur pour le travail bien fait ont forcé notre considération. Recevez notre gratitude.

A notre Maitre et Directeur de thèse

Professeur Bourèma KOURIBA

- **Maitre de conférences agrégé en immunologie,**
- **Chef du département de Recherche à la FAPH et à la FMOS,**
- **Directeur général du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux de Bamako,**
- **Président de la société malienne d'immunologie.**

Chers nous été émerveillés sous votre tutelle. Vous avez su nous éclairer sur le leadership ainsi que le sens de responsabilité. Votre attachement pour le travail bien fait, votre savoir faire ainsi que votre savoir dire nous vraiment marqué.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADA	: Adénosine désaminase
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AG	: Arabinogalactane
ALAT	: Alanine aminotransférase
ARN	: Acide ribonucléique
ASAT	: Aspartate aminotransférase
ATCD	: Antécédant
BAAR	: Bacille acido-alcolo résistant
BCG	: Bacille de Calmette et Guérin
BK	: Bacille de Koch
CG	: Cytosine-Guanine
CICM	: Centre d'Infectiologie Charles Mérieux
CMT	: Complexe <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
DOTS	: Directly Observed Treatment Short-course (stratégie de thérapie observée directe)
E	: Ethambutol
FAPH	: Faculté de Pharmacie
FC	: Fréquence cardiaque
FR	: Fréquence respiratoire
HDM	: Hôpital du Mali
IGRA	: Interferon gamma release essay
IMC	: Indice de masse corporelle
INF	: Interféron
INH	: Isoniazide
IS	: Séquence d'insertion
ITL	: Infection tuberculeuse latente
LBA	: Lavage bucco-alvéolaire
LCR	: Liquide céphalo-rachidien
LJ	: Löwenstein Jensen
LRM	: Laboratoire Rodolphe Mérieux
MA	: Mycobactérie atypique
MAS	: Malnutrition aiguë sévère
MCHC	: Complexe majeur d'histocompatibilité
MGIT	: Mycobacterial Growth Indicator tube

MNT	: Mycobactérie non tuberculeuse
OMS	: Organisation mondiale de santé
PCR	: Polymerase chain reaction
PEC	: Prise en charge
PG	: peptidoglycane
PNLT	: Programme national de lutte contre la tuberculose
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
S	: Streptomycine
TB	: Tuberculose
TBEP	: Tuberculose extra-pulmonaire
TB-MR	: Tuberculose multirésistante
TB-UR	: Tuberculose ultrarésistante
TOA	: Tuberculose ostéoarticulaire
TST	: Test de sensibilité à la tuberculine
TU	: Tuberculose urogénitale
UV	: Ultra-violet
VIH	: Virus de l'immunodéficience humaine
Z	: Pyrazinamide

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Principaux antibiotiques utilisés dans le traitement de la tuberculose (76).	18
Tableau II: Echelle de lecture des frottis colorés par la méthode de Ziehl Neelsen (Objectif 100x).	24
Tableau III: Echelle de lecture des frottis colorés à l'Auramine (Objectif 40x).....	24
Tableau IV: Fréquence selon la profession du père.	29
Tableau V : Fréquence selon la provenance des enfants.	29
Tableau VI: Répartition des enfants à partir de la tranche d'âge.	30
Tableau VII : Répartition des enfants en fonction de la notion de contagé.	41
Tableau VIII : Répartition des enfants en fonction de la durée des symptômes avant consultation.	41
Tableau IX : Répartition des enfants en fonction de la sérologie VIH.	41
Tableau XX : Fréquence des signes cliniques retrouvés chez les 8 enfants.	41
Tableau XI : Répartition des 8 enfants en fonction de la nature du prélèvement.	42
Tableau XII : Répartition des 8 enfants en fonction des résultats de l'intradermoréaction à tuberculine et de l'examen microscopique.....	43
Tableau XIII: Répartition des 8 enfants selon le statut vaccinal et les résultats de l'intradermoréaction à la tuberculine.	43
Tableau XV : Répartition des 8 enfants en fonction des schémas thérapeutiques.	44
Tableau XV : Répartition des 8 enfants selon le résultat du traitement.	45
Tableau XVI : Comparaison des symptômes et signes retrouvés dans notre étude avec d'autres études.	49

LISTES DES FIGURES

Figure 1: Incidence de la TB en 2017 (5)	4
Figure 2 : les BK à microscope optique après coloration de Ziehl Neelsen.	5
Figure 3 : les BK après coloration à l'auramine.	6
Figure 4 : Structure des mycobactéries (29).	6
Figure 5: Automate Bactec MGIT 960	25
Figure 6 : Image des mycobactéries sur milieu Löwenstein Jensen.	25
Figure 7 : Image des mycobactéries sur milieu 7H11.....	26
Figure 8 : Répartition des 12 enfants par le sexe.	30
Figure 9 : Fréquence des maladies associées chez les 8 enfants.....	44

Table des matières

1	INTRODUCTION :.....	1
2	OBJECTIFS :.....	2
2.1	Objectif général :.....	2
2.2	Objectifs spécifiques :.....	2
3	GENERALITES :.....	3
3.1	Définition :.....	3
3.2	Histoire de la tuberculose :	3
3.3	Epidémiologie :.....	3
3.4	Agent pathogène ;	4
3.4.1	Classification :.....	4
3.4.2	Morphologie et structure :	5
3.4.3	Caractères physico-chimiques.....	7
3.4.4	Caractères biochimiques(30).....	7
3.4.5	Caractères cultureux (31).....	7
3.4.6	Caractères génomiques.....	8
3.5	Rôle des mycobactéries atypiques (MA) dans l'infection tuberculeuse :.....	8
3.6	Facteurs favorisant la tuberculose	8
3.7	Mode de transmission :.....	9
3.8	Physiopathologie :.....	9
3.9	Particularité de tuberculose de l'enfant :	9
3.10	Différentes formes de tuberculose :	10
3.10.1	Tuberculose pulmonaire :.....	10
3.10.2	Tuberculoses extra pulmonaire	10
3.10.3	Tuberculose ganglionnaire	11
3.10.4	Pleurésie tuberculeuse	11
3.10.5	Péricardite tuberculeuse	11
3.10.6	Tuberculose neuro-méningée	11
3.10.7	Tuberculose digestive.....	12
3.10.8	Tuberculose uro-génitale.....	12
3.10.9	Tuberculose ostéoarticulaire :	12
3.10.10	Tuberculose cutanée	13
3.10.11	Tuberculose miliaire	13
3.11	Diagnostic :.....	13

3.11.1 Diagnostic bactériologique.....	14
3.11.2 Diagnostic indirect :	15
3.12Prise en charge de la tuberculose :	17
3.12.1 Traitement curatif :.....	17
3.12.2 Traitement préventif :.....	18
3.13La pharmacorésistance.....	19
4 MATERIEL ET METHODES :	20
4.1 Matériel.....	20
4.1.1 Lieu et période d'étude.....	20
4.1.2 Population d'étude.....	20
4.1.3 Paramètres examinés	20
4.1.4 Définition des cas	21
4.1.5 Définitions des variables d'évolution :	21
4.1.6 Analyse et interprétation des résultats :	22
4.1.7 Aspect éthique :	22
4.2 Méthodes.....	22
4.2.1 Prélèvements	22
4.2.2 Méthodes de traitement des échantillons au laboratoire :	23
4.2.3 Contrôle de qualité	27
5 RESUSTATS	29
5.1 Résultats globaux.....	29
5.2 Résultats descriptifs des 8 cas.....	31
5.3 Résultats cliniques et analytiques :	41
6 DISCUSSIONS	46
6.1 Limite de l'étude :	46
6.2 Résultats globaux :	46
6.3 Caractéristiques socio-démographiques :	46
6.4 Résultats cliniques et analytiques :	47
7 CONCLUSION	50
8 RECOMMANDATION	51
9 REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	52
10 ANNEXES	58
10.1Annexe 1 :.....	58

10.2Annexe 2 :.....	60
10.3Annexe 3 :.....	63
10.4Annexe 4 :.....	65
10.5Annexe 5.....	75
10.6Annexe6.....	76
10.7Annexe 7.....	79

1 INTRODUCTION :

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse chronique et contagieuse due au complexe *Mycobacterium tuberculosis* (1). C'est une des maladies infectieuses les plus répandues dans le monde (2). La tuberculose représente aujourd'hui à l'échelle mondiale un problème majeur de santé publique (3).

L'évolution de l'épidémie de VIH est à l'origine d'une augmentation des cas de tuberculose au niveau mondial (4). En 2019 selon l'organisation mondiale de la santé 10 millions de nouveaux cas de TB ont été enregistrés dans le monde dont 1 million (10%) de co-infection avec le virus de l'immunodéficience humaine (5).

La majorité des malades et des décès sont parmi les populations vulnérables principalement dans les pays à faible revenu ou à revenu intermédiaire. Tous les pays sont affectés, mais 85% des cas sont recensés en Afrique (30%) et en Asie (55%) (6).

L'émergence de la résistance aux antituberculeux dans un grand nombre de pays est devenue un problème de santé publique et constitue un obstacle au contrôle efficace de la tuberculose(7). En 2013, la tuberculose multirésistante (TB-MR) constituait 3,5% des nouveaux cas. En plus on estime que la forme ultrarésistante (TB-UR) concerne 9% des patients présentant une TB-MR (8).

Le Mali, pays à forte endémie tuberculeuse, a notifié 7084 nouveaux cas de TB en 2018, avec une incidence estimée à 53 nouveaux cas pour 100 000 habitants (9).

Dans les pays fortement touchés, la TB pédiatrique ne représenterait d'après les données statistiques que 1% à 3%, alors que les meilleures estimations suggèrent que les patients de moins de 15 ans représentent 11 à 14% de la charge tuberculeuse mondiale (10). Ce sous-diagnostic de la TB de l'enfant est du à sa nature paucibacillaire ainsi qu'à la difficulté d'expectoration des enfants (11).

Même si la plupart des enfants atteints ne sont pas nécessairement à l'origine d'une propagation importante de la maladie dans la population, la tuberculose reste une contributrice importante de la morbidité et de la mortalité maternelle et infantile (12).

Au Mali comme dans la plupart des pays, le programme national de lutte contre la tuberculose (PNLT) est confronté à d'énormes difficultés pour atteindre ses objectifs et améliorer ses indicateurs de performances. Cette situation résulte du fait que la tuberculose est une maladie négligée particulièrement chez l'enfant (13).

En raison de la difficulté du diagnostic, du manque de données consistantes et des causes multifactorielles de la tuberculose de l'enfant, la présente thèse se propose d'étudier la tuberculose des enfants de 0 à 15 ans au service de pédiatrie de l'Hôpital du Mali.

2 OBJECTIFS :

2.1 Objectif général :

- Evaluer la fréquence de la tuberculose chez les enfants de 0 à 15 ans au service de pédiatrie de l'hôpital du Mali.

2.2 Objectifs spécifiques :

- Identifier les souches de mycobactéries isolées chez les enfants à l'hôpital du Mali,
- Tester la résistance aux antituberculeux des souches de *Mycobacterium tuberculosis* complex isolées chez les enfants à l'hôpital du Mali,
- Décrire les difficultés du diagnostic de la tuberculose de l'enfant,
- Evaluer la réponse au traitement chez les enfants atteints de tuberculose au service de pédiatrie de l'hôpital du Mali.

3 GENERALITES :

3.1 Définition :

La tuberculose est une maladie infectieuse et potentiellement contagieuse, due à une mycobactérie du complexe tuberculosis, commune à l'homme et à certains animaux et caractérisée par la formation de tubercules inflammatoires (14).

3.2 Histoire de la tuberculose :

Bien que les mycobactéries aient émergées il y'a environ 150 millions d'années, le principal agent de la tuberculose est une espèce récente datée d'environ 150 000 ans. La première suspicion chez l'homme repose sur l'observation de lésions de la voute crânienne sur un crâne de 500 000 ans en Turquie. L'ère microbiologique de la TB date de 1882 après l'annonce par Robert Koch à Berlin de l'isolement et la culture de *M. tuberculosis* (15).

Jusqu'au début du XXe siècle, le seul remède était le repos dans un sanatorium, de préférence en altitude. Les années suivantes ont vu naître le premier vaccin contre la maladie, le bacille bilié de Calmette et Guérin (le BCG). Les premiers essais cliniques multicentriques d'efficacités furent réalisés en France entre 1924 et 1926. Entre les années 1950 et 1963 les principaux antituberculeux comme l'Isoniazide (1952), la Pyrazinamide (1954), l'Ethambutol (1961) et la Rifampicine (1963), ont vu le jour (16). La période entre 1920 et 1950 représente le moment où la radiographie du thorax est devenue plus disponible pour un diagnostic et une meilleure description de la maladie sans qu'un traitement efficace puisse influencer son histoire (17).

3.3 Epidémiologie :

A l'échelle mondiale, on estime que 1,7 milliard de personnes sont infectées par *M. tuberculosis* et que 5 à 15% d'entre elle développeront une tuberculose évolutive au cours de leur vie (18). En 2019, on a estimé à 10 millions le nombre de personne ayant développées une TB maladie évolutive, dont 6,2 millions d'hommes, 3,2 millions de femmes et environ 1 millions d'enfants (550 000 garçons et 490 000 filles. La plupart des cas estimés ce sont produits dans les régions d'Asie du sud-Est (44%), d'Afrique (25%), et du Pacifique occidental (18%) ; des proportions plus faibles dans les régions de la méditerranée orientale (7.7%), d'Amérique (2,8%) et d'Europe (2,7%). Certains pays sont fortement touchés : Inde (27%), Chine (9%), et Indonésie (8%) (5).

Environ 1,7 million de personnes sont décédées de la tuberculose, dont 400 000 étaient infectées par le VIH. Selon les estimations, 253 000 enfants sont décédés (201 000 séronégatifs pour le VIH et 52 000 infectés par le VIH) (18).

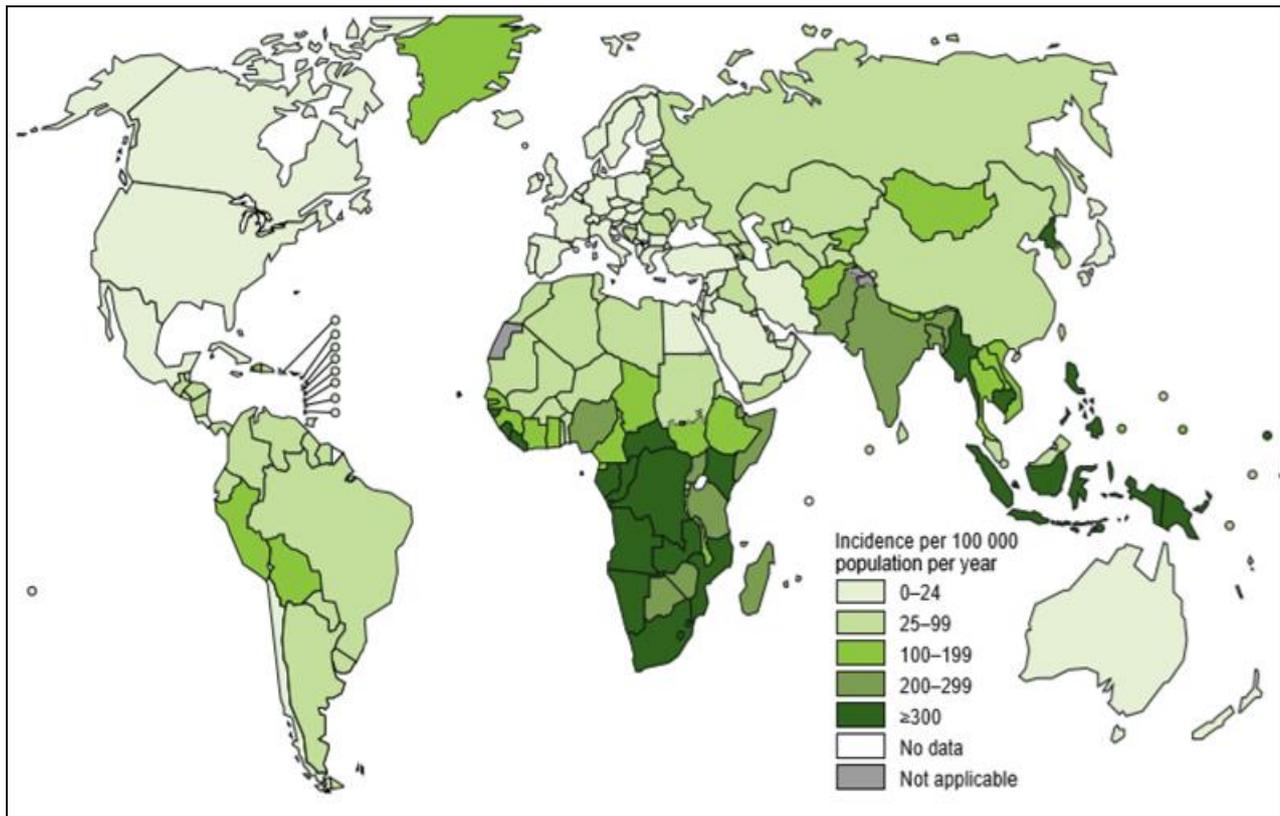


Figure 1: Incidence de la TB en 2019 (5)

3.4 Agent pathogène ;

3.4.1 Classification :

Les mycobactéries appartiennent à l'ordre des actinomycétales, à la famille des *Mycobacteriaceae* et à l'unique genre *Mycobacterium* (19).

Selon l'intérêt médical

Le genre *Mycobacterium* peut être subdivisé en trois groupes :

- ❖ Les mycobactéries du *complexe tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungii*) (20).
- ❖ *M. leprae* responsable de la lèpre, ce groupe comprend : *M. leprae* ou bacille de Hansen (responsable de la lèpre humaine) et *M. lepraemurium* (responsable de la lèpre du rat) (21).
- ❖ Les mycobactéries non tuberculeuse (MNT) ou mycobactéries atypiques (MA), sont des germes de l'environnement qui peuvent envahir un hôte et causer des infections communément appelées mycobactérioses. C'est le groupe des espèces considérées comme opportunistes (22).

Selon la vitesse de croissance

En fonction de leur vitesse de croissance, les mycobactéries sont divisées en 2 groupes :

- Mycobactéries à croissance rapide, délai d'apparition inférieur ou égal à 7 jours ;
- Mycobactéries à croissance lente, délai d'apparition supérieur à 7 jours.

Respectivement le temps de générations des espèces de croissance lente est de 13 à 20H et celui des espèces à croissance rapide de 2 à 5H (23).

3.4.2 Morphologie et structure :

3.4.2.1 Morphologie :

Les mycobactéries sont définies comme des bacilles droit ou légèrement incurvés, de 1 à 10 μm de long et de 0,2 à 0,6 μm de large, immobiles les, incapables de former des spores, conidies et capsules. La croissance, parfois filamenteuse ou en forme de mycélium, donne généralement lieu à la formation d'éléments bacillaires ou coccoïdes (24). En raison de leur richesse en acide mycolique, les mycobactéries se distinguent par leurs capacités à garder certaines colorations (fushine et auramine) même en présence d'agents solubilisant comme l'alcool et l'acide, d'où le nom de bacille acido-alcool résistants (BAAR) (25).

Les bacilles sont colorés en rouge avec la fushine et en jaune fluorescent par l'auramine (26).

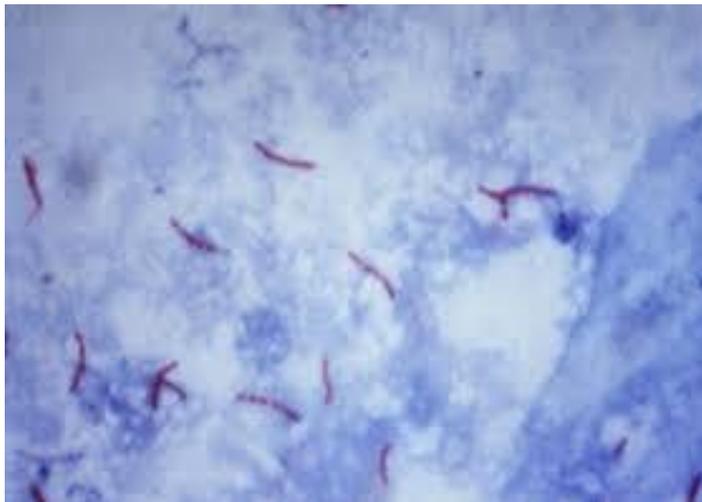


Figure 2: les BK à microscope optique après coloration de Ziehl Neelsen.

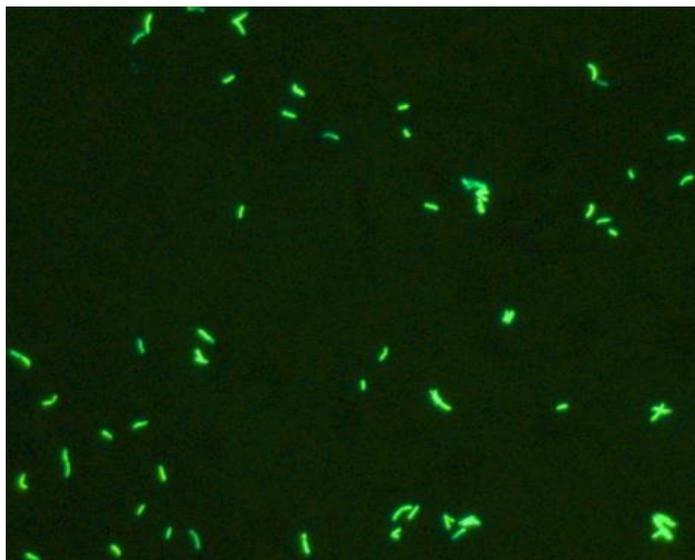


Figure3 : les BK après coloration à l'auramine.

3.4.2.2 Structure

La nature chimique de l'enveloppe des mycobactéries est différente de celle des autres bactéries. Leur teneur en lipide représente 40% de la masse sèche cellulaire (27). L'enveloppe mycobactérienne se compose d'une membrane plasmique entourée d'une paroi de peptidoglycane (PG) et d'arabinogalactane (AG) à laquelle les lipides sont attachés. Cette paroi est à son tour entourée d'une couche externe. Entre la membrane plasmique et le PG se trouve une membrane périplasmique (28).

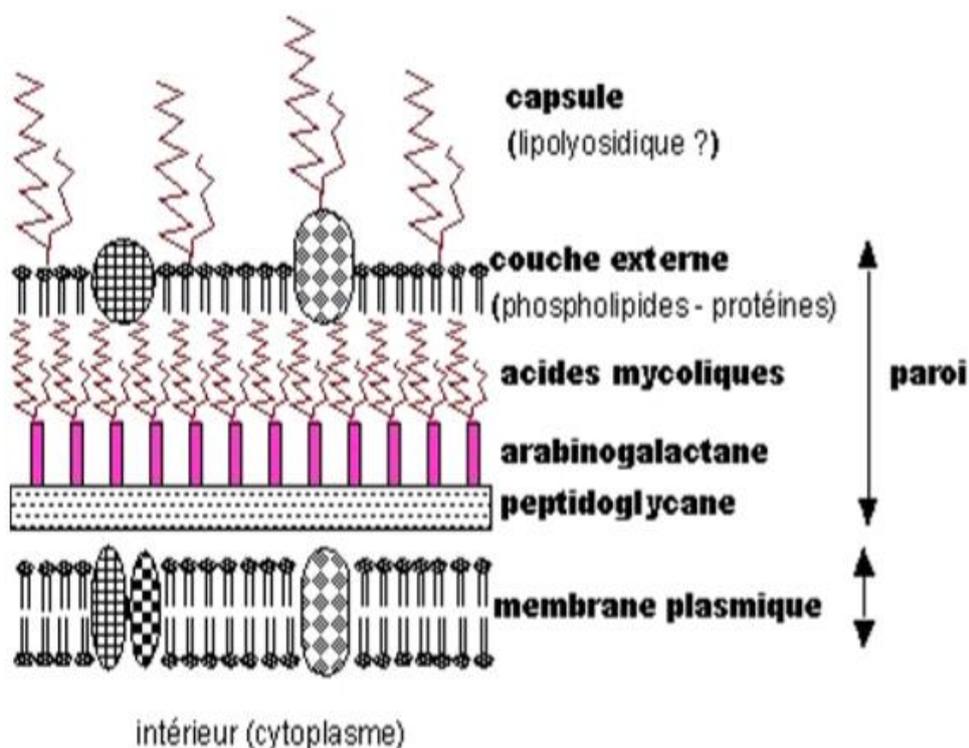


Figure4 : Structure des mycobactéries (29).

3.4.3 Caractères physico-chimiques

Les mycobactéries sont très sensibles à la lumière solaire, aux rayons X et aux UV ; de même, elles sont sensibles aux produits comme l'alcool et l'éther. Leur qualité de bacille acido-alcool résistants ne s'adresse qu'à leur résistance à la décoloration. Elles résistent cependant au froid et à la dessiccation par lyophilisation, leur résistance allant jusqu'à quelques années de survie à l'état desséché et au froid. Comparativement aux bactéries usuelles, elles résistent plus non seulement aux désinfectants chimiques (H₂SO₄, NaOH, etc.), mais également aux enzymes des phagocytes (29).

3.4.4 Caractères biochimiques(30)

Il est indispensable de considérer que le développement des colonies sur milieu de Löwenstein-jensen n'est pas systématiquement synonyme de BK. L'identification des mycobactéries repose alors sur une batterie d'épreuves biochimiques :

- Présence de la catalase à 22°C ;
- Présence de la peroxydase, de la glucosidase, de l'uréase et de l'aryle-sulfate
- Réduction des nitrates ;
- Production d'acide nicotinique ;
- Transformation du citrate en fer ammoniacal ;

La catalase décompose l'eau oxygénée. Toutes les mycobactéries synthétisent de la catalase à 22°C exceptées certaines souches isoniazido-résistantes de *M. bovis* et *M. tuberculosis*.

Les souches de *M. tuberculosis* produisent une importante quantité de d'acide nicotinique dont la présence est relevée par le bromure de cyanogène à 10% et l'aniline. Elles présentent aussi une enzyme permettant de réduire les nitrates.

3.4.5 Caractères culturels (31)

Les mycobactéries se caractérisent par leur exigence de culture et leur lenteur de croissance. Strictement aérobies, toute en apport d'oxygène entrave leur culture. Cette particularité joue in vivo un rôle décisif dans l'arrêt de la multiplication des bacilles au sein des lésions caséuses. La température optimale de croissance est de 35 à 37°C.

Le pH optimum est de 6,8 à 7. L'aspect des colonies est rugueux. *M. tuberculosis* ne pousse pas sur les milieux de cultures ordinaires. Parmi les nombreux milieux de culture qui ont été proposés, seul un nombre limité est couramment employé :

- milieux de Löwenstein-Jensen (milieu de référence pour la détermination de la nature eugonique ou dysgonique des colonies) ;
- milieux de Dubos ;
- milieux Middlebrook 7H11, 7H10, 7H9.

- milieu liquide MGIT.

Le temps de division de *M. tuberculosis* étant de 20H en moyenne, les cultures ne seront positives qu'après au moins trois semaines d'incubation à 37°C pour les milieux solides et une à deux semaines d'incubation à 37°C pour les milieux liquides.

3.4.6 Caractères génomiques

Les mycobactéries se caractérisent par un CG% élevé, compris entre 61 et 71% (sauf *M. leprae* 54 à 57%). L'hybridation ADN/ADN a démontré que *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* et *M. microti* appartiennent à la même espèce génomique. La découverte de la séquence d'insertion IS6110 spécifique des bacilles tuberculeux a permis leur étude épidémiologique par RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) avec une sonde spécifique de IS6110 (25). Des plasmides responsables de la résistance aux métaux lourds ont été découverts. Les gènes codant pour la résistance aux antibiotiques ont été caractérisés : *rpoB* pour la rifampicine, *KatG* et *inhA* pour l'isoniazide, *strA* ou *rpsL* et l'ARN 16S pour la streptomycine, *gyrA* et *gyrB* pour les quinolones, ainsi que les gènes codant pour des protéines du métabolisme anaérobie (32).

3.5 Rôle des mycobactéries atypiques (MA) dans l'infection tuberculeuse :

Les mycobactéries non tuberculeuses sont à l'origine des mêmes signes cliniques que ceux causés par les mycobactéries tuberculeuses chez l'homme et l'animal. Elles peuvent être à l'origine de la faible spécificité de nombreuses épreuves de diagnostic, source des cas « faux positifs » ou « faux négatifs » (29).

La transmission interhumaine n'a pas été démontrée et, l'hypothèse d'une contamination à partir de l'environnement semble la plus probable (33).

Les MA représentent entre 70 et 90% des cas de mycobactérioses où les plus fréquentes dans les maladies pulmonaires chez l'homme sont : le complexe *Mycobacterium avium* (environ 80%), *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae* environ 10%, *M. xenopi* (environ), *M. kansasii* (environ 5%) (34).

3.6 Facteurs favorisant la tuberculose

L'altération des défenses immunitaires facilite l'expression de la tuberculose « maladie ». La malnutrition, l'âge, l'infection VIH, le diabète etc..., par la perturbation des défenses cellulaires qu'ils occasionnent, sont les principaux facteurs de développement du bacille tuberculeux dans l'organisme (35).

Le tabagisme actif et passif augmente le risque d'infection tuberculeuse latente et de tuberculose maladie dans leurs formes pulmonaires et extra-pulmonaires (36).

La TB, considérée comme une « maladie sociale », se propage préférentiellement chez les

communautés défavorisées et les individus désocialisés (37).

3.7 Mode de transmission :

L'infection tuberculeuse se transmet essentiellement par aérosols dans les segments distaux de l'arbre respiratoire à partir d'un malade atteint de tuberculose pulmonaire, bronchique, ou de la sphère oropharyngée (38).

Lorsque le malade tousse ou éternue, il émet des particules infectantes, appelées « gouttelettes de Flugge ». Une seule gouttelette d'aérosol inhalée, comptant moins de dix agents pathogènes expulsés par toux, peut déclencher une infection en périphérie du poumon. Les autres modes de contamination telle la voie digestive ou cutanéomuqueuse sont exceptionnels (39).

3.8 Physiopathologie :

L'avancée de la transmission de *M. tuberculosis* et la réactivation de la TB latente sont responsable de la tuberculose maladie (40).

Les gouttelettes contenant quelques bacilles sont aérosolisées par le patient bacillifère. Elles échappent au système muco-épithélial cilié de l'arbre bronchique (41). L'immunité innée permet la phagocytose par les macrophages alvéolaires. Cependant l'action antimicrobienne et pro-inflammatoire de ces derniers est moindre. Les cellules dendritiques alvéolaires se chargent des bacilles vivants, partiellement digérés et migrent vers les ganglions lymphatiques. Les antigènes de *M. tuberculosis* sont alors présentés par l'intermédiaire des complexes MHC-1 et MHC-2 aux cellules TCD4 et TCD8. Chacune de ces cellules se différencie en cellule T cytotoxique (Tc1) ou T helper (Th1). La présence de cellule Th1 au site l'infection entraîne la formation de granulome tuberculoïdes avec nécrose centrale (38).

La nécrose tissulaire se développe sous forme de caséum liquide et constitue un bon milieu pour la multiplication des bacilles. Durant la phase d'invasion tissulaire, des macrophages infectés peuvent migrés par voie lymphatique et/ou par la circulation sanguine vers d'autres organes, ainsi s'expliquent la participation ganglionnaire de la primo-infection et les tuberculoses extra-pulmonaires (42).

3.9 Particularité de tuberculose de l'enfant :

La TB de l'enfant possède des particularités par rapport à celle de l'adulte. La maladie se développe plus souvent dans les suites immédiates d'une infection tuberculeuse récente (43). Elle apparait le plus souvent avant l'âge de 5 ans. Les nourrissons et les jeunes enfants (en particulier avant l'âge de 2 ans) sont à risque de développer une maladie grave disséminée associée à un taux élevé de mortalité. Chez les enfants, la présentation de la maladie est plus aiguë, ressemblant à une pneumonie grave récurrente ou persistante (18). En raison du caractère paucibacillaire de la

tuberculose infantile, le diagnostic de certitude par bacilloscopie reste difficile. Lorsque les tubages ne sont pas réalisables, la décision du traitement repose sur des éléments de présomption (notion de contagé familial, TST positif chez l'enfant non vacciné, absence d'amélioration clinique et/ou radiologique après traitement antibiotique non spécifique (44).

3.10 Différentes formes de tuberculose :

3.10.1 Tuberculose pulmonaire :

La tuberculose peut se présenter sous divers tableaux radio-cliniques. La forme la plus fréquente est la tuberculose commune atteignant les poumons (26). La tuberculose pulmonaire est le résultat soit d'une surinfection exogène à partir d'un sujet très contagieux (tuberculose primaire), soit d'une réinfection tuberculeuse, granulome ou tuberculose pulmonaire insuffisamment traitée ayant laissé des bacilles vivants (45). L'évolution de la TB pulmonaire en dehors de tout traitement explique la perpétuation de la maladie : 30% des malades guérissent spontanément grâce aux mécanismes de défense de l'organisme, 50% décèdent dans les cinq ans, 20% continuent à excréter des bacilles et constituent de nouvelles sources de contamination pendant plusieurs années avant de décéder (26). Le plus souvent, les symptômes s'installent progressivement et persistent plusieurs semaines. Les signes respiratoires ne sont pas spécifiques. La toux, d'abord sèche, devient productive, des douleurs thoraciques apparaissent. On évoque en premier lieu une pneumopathie banale, mais l'interrogatoire retrouve une altération de l'état général, un amaigrissement, des sueurs. Une dyspnée se manifeste dans les formes très étendues. La radiographie du thorax est évocatrice par la localisation et l'aspect des lésions. Les anomalies siègent typiquement dans les lobes supérieurs au sommet ou dans le segment apical du lobe inférieur. Elles sont isolées ou associées, à type d'infiltrat, caverne, nodule, souvent bilatérales, accompagnées d'une réaction pleurale. Ces manifestations cliniques et radiographiques doivent conduire à la réalisation d'une intradermoréaction et de prélèvements bactériologiques (36).

3.10.2 Tuberculoses extra pulmonaire

La tuberculose extra pulmonaire (TBEP) est définie selon les critères de classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), comme une infection causée par les mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) et qui affecte les tissus et organes situés à l'extérieur du parenchyme pulmonaire. Les sites d'infections extra pulmonaires comprennent généralement les ganglions lymphatiques, la plèvre et les zones ostéoarticulaires, bien que n'importe quel organe peut être atteint (46).

3.10.2.1 Tuberculose ganglionnaire

La tuberculose ganglionnaire représente la localisation extra pulmonaire la plus fréquente de la tuberculose (47). L'atteinte cervicale en est la localisation préférentielle, vu qu'elle représente à elle seule 70% des atteintes ganglionnaires. Elle fait généralement suite à une infection respiratoire, qu'elle soit patente ou latente. Elle est dominée par la lymphadénite cervicale qui survient suite à la dissémination lymphatique du BK à partir d'un foyer pulmonaire ou d'un ganglion lymphatique qui draine une zone des voies aériennes supérieures tel que les amygdales. La pathogénie de la tuberculose ganglionnaire ne peut être totalement expliquée par la dissémination lymphatique à partir d'un foyer pulmonaire, et d'autres voies de propagation, à partir d'autres ganglions lymphatiques drainant l'anneau de Waldeyer (amygdales, végétations adénoïdes), l'oreille moyenne et la mastoïde ont été proposées (48).

3.10.2.2 Pleurésie tuberculeuse

Souvent citée dans les atteintes extra pulmonaires, elle représente la plus fréquente des localisations séreuses de la tuberculose. Elle est secondaire soit à une atteinte parenchymateuse sous-pleurale par rupture d'un foyer caséux tuberculeux ou fistulisation intra pleurale d'une adénopathie, soit à une dissémination hémotogène. Elle est rare chez le nourrisson, mais plus fréquente chez le grand enfant et l'adolescent. Elle s'observe dans les mois suivant la contamination, en moyenne dans les 6 mois. Le début clinique est donc assez rapide : toux sèche, douloureuse avec apparition d'une fébricule, altération rapidement progressive de l'état général. La radiographie du thorax confirme l'épanchement. La recherche du *Mycobacterium* est rarement positive à l'examen direct, mais positive en culture dans 20% des cas. La technique de PCR est applicable au liquide pleural (49).

3.10.2.3 Péricardite tuberculeuse

La présentation clinique associe un syndrome fébrile insidieux à des signes de péricardite ou de tamponnade cardiaque. Il n'est pas rare que les patients présentent un épanchement pleural tuberculeux contaminant. Le diagnostic est difficile à poser ; l'examen direct est rarement positif dans le liquide péricardique, car il s'agit en général d'un liquide à prédominance lymphocytaire paucibacillaire, et l'histopathologie peut s'avérer non conclusive. L'ADA et l'INF gamma sont contributif au diagnostic. Le scanner thoracique peut montrer un péricarde irrégulier, épaissi avec des adénopathies médiastinales (50).

3.10.2.4 Tuberculose neuro-méningée

La méningite tuberculeuse est une complication grave et potentiellement mortelle de la tuberculose (51). Elle survient précocement après la primo-infection. Il se forme un exsudat dense et gélatineux qui, en enveloppant les artères et les nerfs crâniens, peut conduire au développement d'une

hydrocéphalie ou à des lésions de vascularite. Le passage du bacille tuberculeux dans le liquide céphalorachidien se traduit cliniquement, dans la plupart des cas, par l'apparition progressive et fluctuante d'une fièvre, d'une fatigue, d'une perte de poids, de modifications du comportement, de céphalées et vomissements. Les déficits neurologiques, pertes de conscience ou convulsions s'observent en cas de retard au diagnostic. Le diagnostic est le plus souvent réalisé à ce stade tardif, où les lésions neurologiques sont malheureusement irréversibles. Le tableau est beaucoup plus rarement d'installation brutale, à l'instar des autres méningites bactériennes (52).

3.10.2.5 Tuberculose digestive

La tuberculose digestive est une maladie reconnue mais ses différents modes d'expression peuvent poser des problèmes diagnostiques et thérapeutiques (53). Les formes digestives tuberculeuses sont des maladies chroniques, difficiles à différencier de la maladie de Crohn à l'état initial (54). L'imagerie est essentielle pour analyser les symptômes. Le tableau clinique est non spécifique, la présence d'une ascite dans un contexte d'altération de l'état général justifie d'évoquer ce diagnostic (49).

3.10.2.6 Tuberculose uro-génitale

La tuberculose urogénitale (TU) représente un problème majeur non seulement dans les pays à haute prévalence mais aussi dans les pays industrialisés (55). Les formes génitales sont considérées comme graves parce qu'elles peuvent se compliquer d'infertilité (2). Le BK atteint les reins par voie hématogène, le plus souvent à partir d'un foyer pulmonaire. Au stade initial, la maladie est asymptomatique. Avec la progression de la maladie, il peut se reproduire une nécrose papillaire avec formation de cavités (50). Le diagnostic de la maladie est avant tout bactériologique, mais l'imagerie est essentielle au bilan des lésions (55).

3.10.2.7 Tuberculose ostéoarticulaire :

La tuberculose ostéoarticulaire (TOA) se définit par l'ensemble des manifestations pathologiques secondaires aux atteintes des structures osseuses et articulaires de l'appareil locomoteur par le bacille de Koch (BK) (56). C'est une maladie très ancienne, représentant 2 à 5% de l'ensemble des tuberculoses et 11 à 15% des tuberculoses extra pulmonaires. Elle touche tous les sexes et tous les âges. Elle peut atteindre tous les organes. L'atteinte est monoarticulaire dans au moins 90% des cas. La moitié des cas de formes polyarticulaires correspond à des biarthrites avec atteinte bilatérale. La tuberculose ostéoarticulaire résulte de la dissémination hématogène du BK à partir d'un foyer viscéral primitif, le plus souvent de siège pulmonaire. Il existe deux possibilités soit la dissémination du BK est ancienne et la survenue de la maladie correspond à une réactivation locale, soit la dissémination du BK est récente et il existe un foyer actif à distance (celui-ci pouvant lui-

même résulter soit d'une réactivation, soit d'une infection récente). Les examens biologiques sanguin sont peu de valeur diagnostique. Une augmentation de la vitesse de sédimentation (VS) entre 25 et 100 mm 1 h⁻¹ est présente dans la grande majorité des cas. La radiographie standard reste l'examen d'imagerie de première intention(57).

3.10.2.8 Tuberculose cutanée

La tuberculose cutanée est une forme clinique de tuberculose difficile à reconnaître et très probablement sous-estimée, du fait de la difficulté de la mise en évidence du BK et des nombreux diagnostics différentiels possibles (59). Elle représente 2,1% des cas, cette localisation est caractéristique par son polymorphisme, le retard au diagnostic et l'assiduité au traitement (1). Le diagnostic exact de la forme de tuberculose cutanée observée est basé sur la conjonction d'éléments cliniques (autres localisations présentes, altération de l'état général), histologiques (infiltrat lymphohistiocytaire, granulome tuberculoïde, nécrose caséuse), bactériologiques (présence de BAAR in situ, culture sur milieu de Löwenstein), immunologiques (IDR à la tuberculine) et biologiques (PCR) (58).

3.10.2.9 Tuberculose miliaire

La miliaire tuberculeuse est une forme grave, aigüe de la tuberculose mettant en jeu le pronostic vital ; elle est due à la dissémination lymphohématogène des bacilles tuberculeux à partir d'une lésion focale rompue dans le flux sanguin ou lymphatique en un ou plusieurs points de l'organisme. La définition de la miliaire est radiologique : c'est un semis de petites opacités punctiformes de la taille d'un « grain de mil » (1 à 2 mm) arrondies et bien limitées, peu denses, égales entre elles et disséminées habituellement avec régularité dans la totalité des deux champs pulmonaires. Le BCG joue un rôle protecteur contre la miliaire tuberculeuse (60).

3.10.2.10 Tuberculose congénitale

Une bacillémie tuberculeuse pendant la grossesse peut être responsable d'une atteinte placentaire et/ou du tractus génital maternel. Le fœtus peut être contaminé soit par voie hématogène à partir du placenta, soit par inhalation et/ou ingestion de liquide amniotique contaminé. La contamination fœtale est rare. Le risque est augmenté si la mère est séropositive pour le VIH (43).

3.11 Diagnostic :

Les arguments cliniques, radiologiques et anatomopathologiques ne sont pas spécifiques de la tuberculose ni des mycobactérioses en général et ne peuvent donc permettre qu'un diagnostic présomptif de la maladie et ceci plus difficilement chez l'enfant (59).

La confirmation du diagnostic de la tuberculose est d'ordre bactériologique (60).

3.11.1 Diagnostic bactériologique

3.11.1.1 Prélèvement

Les prélèvements dépendent de la localisation de la pathologie. Ils doivent être réalisés avant toute antibiothérapie. Un volume de 2ml est nécessaire. Les prélèvements seront répétés deux jours de suite si possible (61).

La qualité des résultats fournis par l'examen bactériologique dépend en grande partie des conditions de recueil et de transport des prélèvements, de leur répétition et quelques fois de leur conservation (59).

3.11.1.2 Examen direct et Culture

L'examen direct et la culture des mycobactéries restent des éléments essentiels du diagnostic bactériologique de la tuberculose (62).

3.11.1.2.1 Examen direct

Depuis plus de 125 ans, l'examen microscopique direct demeure un outil très simple et rapide renseignant sur la présence de BAAR dans les échantillons biologiques. Dans la démarche diagnostique de la tuberculose pulmonaire associée à des signes clinico-radiologiques, voire histologiques, l'examen direct renseigne sur le caractère bacillifère et donc contagieux du patient. Il repose le plus souvent sur une coloration fluorescente à l'auramine, plus sensible que celle de Ziehl Neelsen, plus spécifique (63).

La microscopie à fluorescence permet une lecture plus rapide et une économie de temps non négligeable dans les grands laboratoires (64).

3.11.1.2.2 Culture

La culture est la seconde étape après l'examen direct et sera systématique que l'examen direct soit positif ou négatif (59). Sa sensibilité est de 60 à 90%, et sa spécificité est de 100%. La culture permet d'établir un antibiogramme. Il faut distinguer les cultures sur milieu solide et sur milieu liquide. Le milieu solide est couramment représenté par celui de Löwenstein-jensen ; son principal inconvénient est la lenteur de pousse des colonies qui apparaissent jaune en 3 à 4 semaines voire 6 semaines dans les formes paucibacillaires.

Le milieu liquide est représenté par plusieurs systèmes automatisés non radioactifs. Parmi ceux-ci on peut citer (60):

- la méthode Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT)
- la méthode BaCT/Alert
- la méthode Vera TREK.

3.11.1.3 Identification :

Elle repose sur différents facteurs tels que : la coloration de Ziehl Neelsen, le délai d'apparition des colonies, la morphologie, l'aspect et les caractères biochimiques (catalase, nitrate réductase, niacine etc...). Ces étapes permettent de distinguer les espèces du *complexe tuberculosis* entre elles (23).

3.11.1.4 Etude de la sensibilité :

La mesure de la sensibilité aux antibiotiques de la souche de mycobactérie du *complexe tuberculosis* vient compléter son isolement et son identification.

Différentes méthodes sont utilisées :

- méthode classique manuelle de référence : la résistance des BK aux antibiotiques est la conséquence de mutations. On détecte dans la population de bacille infectant un malade, les mutants résistants à des concentrations d'antibiotiques voisines de celles obtenues in vivo au cours des traitements. Si la proportion de mutants résistants dépasse un taux de 1%, le traitement risque d'être inefficace. C'est la méthode des proportions sur milieu LJ qui est utilisée.
- Il existe des méthodes semi-automatisées sur milieu gélosé 7H10, 7H11 ou sur milieu liquide (MGIT, BaCT/Alert etc...) (29).

3.11.2 Diagnostic indirect :

3.11.2.1 Méthodes immunologiques

Depuis plusieurs années on s'est attaché à étudier les réponses immunologiques au cours de la TB et à mettre au point des tests immunologiques pour le diagnostic de la TB maladie et de la TB infection (65).

3.11.2.1.1 Intradermoréaction à la tuberculine (IDR) :

Elle met en évidence la présence d'une réaction cutanée d'hypersensibilité retardée induite par les antigènes mycobactériens (*M. tuberculosis*, BCG et certaines MNT). Par conséquent, l'IDR est le seul test mesurable validé témoignant d'une réponse immunitaire au BK (immunité à médiation cellulaire), mais ne témoigne toujours pas d'une protection efficace vis-à-vis du bacille tuberculeux (66). La technique et la lecture du test tuberculique se fait comme suit :

L'injection de 0,1ml de la solution de tuberculine doit être faite par voie intradermique stricte à la face antérieure de l'avant-bras au niveau de la jonction du tiers supérieur et des deux tiers inférieurs de l'avant-bras, à distance de toute cicatrice éventuelle (BCG ou autre). - Si l'injection a été faite correctement en intradermique, le produit est injecté difficilement et il se forme autour de la pointe de l'aiguille une papule dermique blanche surélevée donnant un aspect de « peau d'orange ». Si cette papule n'apparaît pas c'est que l'aiguille n'est pas à l'intérieur du derme : il faut retirer l'aiguille et faire une nouvelle injection.

La lecture du test se fait 3 à 4 jours après l'injection et comporte l'observation de la réaction sur la peau et la mesure de cette réaction.

L'observation de la peau au point d'injection montre différents aspects : soit la peau est normale, soit elle est surélevée par une papule plus ou moins rouge en son centre. Cette papule est parfois entourée d'une grande aréole rouge ou surmontée de quelques phlyctènes.

La mesure du résultat du test doit se faire avec précision : la palpation de la réaction permet de repérer les contours indurés de la papule (et non de la rougeur) que l'on marque avec un crayon. On mesure ensuite le diamètre.

3.11.2.1.2 Interferon gamma release assay (IGRA):

Les tests de relargage de l'INF gamma permettent de mettre en évidence la présence de lymphocyte T mémoires spécifiques de certains antigènes de *Mycobacterium tuberculosis* (ESAT-6, CFP-10 et plus ou moins TB7.7) (67).

Il en existe deux types : les test QuantiFERON-TB® mesurant la production d'INFgamma par test Elisa, et le test T-SPOT-TB® quantifiant par technique d'ELISPOT le nombre de lymphocytes capables de produire de l'INFgamma. Les tests IGRA ont une excellente valeur prédictive négative d'environ 99,7%. Ils ne doivent cependant être utilisés qu'en cas de suspicion de tuberculose latente et ne sont pas validés pour le diagnostic de la tuberculose maladie. Reposant sur une réponse immunitaire, ils ne doivent donc généralement pas être utilisés chez les personnes présentant une immunité cellulaire diminuée, notamment les personnes âgées immunodéprimés (68).

3.11.2.2 Test immuno- Chromatographique :

Le diagnostic antigénique de la tuberculose après croissance bactérienne a été mis au point à la fin des années 1990. Un kit basé sur la détection de l'antigène MPT64 est commercialisé (69). Le kit rapide SD BIOLINE TB Ag MPT64, est un test immuno- chromatographique basée sur la détection de l'antigène de la protéine 64 (MPT64), une protéine sécrétée pendant la croissance des mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, à l'exception de certaines souches de *M. bovis* BCG (70).

Il s'est avéré négatif chez les sujets infectés par le VIH, donc il n'est pas efficace dans le diagnostic de la tuberculose dans les pays à forte prévalence de l'infection par le VIH (29).

3.11.2.3 La mesure de l'adénosine désaminase :

L'adénosine désaminase (ADA) est un biomarqueur proposé pour aider au diagnostic de la tuberculose, cette enzyme ubiquitaire intervenant dans le métabolisme des bases puriques est largement retrouvée dans les lymphocytes T, les monocytes et les macrophages activés lors d'un processus d'immunité à médiation cellulaire (71).

L'augmentation de la concentration de l'adénosine désaminase observée dans les pathologies tuberculeuses a conduit à proposer sa mesure comme outil de diagnostic. Les études les plus intéressantes concernent la tuberculose des séreuses, en particulier la tuberculose pleurale pour laquelle la sensibilité et la spécificité de la mesure d'ADA ont été évaluées à $\approx 90\%$ (65).

3.11.2.4 Radiologie :

Les manifestations radiologiques de la tuberculose pulmonaire peuvent varier selon des facteurs liés à l'hôte, en particulier les antécédents de tuberculose, l'âge et le statut immunitaire du sujet. La radiographie thoracique reste l'imagerie de première intention et est toujours utilisée, malgré ces insuffisances, dans le dépistage des patients à risque.

La radiographie du thorax est l'outil le plus utile pour prendre en charge les infections pulmonaires et les résultats de la radiographie standard sans préparation sont suffisants dans la plupart des cas de tuberculose. Néanmoins, la tomodensitométrie (TDM) joue un rôle de mieux en mieux défini : apporter des signes diagnostiques dans les cas où la radiographie thoracique est normale ou ne permet pas de conclure, de contrôler l'activité et l'évolution du processus pulmonaire et détecter les complications (72). La radiographie du thorax peut être normale dans 15% des cas (73).

3.11.2.5 Techniques moléculaires :

L'objectif de ces techniques est de fournir une détection rapide avec identification simultanée des mycobactéries dans les échantillons d'origine pulmonaire mais aussi dans les échantillons paucibacillaires (74). Ce sont des tests puissants dont le seuil théorique de sensibilité est d'une molécule d'ADN (d'ARN) par échantillon. Cependant, cette sensibilité est souvent compromise par la présence d'inhibiteurs et la perte d'acide nucléique lors de l'extraction et la préparation de l'échantillon. La spécificité de ces techniques est également élevée. Ces techniques permettent de détecter des mutations au niveau des gènes les plus fréquemment associés à la résistance aux antituberculeux, avec un gain de temps indéniable (1 à 2 jours) (64).

3.12 Prise en charge de la tuberculose :

3.12.1 Traitement curatif :

La prise en charge de la tuberculose sensible repose sur un traitement standard de six mois associant quatre antituberculeux. Les quatre antibiotiques utilisés sont (42) :

- L'isoniazide, bactéricide, agit bien au niveau des bacilles en phase de multiplication active.
- La rifampicine agit également sur ces bacilles. Elle a en plus une activité bactéricide sur les bacilles quiescents.
- La pyrazinamide se montre particulièrement actif sur les bacilles intracellulaires.

- L'éthambutol a une activité bactériostatique et son action synergique vient appuyer celle des autres antibiotiques.

La sélection de mutant résistant a été identifiée comme cause d'échec thérapeutique (75).

Le traitement de la tuberculose multirésistante se base actuellement sur les recommandations des experts de l'OMS. Le schéma thérapeutique proposé actuellement repose sur l'association de cinq médicaments sélectionnés parmi les médicaments potentiellement efficaces (7). En cas d'immunodéficience acquise (SIDA principalement), l'antibiothérapie sera alors prolongée (9 à 12 mois) en surveillant étroitement la survenue des effets indésirables (58).

Tableau I : Principaux antibiotiques utilisés dans le traitement de la tuberculose (76).

Médicaments	Posologie		Dose maximale Par jour (mg/j)
	Adultes	Enfants	
Isoniazide	4 à 5 mg/kg/j	5 à 10 mg/kg/j	300
Rifampicine	10 mg/kg/j	10 à 20 mg/kg/j	600
Pyrazinamide	20 à 30mg/kg/j	20 à 30 mg/kg/j	2000
Ethambutol	15 à 20mg/kg/j	15 à 25 mg/kg/j	2500
Streptomycine	15 mg/kg/j	15 mg/kg/j	1000

3.12.2 Traitement préventif :

3.12.2.1 Chimio prophylaxie ou traitement de l'ITL :

Le concept de monothérapie par l'isoniazide pour traiter l'infection tuberculeuse latente (ITL) a été proposé par Mount et Ferebee. Cela a été confirmé par la suite dans plus d'une dizaine d'essais randomisés portant sur plus de 100 000 patients. Dans ces essais, l'INH a été efficace et aucune toxicité excessive n'a été signalée. Son efficacité protectrice augmente avec la durée d'administration pour atteindre un maximum de 90% à 9 mois (77). D'administration facile et bien toléré, l'INH est la base de tout traitement préventif. La posologie quotidienne varie de 5 ~ 10 mg/kg/jour en une seule prise en règle matinale (78).

3.12.2.2 Vaccination par le BCG :

Le vaccin BCG dérive de la souche initiale *Mycobacterium bovis* de Calmette et Guérin. C'est une souche vivante atténuée (79). La prévention de la tuberculose chez l'enfant passe par la vaccination par BCG. L'effet protecteur de ce vaccin est situé entre 60 et 80% selon les études avec surement une meilleure protection contre les formes graves (méningite, miliaire) (80). Il produit une

immunité de surinfection comparable à celle acquise lors de la primo-infection (77). La vaccination par le BCG est recommandée pour les enfants dès la naissance, en cas de séjours fréquents ou supérieurs à un mois dans les pays à forte incidence tuberculeuse. Elle peut être réalisée jusqu'à l'âge de 15 ans. Elle reste strictement contre-indiquée chez les patients infectés par le VIH, quel que soit le taux de CD4 (79).

3.13 La pharmacorésistance

Actuellement, le problème de la tuberculose se trouve compliqué à cause de l'apparition de souches de *M. tuberculosis* résistantes, voire multirésistantes, aux antituberculeux. De nos jours le plus grand souci réside dans la multirésistance à la combinaison d'antibiotiques utilisés dans des schémas thérapeutiques standard notamment l'Isoniazide et la Rifampicine (R). Une souche est dite MDR (multi-drug resistant) si elle est résistante au moins à l'Isoniazide et à la Rifampicine. La MDR-TB est la conséquence d'une sélection successive de mutations conférant la résistance à l'Isoniazide (81). Si la résistance inclut également les médicaments injectables (amikacine, kanamycine, et capréomycine) et les quinolones, la souche est dite extrêmement résistant (extensively-drug resistant ou XDR-TB). La multirésistance est un facteurs d'extension de la maladie car les sujets contaminés sont contagieux plus longtemps (82).

4 MATERIEL ET METHODES :

4.1 Matériel

4.1.1 Lieu et période d'étude

Nous avons effectué une étude prospective qui s'est déroulée du 1^{er} janvier 2019 au 31 décembre 2019 au service de Pédiatrie de l'hôpital du Mali. Les échantillons ont été acheminés et analysés au laboratoire Rodolphe Mérieux du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM).

4.1.2 Population d'étude

Tous les enfants âgés de 0 à 15 ans, suspectés de tuberculose, ayant consulté au service de pédiatrie de l'hôpital du Mali pendant la période d'étude.

4.1.2.1 Critères d'inclusion

Ont été inclus dans notre étude tout enfant âgé de 0 à 15 ans dont les parents ont donné leur assentiment et ayant consulté pour au moins:

- Une toux persistante supérieure à 15 jours ;
- Une toux réfractaire à toute antibiothérapie ;
- Les manifestations cliniques ou localisées d'une tuberculose ;
- Intradermo-réaction à la tuberculine positive ;
- Des images radiologiques en faveur d'une tuberculose ;

4.1.2.2 Critère de non inclusion

N'ont pas été inclus dans notre étude les enfants :

- Hospitalisés ou ayant consultés en dehors de la période d'étude ;
- Présentant d'autres suspicions de pathologie autre que la tuberculose ;
- Chez qui les prélèvements étaient impossibles ;
- Dont les parents n'ont pas donné leur assentiment.

4.1.3 Paramètres examinés

Les variables suivantes ont été étudiées :

- Les variables sociodémographiques comme : l'âge, le sexe, la provenance, le statut social et la notion de contagion.
- Les variables cliniques et thérapeutiques comme : le poids, la taille, les signes cliniques, l'état nutritionnel, le délai d'apparition des symptômes, la durée d'hospitalisation et le devenir du malade.
- Les variables biologiques comme la recherche de BAAR, l'intradermoréaction à la tuberculine, la numération formule sanguine (NFS), la protéine C réactive (CRP), le statut VIH, L'anatomopathologie.

- Les examens radiologiques comme la radiographie du thorax, la tomodensitométrie (TDM) et l'échographie.

4.1.4 Définition des cas

4.1.4.1 Confirmation du cas :

Le diagnostic de la tuberculose reposait sur l'évaluation clinique (ATCD médicaux, signes cliniques tels que la notion de contag tuberculeux, l'altération de l'état général, la fièvre nocturne, la toux chronique, dyspnée, présence des râles pulmonaires) et les examens complémentaires (IDRT positive, présence de foyers à la radiographie ou à la tomodensitométrie en faveur d'une tuberculose). La confirmation du diagnostic reposait sur la détection de BARR dans les prélèvements (Expectoration, tubage gastrique, liquides d'aspiration).

4.1.4.2 Suivi

Le suivi a été fait en trois phases :

- Phase 1 : consiste à l'observation de l'hospitalisation du tuberculeux et à une consultation régulière du médecin chaque semaine après sa libération jusqu'à deux mois ;
- Phase 2 : le 2^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} mois, les examens bactériologiques et radiologiques sont demandés pour l'évaluation du traitement ainsi que l'examen clinique ;
- Phase 3 : après le traitement de 6 mois un contrôle est fait pour la confirmation d'un cas guéri, cas d'échec, cas de rechute, cas de décès.

4.1.5 Définitions des variables d'évolution :

Nouveau cas

Malade jamais traité pour la tuberculose.

Guérison

Malade à frottis négatif au cours du 5^{ème} et du dernier mois de traitement.

Traitement achevé

Malade ayant reçu un traitement complet mais qui n'a pas eu de contrôle bactériologique au 5^{ème} mois et au dernier mois du traitement.

Echec

Malade ayant des frottis positifs au cours du 5^{ème} mois de traitement ou plus tard durant le traitement.

Rechute

Malade déclaré guéri après une cure complète de chimiothérapie correctement suivie, et dont l'expectoration contient à nouveau des bacilles (détectés par l'examen direct ou par la culture).

Décès

Malade décédé au cours du traitement, quelle que soit la cause du décès.

Interruption du traitement

Malade ayant interrompu le traitement pendant deux mois consécutifs ou plus (autrefois classé comme « abandon » ou « perdu de vue »).

TB-MR

Les souches TB résistantes au moins à l'INH et à la R.

TB-UR

Forme de TB-MR également résistante aux fluoroquinolones et à au moins un des médicaments injectables de seconde intention (amikacine, kanamycine et capréomycine).

4.1.6 Analyse et interprétation des résultats :

Les données ont été saisies sur Access et analysées par SPSS 23 ; l'interprétation et la comparaison des variables à partir du test exact de Fisher. Tous les tests statistiques sont interprétés avec un seuil de signification de 5% et les intervalles de confiance à 95%.

4.1.7 Aspect éthique :

Notre étude s'inscrit dans le cadre d'un travail d'exercice de thèse de Pharmacie. Il n'a pas encore été présenté devant un comité d'éthique, mais pourrait faire l'objet pour des besoins de publications. Par ailleurs, la confidentialité a été assurée par les numéros d'identification utilisés pour l'anonymisation des patients. Les règles de bonnes pratiques de laboratoire ont été respectées à travers l'Assurance Qualité du laboratoire. Les références bibliographiques n'ont fait l'objet d'aucune modification. Les résultats des prélèvements positifs ont été systématiquement communiqués et ensuite envoyés par le laboratoire aux cliniciens pour la prise en charge rapide des patients.

4.2 Méthodes

4.2.1 Prélèvements

Tous les prélèvements ont été effectués à l'hôpital du Mali, au service de pédiatrie.

Techniques de prélèvement d'échantillons

✓ Expectoration

Deux prélèvements d'un volume minimal de 2 ml ont été fournis par les enfants capables d'expectorer. Les expectorations ont été faites dans un pot transparent de 100 ml à large ouverture et à vis, fournis par le laboratoire. Les deux échantillons ont été prélevés deux jours de suite, le matin au réveil. Les explications à l'appui pour les bonnes conditions de recueil de bon crachat ont été faites lors de la remise du pot aux parents.

✓ **Tubage gastrique**

Le tubage gastrique est appliqué chez l'enfant lorsqu'il est impossible d'obtenir des crachats spontanément ou de les induire par expectoration provoquée. Il nécessite de garder l'enfant à jeun, indemne de tout mouvement, et de placer une sonde gastrique. Il est pratiqué avec une sonde gastrique munie d'une seringue. Le suc gastrique est aspiré et mis dans le pot à crachat.

✓ **Liquide de ponction**

Les pus et les liquides de ponction (liquide d'ascite, pleural, LCR, LBA) ont été recueillis dans des tubes stériles avec un couvercle à vis. Les abcès moins abondants en pus ont été prélevés sur écouvillons. Les pus, pour libérer les germes du mucus, subissent une étape de décontamination et fluidification. Les liquides de ponctions étant stériles, sont centrifugés et le culot mis en suspension avec l'albumine bovine est directement ensemencé et étalé sur lame pour l'examen direct.

Transport et conservation des échantillons :

Les échantillons ont été transportés au LRM dans des sacs de transport d'échantillons contenant des accumulateurs de froid pour maintenir la température basse. Leur transport est fait immédiatement dans les 2 heures qui suivent le prélèvement. Les échantillons ont été conservés dans le réfrigérateur à +4°C avant l'heure de la technique.

4.2.2 Méthodes de traitement des échantillons au laboratoire :

4.2.2.1 Décontamination, fluidification, concentration

La méthode de décontamination-fluidification par la N-acétyl-cystéine et 2% NaOH ou méthode de Kubica a été adoptée. La N-acétyl-cystéine agit comme fluidifiant et la solution de soude à 2% agit pour limiter la prolifération des autres bactéries de la flore. Le mélange N-acétyl-cystéine + NaOH dosée à 2% est ajouté à volume égal à l'échantillon et maintenu à température ambiante pendant 20 mn. Le tampon phosphate pH 6,8 est utilisé pour neutraliser la réaction de décontamination. Les tubes sont centrifugés pendant 15 mn à 3000/mn à 4°C. Le surnageant est versé dans une poubelle à déchets liquides et le culot est repris avec 1 ml de tampon phosphate.

4.2.2.2 Etalement, coloration et observation microscopique des frottis :

Une à deux gouttes de la suspension du culot est étalée sur une lame propre dégraissée et identifiée par le numéro de laboratoire. Les frottis sont séchés puis fixés sur une plaque chauffante pendant environ 1 heure. Ils sont colorés par la méthode de Ziehl Neelsen à froid et par la méthode à l'auramine. (Cf. Mode opératoire en annexe).

Les lames ainsi colorées et séchées passent à l'observation microscopique. La lecture est faite aux microscopes optique (à l'objectif 100x) et à fluorescence (à l'objectif 40x). Les BAAR apparaissent

sous forme de bâtonnets fins, souvent incurvés de couleur rouge ou rose sur fond bleu au microscope optique et jaune doré au microscope à fluorescence.

Tableau II: Echelle de lecture des frottis colorés par la méthode de Ziehl Neelsen (Objectif 100x).

NOMBRE DE BAAR	CODE UTILISE
Pas de BAAR pour 100 champs	Négatif
1 à 9 BAAR pour 100 champs	Faiblement positif
10 à 99 BAAR pour 100 champs	+
1 à 10 BAAR par champ	++
Plus de 10 BAAR par champ	+++

Tableau III : Echelle de lecture des frottis colorés à l'Auramine (Objectif 40x).

Fluorescence Grossissement 400X ; une longueur = 40 champs = 200 CFG	Interprétation
Zéro BAAR/ 1 longueur	Négatif
1-19 BAAR / 1 longueur	Faiblement positif
20-199 BAAR / 1 longueur	+1
5-50 BAAR / 1 champ en moyenne	+2
>50 BAAR / 1 champ en moyenne	+3

4.2.2.3 Culture :

Le reste de la suspension est utilisé pour la culture en milieux solide et liquide. Pour chaque échantillon un milieu liquide et un milieu solide ont été inoculés. Le reste du culot est gardé dans un cryotube et conservé à – 20°C.

Pour la culture sur milieu liquide nous avons utilisé le système BD BACTEC MGIT (Becton Dickinson).

Le supplément de croissance BACTEC MGIT est ajouté à chaque tube MGIT de façon à apporter les éléments essentiels à la croissance rapide des mycobactéries. La contamination peut être réduite par l'addition au bouillon de base BBL MGIT du supplément de croissance BACTEC MGIT/complexe d'antibiotiques MGIT PANTA avant l'inoculation avec un échantillon

clinique. Chaque tube MGIT est inoculé avec 0,5 ml de la suspension et incubé dans l'automate pour une durée de 42 jours. (Cf. Mode opératoire en annexe).



Figure 5: Automate Bactec MGIT 960.

Les milieux solides utilisés ont été soit le milieu Löwenstein Jensen ; soit le milieu 7H11 de Middlebrook. A l'aide d'une pipette pasteur, inoculer le tube identifié avec 2 gouttes de la suspension. Les tubes sont incubés à 37°C, inclinés et légèrement débouchés. Ils sont régulièrement observés la 1^{ère} semaine puis une fois par semaine pendant 8 semaines. (Cf. Mode opératoire en annexe)

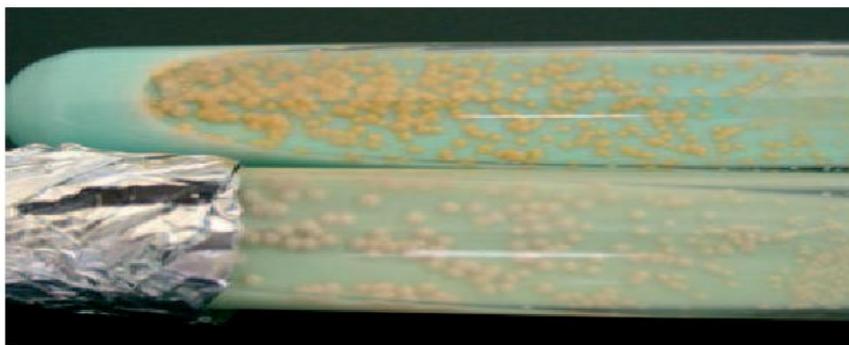


Figure 6 : Image des mycobactéries sur milieu Löwenstein Jensen.



Figure7 : Image des mycobactéries sur milieu 7H11.

4.2.2.4 Identification :

Les tests d'identification sont réalisés sur les tubes MGIT, détectés positif par l'automate ainsi que sur les colonies présentes sur les milieux solides. La confirmation se fait par examen direct réalisé à partir des cultures.

4.2.2.4.1 Test Ag MPT64 :

Le kit SD BIOLINE TB Ag MPT64 est un test immuno- chromatographique rapide de détection du complexe *Mycobacterium tuberculosis* basé sur l'anticorps monoclonal de souris anti-MPT64. Chaque test se présente sous forme de cassette avec une zone échantillon et une zone de lecture. Le test est réalisé à partir de milieu liquide ou solide positifs. A partir d'un milieu liquide, prélever 100µl de bouillon et mettre dans le puits S du test.

Pour une culture sur milieu solide, préparer à partir du tampon, une suspension de 200µl avec 3- 4 colonies et déposer 100µl de la suspension dans la zone de test S.

La lecture des réactions s'effectue au bout de 15 mn. (Cf. Mode opératoire en annexe).

4.2.2.4.2 Test Genotype MTBDR plus

Ce test permet d'identifier le complexe *tuberculosis* et d'évaluer la résistance à la rifampicine et/ou à l'isoniazide en une seule phase. (Cf. Mode opératoire en annexe).

4.2.2.5 Sensibilité aux antibiotiques

4.2.2.5.1 Antibiogramme en milieu liquide (MGIT AST/SIRE)

Le système MGIT AST/SIRE est un test de sensibilité qualitatif de *Mycobacterium tuberculosis*, réalisé après l'identification. Les antibiotiques testés sont, la Streptomycine, l'Isoniazide, la Rifampicine, et l'Ethambutol. Le test est basé sur une comparaison de la croissance d'un isolat de

M. tuberculosis dans un tube contenant un antibiotique avec celle obtenue dans un tube sans antibiotique (témoin de croissance). (Cf. Mode opératoire en annexe).

4.2.2.5.2 Test Genotype MTBDR plus :

Le test permet la détection simultanée des gènes qui confèrent la résistance à la rifampicine et/ou à l'isoniazide à savoir la KatG et l'inH pour l'isoniazide ; et la rpoB pour la rifampicine. (Cf Mode opératoire en annexe).

4.2.2.6 Conservation des souches :

Toutes les souches de mycobactéries isolées au cours de l'étude ont été conservées au niveau de la souchothèque pour une utilisation future.

A partir du milieu liquide, 1 ml de bouillon est prélevé et centrifugé dans un tube Eppendorf. Le surnageant est jeté et le culot conservé dans du glycérol à 20% dans un cryotube à vis de 1,8 ml et gardé entre -20 et -80°C.

A partir du milieu solide, quelques colonies sont prélevées et resuspendues dans du glycérol à 20% dans un cryotube à vis et gardé entre -20 et -80°C.

4.2.3 Contrôle de qualité

4.2.3.1 Contrôle de qualité interne

Toutes les étapes pré-analytiques, analytiques, et post-analytiques font l'objet de contrôle de qualité. La qualité des prélèvements est évaluée par rapport au volume et à l'aspect afin d'augmenter la chance de recouvrement des mycobactéries.

Le laboratoire dispose d'une série de souches de référence pour évaluer la qualité des cultures et des frottis.

- *M. tuberculosis* ATCC 27294 (sensible à toutes les molécules)
- *M. tuberculosis* ATCC 35820 (résistante à la Streptomycine)
- *M. tuberculosis* ATCC 35822 (résistante à l'isoniazide)
- *M. tuberculosis* ATCC 35838 (résistante à la Rifampicine)
- *M. tuberculosis* ATCC 35837 (résistante à l'Ethambutol)
- *M. bovis* BCG ATCC 35735
- *M. kansasii* ATCC 12478
- *M. avium* ATCC 15769
- *M. fortuitum* ATCC 6841
- *M. gordonae* ATCC 35758
- *M. intracellulare* ATCC 13950

Ces souches sont utilisées pour effectuer le contrôle de qualité des tests d'identification, des antibiogrammes, et du géotypage des mycobactéries.

Ces souches sont gardées et sécurisées dans le laboratoire de confinement P3 du CICM.

4.2.3.2 Contrôles de qualité externe :

Le LRM est inscrit dans une démarche qualité en vue d'une accréditation à la norme ISO15189. L'évaluation externe de la qualité (EEQ) pour la tuberculose s'effectue avec le « **Line Probe Assay Quality Assurance Program** », débuté en 2010 en collaboration avec le Réseau international des laboratoires Christophe et Rodolphe Mérieux à travers le monde utilisant un test moléculaire d'hybridation inverse. Le programme comporte un envoi annuel de six échantillons à identifier et à caractériser.

5 RESUSTATS

5.1 Résultats globaux

Notre étude s'est déroulée du 1^{er} janvier au 31 décembre 2019 soit une année.

Au cours notre période d'étude, 10 207 patients ont été consultés au service de pédiatrie de l'Hôpital du Mali sur lesquels 58 enfants répondant aux critères d'inclusion ont été retenus dans notre étude. Parmi les enfants retenus, 52 (89,66%) étaient hospitalisés et 6 (10,34%) avaient consultés en ambulatoire. Le diagnostic de la tuberculose a été retenu chez 8 enfants, soit une fréquence de 0,078%. Notre étude a porté sur ces 8 enfants dont les caractéristiques sont décrites ci-dessous.

Caractéristiques socio-démographiques :

Tableau IV : Fréquence selon la profession du père.

Profession père	Fréquence	Pourcentage
Cultivateur	3	37,5
Orpailleur	2	25,0
Ouvrier	3	37,5
Total	8	100,0

Les enfants des cultivateurs et des ouvriers étaient les plus représentés soit 37,5% chacun. Toutes les mères étaient des ménagères.

Tableau V : Fréquence selon la provenance des enfants.

Provenance	Fréquence	Pourcentage
Rurale	5	62,5
Urbaine	3	37,5
Total	8	100,0

La provenance rurale représentait 62,5%.

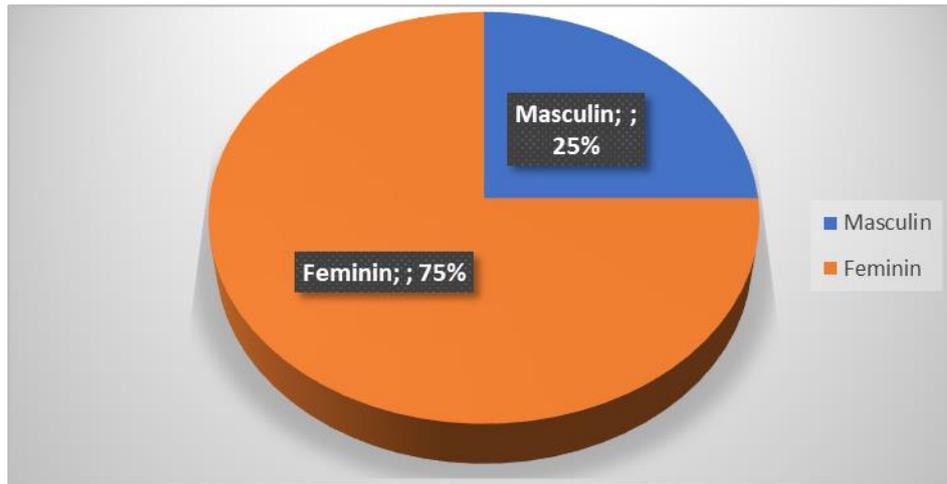


Figure8 : Répartition des 8 enfants selon le sexe.

Le sexe féminin était le plus représenté avec 75% des cas, soit 6 Féminins /3 Masculins, avec un sex-ratio de 3.

Tableau VI : Répartition des enfants à partir de la tranche d'âge.

Tranche d'âge (ans)	Fréquence	Pourcentage
< 1	2	25,0
1 – 5	3	37,5
6 – 10	2	25,0
11 – 15	1	12,5
Total	8	100,0

La tranche d'âge de 2 à 5 ans prédominait avec un taux de 37,5% Les enfants de 11 à 15 ans était faiblement représentés avec un taux de 12,5%. L'âge moyen était de 4,7 ans.

5.2 Résultats descriptifs des 8 cas

Présentation du cas 1 : d0423101 KK

Il s'agissait d'une fille de 10 mois hospitalisée pour toux chronique et malnutrition aigüe sévère. Ses parents sont des paysans dont la mère était sous traitement antituberculeux.

Une notion de contagé familial avait été observée.

KK est le 10^{ème} enfant d'une fratrie de 10. Il y a eu 1 décès dans la famille dont la cause n'a pas été connue. Elle a été réhospitalisée pour les mêmes causes 4 mois plus tard.

KK a reçu le vaccin du programme élargi de vaccination, le BCG.

Les parents sont venus en consultation environ 2 mois après le début des symptômes, marqué par une toux productive chronique, altération de l'état général, fièvre et pâleur, les incitant à une automédication. C'est à la suite d'une campagne de vaccination qu'un pédiatre conseil les parents de l'enfant de se rendre au CSRef de la localité pour une suspicion de tuberculose pulmonaire. Après confirmation à l'examen direct d'un tubage gastrique et en raison du manque de traitement antituberculeux de forme pédiatrique, elle fut référée à l'hôpital du Mali pour une prise en charge appropriée.

A l'admission, le poids était de 5,2 kg, la taille de 63 cm et la température 38°C ;

Son état général était altéré avec Z-score < -3.

Les conjonctivites révélait une pâleur moyenne, le thorax symétrique et harmonieux avec une détresse respiratoire, sans râles, et FR de 30 cycles/mn. Le bruit du cœur était audible et régulier avec une FC = 120 battements/mn. Son abdomen était souple sans aucune masse palpable ni organomégalie. La conscience était normale.

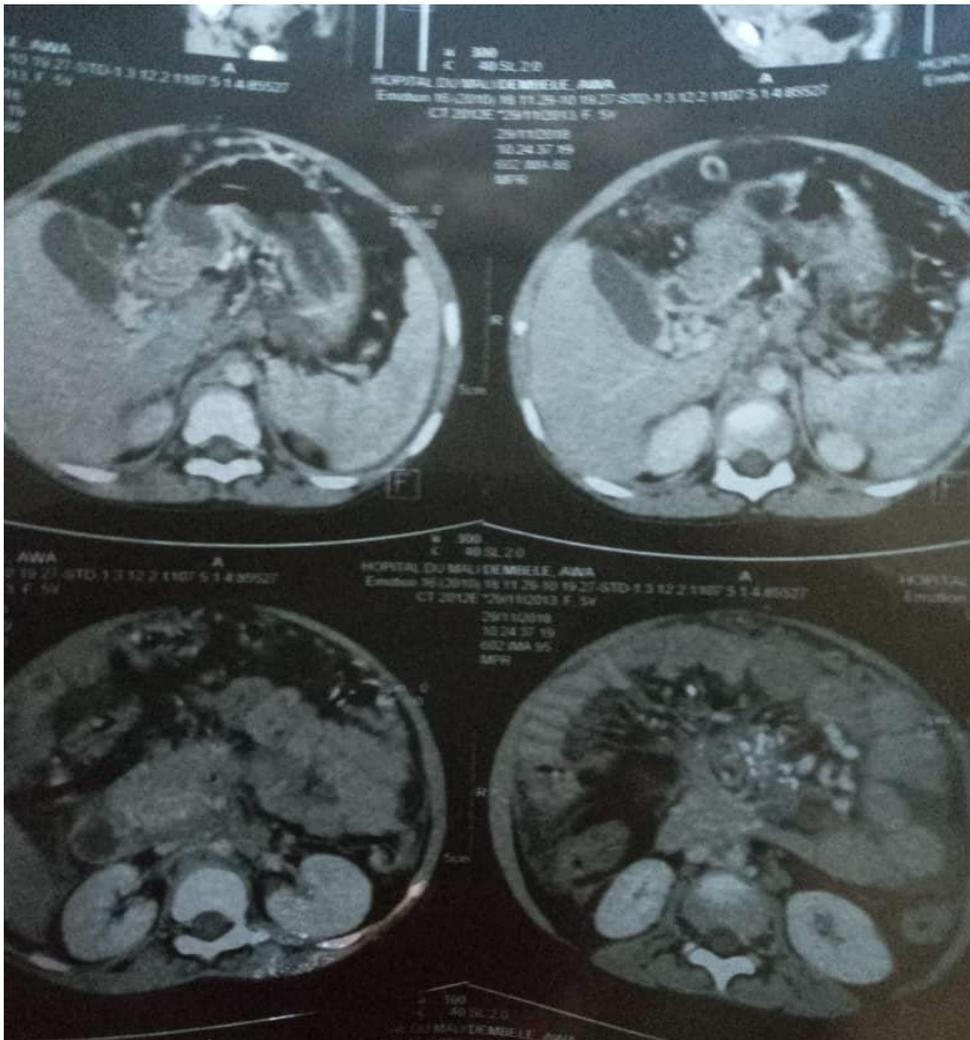
La créatininémie, l'azotémie et les marqueurs enzymatiques (ALAT et ASAT) étaient normaux ;

L'hémogramme a montré une neutropénie et une lymphocytose.

L'IDR à la tuberculine était positive à 10 mm.

Le tubage gastrique a révélé une souche de *Mycobacterium tuberculosis* sensible au antituberculeux de première ligne.

L'enfant a été mis sous traitement à base de **RHZE** pendant 2 mois en phase intensive et **RH** pendant 4 mois en phase d'entretien. Une prise en charge nutritionnelle a été mise en place. Nous avons été informés d'un échec de traitement après des contrôles réalisés au CSRef de San.



Présentation du cas 2 : d0430071 RK

Il s'agissait d'une fille de 13 ans qui était venue accompagner sa sœur hospitalisée pour tuberculose. Après avoir effectué quelques épisodes de toux, les médecins l'ont fait passer un examen bactériologique des expectorations. Sa mère était sous traitement antituberculeux. Issue d'une fratrie de 10 enfants, RK est le 4^{ème} enfant de la fratrie. Elle n'avait pas reçu le vaccin BCG. A l'arrivée à l'hôpital, elle avait 52 kg, mesurait 153 cm avec une température de 36,9 °C. Sa morphologie thoracique était normale, pas de détresse respiratoire ni de râles. Elle ne présentait pas de pâleur.

Les bruits du cœur étaient normaux. Elle avait un abdomen souple et dépressible sans masse palpable et une conscience normale.

Les examens biochimiques ont révélé une créatininémie basse (46 µmol/l) et une urémie normale (24 UI/l).

Les marqueurs enzymatiques ALAT et ASAT étaient tous normales (24 UI/l et 22 UI/l).

L'hémogramme indique une neutropénie ainsi que la présence de lymphocytes atypiques.

Le liquide gastrique a révélé des souches sensibles aux antituberculeux de première ligne. La patiente a ainsi été mise sur traitement antituberculeux à base de **RHZE** pendant 2 mois et **RH** pendant 4 mois. La patiente et sa sœur ont été libérées quelques jours après le début du traitement. Après six mois de suivi bactériologique, RK a été déclaré guéri à la suite d'une disparition des symptômes et des BK dans les expectorations.

Présentation du cas 3 : d0723053 : MD

Il s'agissait d'un garçon de 6 ans amené à l'hôpital du Mali par ses parents pour altération de l'état général et hospitalisé pour toux chronique et syndrome anémique. Ses parents ne présentaient aucun ATCD médico-chirurgical connu. Il est le 6^{ème} enfant d'une fratrie de 7 enfants dont deux sont décédés pour syndrome néphrotique et un 3^{ème} pour malnutrition aiguë sévère. Il vient d'un village non loin d'un site d'orpaillage. Les parents ont consulté après environ 12 mois de symptomatologie, marqué par la présence d'une masse abdominale et un amaigrissement évolutif, ce qui leur a permis de venir à Bamako pour une meilleure prise en charge. MD avait reçu le vaccin BCG. Il n'avait pas la notion de contagion familiale.

A l'entrée, son poids était à 14 kg, sa taille à 97 cm (IMC à 14,90) et sa température à 37,5°C.

Les conjonctives présentaient une pâleur moyenne.

Le thorax était symétrique et harmonieux, sans râles ni détresse respiratoire. Les bruits cardiaques étaient audibles et réguliers avec une fréquence cardiaque de 80 battements/mn.

Son abdomen était souple et dépressible avec hépatomégalie non douloureuse et présence d'ascite de grande abondance. Son périmètre abdominal est 66cm.

Elle avait une conscience normale.

L'hémogramme fait ressortir une anémie normochrome.

Les analyses biochimiques ont quantifié la glycémie à 5,7mmol/l, CRP = 95,63 mg/l et créatinémie à 24,53 μ mol/l. Les sérologies VIH et antigène HBs étaient négatifs.

L'IDR à la tuberculine a été négative et le résultat de la TDM était en faveur d'une polykystose hépatorénale avec des kystes spléno-pancréatiques.

Après confirmation et évaluation de la sensibilité de la souche de *Mycobacterium tuberculosis* isolée, par les techniques bactériologiques, MD a été mis sur traitement antituberculeux en raison de **RHZ** durant 2 mois en phase invasive et **RH** durant 4 mois en phase d'entretien.

Nous avons été informés du décès de MD quelques jours après avoir commencé le traitement.

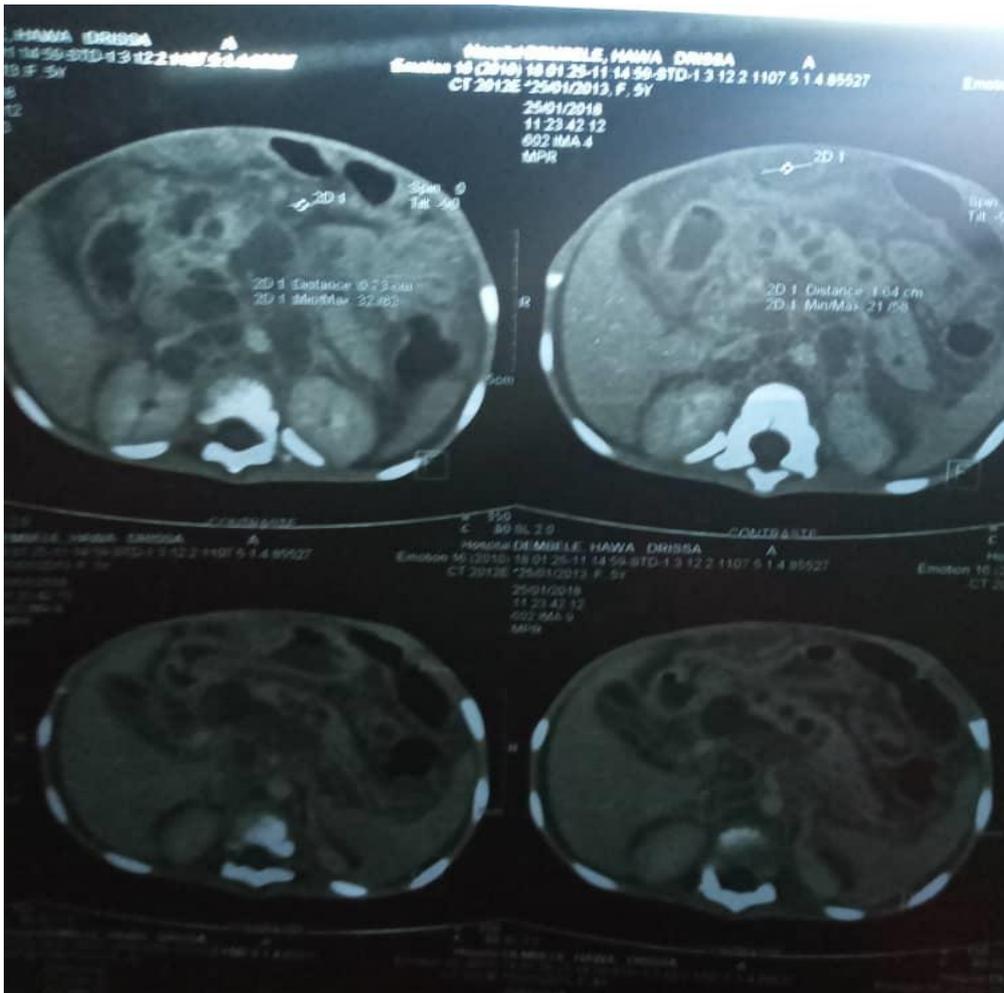


Figure : Radiologie pulmonaire de l'enfant MD.

Présentation du cas 4 : d0726042 : HD

C'était une fillette de 3 ans, hospitalisée pour hépatomégalie. Ses parents n'ont pas d'ATCD médico-chirurgicaux connus. Elle est le 7^{ème} enfant d'une fratrie de 7 enfants dont deux sont décédés pour syndrome néphrotique et un autre pour malnutrition aigüe sévère.

La famille vivait dans une zone minière.

HD a reçu le vaccin BCG. L'apparition des symptômes remonterai à 2 mois marquée par une fièvre intermittente, une toux grasse et des vomissements, ce qui a poussé ses parents à une automédication à base de plante et de sirop non spécifié mais sans amélioration. Vu la persistance des symptômes, les parents décident de l'amener à Bamako pour une prise en charge optimale.

Le diagnostic arrêté étaient une tuberculose.

A leur arrivé à l'hôpital, elle pesait 8,9 kg, avait une taille de 88 cm et sa température faisait 36,5°C..

Son état général était altéré avec Z-score < -3, absence de pâleur.

Son thorax était symétrique. Il n'y avait ni râles ni détresse respiratoire avec une FR = 44 cycles/mn.

Les bruits du cœur était audible et régulier avec une fréquence cardiaque de 78 battements/mn.

La patiente avait un abdomen souple avec une douleur au niveau du flanc droit et une conscience normale.

L'hémogramme indique une anémie microcytaire.

Les sérologies HIV et HBs étaient négatives. L'IDR à la tuberculine était négative.

Les marqueurs biochimique ASAT et ALAT étaient à 22,59 UI/l et 27,77 UI/l.

La tomodensitométrie était en faveur d'une hépatomégalie nodulaire en rapport avec des lésions secondaires d'une probable tumeur primitive bronchopulmonaire droite de stade III.

Après confirmation bactériologique de la tuberculose, la patiente a immédiatement été mis sous traitement antituberculeux en raison de RHZ pendant 4 mois et RH pendant 2 mois.

Elle a été déclarée guéri à la fin du suivi après négativation des frottis.

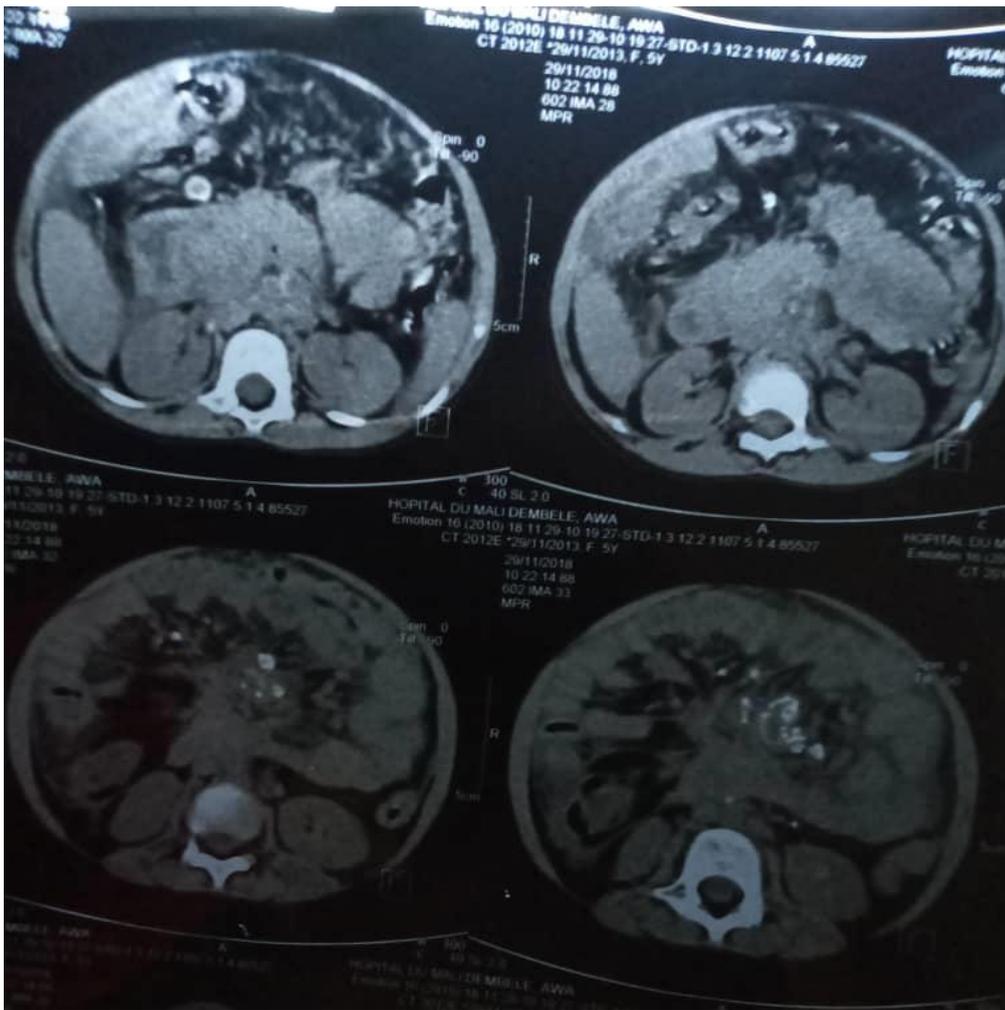


Figure : Radiologie pulmonaire de l'enfant HD.

Présentation du cas 5 : d0822049 : BB

Il s'agissait d'une fille de 2 ans, hospitalisée pour syndrome anémique. Ses parents n'avaient aucun ATCD médico-chirurgicaux connus. Issus d'une fratrie de 2 enfants, BB était le 2^{ème} enfant de la fratrie.

L'histoire de la maladie remonterait à 4 mois, marquée par une fièvre non quantifiée, anorexie, des lésions buccales motivant les parents à faire une automédication à base de décocté de plante, sans succès. Devant la persistance des symptômes et d'adjonction d'une distension abdominale douloureuse, elle fut amenée par ses parents au centre de santé sur place où elle a reçu un traitement antitussif, sans amélioration. Dès lors ses parents l'ont amené à Bamako pour prise en charge. Arrivé, ils ont consulté à l'ASACO qui les ont référé à l'hôpital du Mali pour MAS après traitement à base de ceftriaxone et gentamycine. Le diagnostic arrêté était un syndrome anémique.

A l'arrivée, elle avait un amaigrissement (poids = 8kg), une taille de 77 cm, une température de 38,9°C et une altération de l'état général Z-score < -3.

On notait une pâleur des conjonctives.

Son thorax était symétrique avec présence de râles SPO2 = 91%.

Elle présentait une détresse respiratoire FR = 10 cycle/mn.

Les bruits du cœur étaient audibles avec un soufflement régulier et une tachycardie FC = 140 battements/mn. Son abdomen était distendu et douloureux.

On notait la présence d'un œdème unilatéral du membre inférieur gauche.

La conscience était normale. Elle avait reçu le vaccin BCG.

BB était SRV négative et IDR négative.

L'hémogramme a révélé une anémie Hb = 3,2 g/dl, conduisant à une transfusion sanguine de 160 ml de sang.

Après diagnostic bactériologique, l'antibiogramme a révélé une souche de *Mycobacterium tuberculosis* résistante à l'isoniazide.

La patiente est décédée avant d'être mis sous traitement.

Présentation du cas 6 : d0829082 : AD

Il s'agissait d'un garçon de 2 ans, hospitalisé pour MAS, toux chronique et pâleur. AD était le 3^{ème} enfant d'une fratrie de 4 enfants dont un décès due à des causes méconnues.

Les symptômes ont débuté il y'a 4 mois par toux sèche, fièvre nocturne et vomissements post-prandiaux. C'est ainsi que ses parents l'amène à une clinique qui décide de les référer à l'hôpital du Mali pour une PEC optimale.

A l'entrée, il pesait 8,4 kg avec une taille de 82 cm. Sa température envoisinait les 37,5°C

Son état général était altéré avec Z-score <-3.

Absence de pâleur.

Il avait reçu le vaccin BCG.

Son thorax était normal sans aucune détresse respiratoire FR = 24 cycle/mn. On notait la présence de râles avec SPO2 = 98%. Le battement cardiaque était audible et régulier avec une fréquence FC = 100 battements/mn.

Son abdomen était souple et dépressible sans masse palpable et avait une conscience claire.

La SRV étaient tous négatives. Les analyses biochimiques ont révélé une glycémie de 6 mmol/l, une CRP à 133 mg/l et la créatinémie à 22 µmol/l.

L'hémogramme a révélé une anémie Hb = 5,5 g/dl.

L'intradermoréaction à la tuberculine était positive.

Après confirmation et évaluation de la sensibilité de la souche de *Mycobacterium tuberculosis* isolée, le malade fut mis sous traitement antituberculeux à base de RHZ durant 2 mois et RH durant 4 mois. Une PEC de la malnutrition avait également été mis en place.

AD a été déclaré guéri au terme d'un suivi bactériologique de 6 mois.

Présentation du cas 7 : d0823038 : MD

C'était une fille de 9 ans, hospitalisée pour toux chronique. MD est l'enfant unique. Sa mère est décédée de toux chronique.

L'épisode de la maladie remontait à 20 jours environ, marqué par une toux chronique et fièvres nocturnes. Après un échec face à un traitement non spécifique, ses décide de l'amener à l'hôpital du Mali pour une prise en charge optimale.

A l'admission, elle pesait 23 kg avec une taille de 131 cm et avait une température de 36°C. Son IMC était de 13,40.

Pas d'altération de l'état général.

Elle avait un thorax symétrique et harmonieux, sans râles avec une FR = 20 cycles/mn.

Les bruits du cœur étaient audibles et réguliers et son abdomen souple et dépressible.

Elle avait une conscience normale. Elle présentait la cicatrice BCG.

L'hémogramme a révélé une anémie Hb = 8,6 g/dl.

La SRV était négative. L>IDR à la tuberculine était positive IDR = 8mm.

La CRP était à 139,53 mg/l et le dosage de l'IgE à 1249,8 UI/ml.

La radiographie était en faveur d'une tuberculose pulmonaire.

L'antibiogramme et le test MTBDR_{plus} ont montré une souche de *Mycobacterium tuberculosis* sensible au antituberculeux de première ligne.

MD fut ensuite mis sous traitement à base de RHZ à titre intensif pendant 2 mois et RH à titre d'entretien pendant 4 mois. Après un suivi bactériologique de 6 mois, elle fut déclarée guéri suite à la négativation des expectorants.

Présentation du cas 8 : d0911076 : AC

Il s'agissait d'une fille de 8 mois hospitalisée pour MAS. Issue d'une fratrie de 2 enfants, elle est le 2^{ème} enfant de la fratrie. Ses parents sans ATCD médico-chirurgicaux vivaient dans des conditions socio-économiques défavorables dans un quartier à périphérie de Bamako. Sa mère est décédée suite à une cause méconnue.

Les symptômes auraient débuté il y'a 2 mois par toux, fièvre et vomissement post-prandiaux, ce qui a poussé son père à l'amener à l'hôpital du Mali pour une bonne prise en charge.

A l'admission, elle pesait 5,8 kg et mesurait 70 cm.

Sa température était à 37,8°C avec une taille de 70cm.

Elle avait une AEG Z-score < -3.

Son thorax était morphologiquement normal. On notait la présence d'une détresse respiratoire avec une SPO2 = 84% sans oxygénothérapie et une FR = 44 cycle/mn. Les bruits du cœur étaient audibles avec une FC = 100 battements/mn. L'abdomen était souple, ne présentant pas d'organomégalie. La conscience était conservée.

AC n'était pas vaccinée par le BCG.

La goutte épaisse pour la recherche de *Plasmodium falciparum* était négative.

L'hémogramme révèle une anémie Hb = 8,2 g/dl.

La glycémie était à 5,4 mmol/l, la CRP à 128 mg/l et la créatininémie à 21 mg/l.

La sérologie VIH était négative. L>IDR était positive (IDR= 6 cm)

Une prise en charge nutritionnelle avait été instaurée.

Après identification et antibiogramme, la patiente a été mis sous traitement antituberculeux en raison de RHZ pendant 2 mois et RH pendant 4 mois.

AC est décédé 19 jours plutard après avoir été libérée.

5.3 Résultats cliniques et analytiques :

Tableau VII : Répartition des enfants en fonction de la notion de contagé.

Contagé	Effectif	Pourcentage
Non	6	75,0
Oui	2	25,0
Total	8	100,0

Nous avons noté un contagé familial chez 2 enfants, soit 25% des cas.

Tableau VIII : Répartition des enfants en fonction de la durée des symptômes avant consultation.

Durée des symptômes	Effectif	Pourcentage
< 1 mois	1	12,5
1 à 4 mois	6	75,0
4 à 12 mois	1	12,5
Total	8	100,0

Les symptômes avant consultation ont duré entre 1 et 4 mois chez 75% des enfants.

Tableau IX : Répartition des enfants en fonction de la sérologie VIH.

Sérologie VIH	Fréquence	Pourcentage
Négative	5	62,5
Non faite	3	37,5
Total	8	100,0

La sérologie VIH était négative chez 5 sujets soit 62,5% des cas.

Tableau X : Fréquence des signes cliniques retrouvés chez les 8 enfants.

Symptômes	Fréquence	Pourcentage
-----------	-----------	-------------

Toux	7	87,5
Fièvre	5	62,5
AEG	4	50
Vomissement	2	25
Sueur nocturne	3	37,5
Pâleur	6	75
Dyspnée	3	37,5
Douleur thoracique	2	25
Anorexie	3	37,5
Ascite	1	12,5
Hépatomégalie	2	25
Présence de râles	2	25
OMI	1	12,5

La toux était le symptôme le plus rencontré avec 87,5%, suivi de la pâleur, la fièvre et l'altération de l'état général avec 75%, 62,5% et 50%. C'étaient aussi les motifs de consultation les plus fréquents.

Tableau XI : Répartition des 8 enfants en fonction de la nature du prélèvement.

Nature du prélèvement	Fréquence	Pourcentage
Expectoration	2	25,0
Tubage gastrique	6	75,0
Total	8	100,0

Dans notre étude le tubage gastrique était l'échantillon le plus recueilli avec 75%.

Tableau XII : Répartition des 8 enfants en fonction des résultats de l'intradermoréaction à tuberculine et de l'examen microscopique.

Microscopie	IDRT		Total
	Positive	Négative	
Positive	3 (37,5%)	3 (37,5%)	6 (75%)
Négative	1 (12,5%)	1 (12,5%)	2 (25%)
Total	4 (50%)	4 (50%)	8 (100)

K= 0,38 ; il existe un accord faible entre les deux tests.

Les échantillons positifs à l'IDR ont été confirmés à l'examen microscopique dans 37,5% des cas.

Tableau XIII : Répartition des 8 enfants selon le statut vaccinal et les résultats de l'intradermoréaction à la tuberculine.

BCG	IDRT		Total
	Positive	Négative	
Oui	2 (25%)	3 (37,5%)	5 (62,5%)
Non	2 (25%)	1 (12,5)	3 (37,5)
Total	4 (50%)	4 (50%)	8 (100%)

K= 0,59 ; il existe un accord modéré entre les tests.

L'IDR était positive chez 25% des enfants ayant reçu le vaccin BCG.

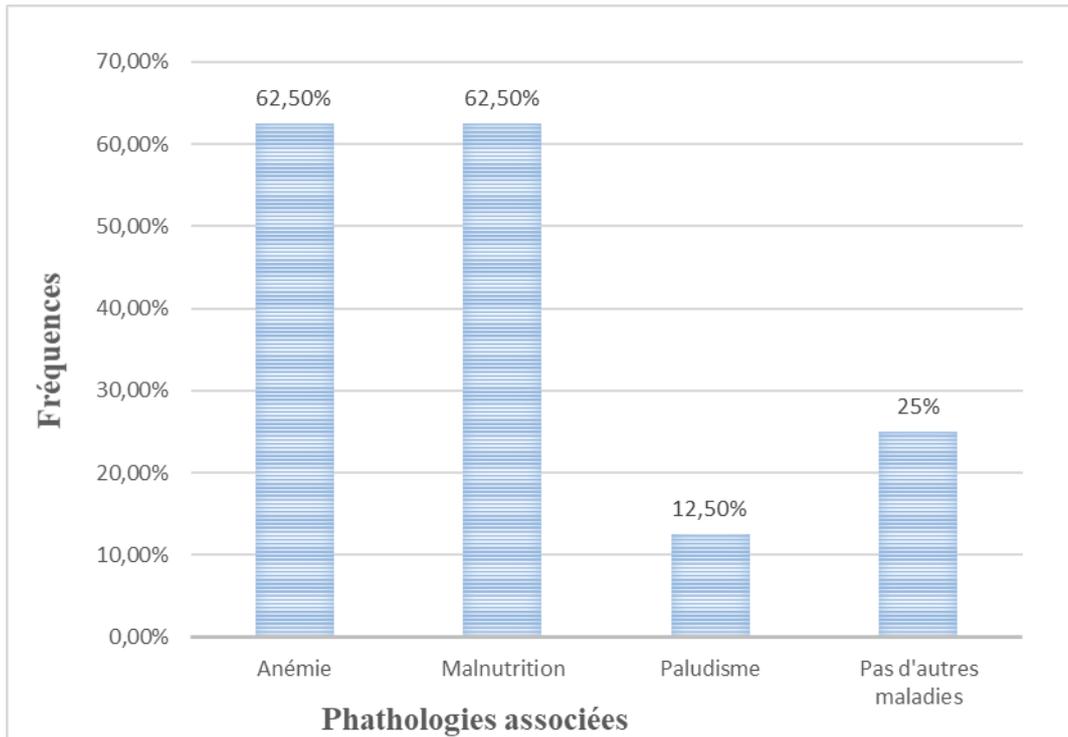


Figure9 : Fréquence des maladies associées chez les 8 enfants.

L'anémie et la malnutrition étaient les pathologies les plus retrouvées avec 62,50% chacun.

Tableau XIV : Répartition des 8 enfants en fonction des schémas thérapeutiques.

Schéma thérapeutique	Fréquence	Pourcentage
2 RHZ/4 RH	3	37,5
2 RHZE/4 RH	4	50,0
Non traité	1	12,5
Total	8	100,0

Dans notre étude, le schéma thérapeutique **2 RHZE/4 RH** était le plus adopté soit 50%.

Tableau XV : Répartition des 8 enfants selon le résultat du traitement.

Résultats	Effectif	Pourcentage
Guéri	4	50,0
Décès	3	37,5
Echec	1	12,5
Total	8	100,0

Le taux de guérison des enfants atteints de tuberculose était de 50%.

6 DISCUSSIONS

6.1 Limite de l'étude :

Au Mali de nombreux travaux ont été consacrés à la tuberculose. La plupart concernait la tuberculose de l'adulte.

Nos résultats sont difficilement comparables à la plupart des études réalisées sur la tuberculose de l'enfant du fait de différences méthodologiques (durée de l'étude, type d'étude, manque de donnée sur les patients, etc..).

Dans notre étude, le diagnostic était bactériologique basé sur la microscopie et la culture excluant les autres moyens de diagnostic (Gene Expert, anatomopathologie, imagerie, etc....).

Nos statistiques sont difficilement extrapolables à tous les enfants puisque l'étude n'a concerné qu'un seul service de pédiatrie.

6.2 Résultats globaux :

Notre étude s'est déroulée du 1^{er} janvier au 31 décembre 2019 au service de pédiatrie de l'Hôpital du Mali. Durant cette période 58 enfants ont répondu aux critères d'inclusion parmi lesquels 8 étaient positifs au diagnostic de la tuberculose soit une fréquence de 0,078%. Cette fréquence est égale à celle de Ouédraogo et al soit 0,078 mais plus faible que celle de Morba , 0,2 (13) et Roudies et al, 1%(83).

Des fréquences plus élevées ont été apporté par Kolo et al, 23% (84), Ralhy et al 6,81% (85).

Le nombre de cas de notre série est moins élevé que celui des littératures précédentes. Ceci peut s'expliquer par une période d'étude assez courte, et aussi du fait que nous n'avons pas tenue compte des résultats provenant d'autres laboratoires.

6.3 Caractéristiques socio-démographiques :

Profession des parents

Les enfants des cultivateurs et des ouvriers étaient plus nombreux soit 37% chacun. Toutes les mères étaient ménagères. Ces valeurs sont comparable à celles de Morba qui a trouvé une fréquence élevée de père commerçant soit 41% et les mères ménagères étaient plus représentées (13).

Provenance des enfants

La majorité des enfants provenaient des zones rurales dans 62% des cas. En 2008 au Burkina Faso, Koueta et al ont rapporté 61,5% d'orphelin d'au moins un parent vivant dans les conditions socioéconomique défavorables. Ailleurs Landa a noté 139 cas soit 66,2% de patients d'origine urbaine (86). Les conditions de vie ont un impact sur la propagation de la tuberculose.

Age

Dans notre série la tranche d'âge de 2 à 5 ans étaient fortement représentée avec une fréquence de 37%. L'âge moyen était 4,7. Les extrêmes étaient 8 mois et 13 ans.

Ouédraogo et al (87) ainsi que Segbedji (88) ont noté respectivement 43% et 31% dans la tranche d'âge de 0 à 5 ans avec comme âge moyen 6,21 et 8,1 ans.

Ailleurs Mabiala et al au Congo ainsi que Roudies et al au Maroc ont trouvé respectivement 14% et 40,9% d'enfants de moins de 2 ans (83,89). Morba a rapporté 47,55% des cas parmi les sujets âgé de 0 à 5 ans (13). La manifestation de la tuberculose de l'enfant est favorisée par l'immatunité du système immunitaire, l'existence d'un déficit immunitaire qui peut dû à la malnutrition, à un traitement immunosuppresseur et à une infection sous-jacente notamment le VIH.

Sexe

Dans notre étude le genre féminin prédominait avec une fréquence de 75%. Le sex-ratio était de 0,33. Des fréquences différentes ont été trouvées par d'autre auteurs. Morba a trouvé 71% de sexe masculin soit un sex-ratio de 2,4 (13). Landa a trouvé autant de sexe masculin que féminin soit un sex-ratio de 1 (86). Segbedji et al ont trouvé un sex-ratio M/F de 1,31 (88). Bouchair et al tout comme Ouédraogo ont rapporté respectivement un sex-ratio M/F de 0,6 et 1,14 (87,90). A Madagascar, des auteurs ont trouvé un sex-ratio de 1,13 (91). Le sexe ne semble pas constituer un facteur de risque de survenue d'une tuberculose.

6.4 Résultats cliniques et analytiques :

Contage

Nous avons retrouvé la notion de contage tuberculeux chez 25% des sujets. Il s'agissait à chaque fois d'un comptage intra-familial.

Une fréquence sensiblement égale à la nôtre a été rapporté par Landa Y (86) soit 24,9%.

Koffi L et al ont observé un contage chez 18% des cas (92). Des fréquences supérieures étaient retrouvé par : Koné et al (93) , 28% des cas ; ainsi que Morba A (13) 53% des cas.

Lors d'une étude rétrospective Hayoun S et al ont colligé 87% de cas de contage familial (94).

Le faible taux de contage de notre étude s'explique par les difficultés dans la recherche de cas autour de la famille des enfants.

L'accroissement de la tuberculose dans une population a pour corollaire l'augmentation du nombre de cas de tuberculose chez l'enfant. L'enfant se contamine généralement à partir d'un adulte et lui-même est peu ou pas contagieux.

Intradermoréaction à la tuberculine, Vaccin BCG et microscopie

L'IDR étaient positive chez 50% des enfants. Ce résultat est inférieur à celui de Morba qui a rapporté 64% de cas d'IDR positive (13).

Le test IDR a été positif chez 2/3 des cas selon Barchiche N et al (95) lors d'une étude en Algérie. Koné et al ont notifié 87,5% d'IDR positive (93). Bouchair et al ont retrouvé une IDR positive chez 2/3 des sujets (90). L'intradermoréaction n'est pas une technique spécifique pour le diagnostic de la tuberculose. Notre faible taux pourrait s'expliquer par une malnutrition sévère chez 62,5% des enfants. En se référant sur le carnet de vaccination et sur la présence de la cicatrice BCG, nous avons noté 62,5% de sujets ayant reçu le vaccin antituberculeux.

Ce chiffre est supérieur à celui de Ouédraogo A et al (87) qui ont trouvé 42,55%.

Des valeurs plus élevées sont rapporté par Barchiche N 89,54%, Randriastarafara 84,5% et Landa 66% (86,91,95). Au Maroc Hayoun S et al ont noté 100% d'enfants vaccinés (94).

Le vaccin BCG ne confère pas une immunité à l'organisme pour lutter contre la tuberculose, mais il protège contre les formes graves telles que la méningite tuberculeuse et la tuberculose miliaire ou disséminée.

La durée des symptômes avant consultation

Au cours de notre travail, nous avons noté que 75% des enfants ont consulté entre 1 et 4 mois après apparition des symptômes. Le délai moyen était de 3,2 mois.

Nos résultats sont comparables à ceux de Landa Y (86) qui a retrouvé 62,9% des cas avec un délai inférieur à 1 mois et une moyenne de 2,5. Au Maroc, Barchiche N et al ont trouvé 47% des cas ayant consulté 1 mois et plus après le début de la symptomatologie (95).

L'accroissement du délai de consultation peut être due à plusieurs facteurs telles que : la négligence des parents, le retard de suspicion de la tuberculose par les cliniciens et les mauvaises conditions socioéconomiques des parents.

Nature du prélèvement et Microscopie

Le tubage gastrique était l'échantillon le plus fourni avec 75%. Ceci peut s'expliquer par la difficulté des enfants à expectorer.

Sérologie VIH

Le test VIH a été réalisé chez 5 de nos enfants soit 62,5% avec un taux de positivité de 0%. Contrairement à notre série, Morba A et al ont noté 11,8% de VIH positif (13). Segbedji K a trouvé 15% de cas de VIH positif (88).

La coinfection VIH/Tuberculose était observée dans 34% des cas selon Ouédraogo A et al (87).

Ailleurs Koffy L et al ainsi que Barry ont respectivement colligé 88,88% et 2,83% de sujets VIH positif (84,92).

Symptômes et signes cliniques

Tableau XVI : Comparaison des symptômes et signes retrouvés dans notre étude avec d'autres études.

Symptômes et signes	Notre étude 2019 8 cas 1 an	Morba 2011, 17 cas 1 an	Ouédraogo 47 cas 10 ans	Soumana 2016, 29 cas, 2 ans	Mabiala 117 cas 5 ans	Landa 213 cas 6 ans
Toux	87,50%	100%	53,19%	16%	82,20%	50,20%
Fièvre	62,50%	100%	42,55%	26%	80%	75,60%
AEG	50%	58,30%	48,93%	32%	---	69,50%
Dyspnée	37,50%	---	---	---	30,80%	16,40%
Pâleur	75%	---	87,23%	---	---	---
Douleur thoracique	25%	35,50%	---	---	---	28,60%
Sueur nocturne	37,50%	---	---	---	---	41,80%
Vomissement	25%	---	6,38%	---	---	13,60%
Hépatomégalie	25%	---	---	---	---	---

Ces symptômes sont les plus rencontrés dans la littérature (13,86,87,89,96).

Pathologies associées

Au cours de notre étude, la malnutrition et l'anémie étaient les pathologies sous-jacentes les plus rencontrées avec 62,5% chacune. En Algérie Barbiche N et al ont retrouvé 7 cas soit 4,57% de malnutrition aigüe sévère (95). Soumana et al ont colligé 55% de malnutrition (96). Barry I et al ont trouvé 18,04 % cas de paludisme et 13,40% cas de malnutrition (84).

Schéma thérapeutique

Le schéma thérapeutique **2 RHZE/4 RH** était adopté dans 50% des cas. Ailleurs d'autres études ont rapporté des fréquences élevées, Landa Y 55%, Morba 62,5% et Ouédraogo A 72,34% (13,86,87).

Evolution du traitement

Dans notre série le taux guérison était de 50%. Ce résultat est inférieur à celui de Morba, 70,58% des cas. Notre taux est aussi inférieur à ceux trouvés dans la littérature : Koné et al (93) avec 73,8%, Barbiche et al (95) avec 76,47%. Le taux de mortalité est variable dans la littérature : Tchokoteu et al (97) et Landa et al (86) ont trouvé respectivement 12,5% et 5,3% de cas de décès. Le faible taux de succès thérapeutique de notre étude peut s'expliquer par la détection tardive de la maladie et la mauvaise prise des médicaments suite à la négligence des parents.

7 CONCLUSION

La tuberculose de l'enfant reste un problème majeur de santé publique. Nous avons mené une étude prospective du 1^{er} janvier au 31 décembre 2019 soit une année, au service de pédiatrie de l'hôpital du Mali.

Durant notre étude nous avons répertorié 8 cas de tuberculose soit une fréquence de 0,078%. Parmi les sujets atteints, nous avons noté 3 cas de succès thérapeutiques.

La tuberculose est encore d'actualité touchant toutes les tranches d'âge surtout dans les pays en voie de développement. Son élimination passera par la prise en charge concomitante des pathologies sous-jacentes. La contamination familiale est généralement à la base d'une tuberculose infantile. Le tableau clinique de la tuberculose est riche et polymorphe. La survenue d'une tuberculose malgré la présence de la cicatrice BCG nous incite à plus de vigilance. Le diagnostic de certitude repose essentiellement sur l'examen direct et la culture. Les difficultés de diagnostic de la tuberculose laissent croire que sa prévalence est moindre. La lutte contre la tuberculose doit s'intensifier par certaines stratégies telles que la vaccination, le dépistage actif, la prise en charge immédiate des cas et l'amélioration des conditions socioéconomiques des populations.

8 RECOMMANDATION

Nous recommandons :

Au Ministère de la santé

- D'élargir la couverture vaccinale par le BCG à toute l'étendue du territoire ;
- D'organiser des campagnes de sensibilisation sur la tuberculose.

Au PNLT

- D'équiper tous les centres de santé de référence d'un laboratoire pour la culture des BAAR ;
- D'assurer la disponibilité des médicaments antituberculeux notamment les formes pédiatriques dans tous les centres de santé du pays ;

Au CICM

- De pérenniser ses travaux de recherche sur la tuberculose ;

Aux parents

- De faire vacciner les enfants lors des campagnes de vaccination ;
- De faire consulter les enfants dès le début des symptômes ;
- De se conformer aux exigences thérapeutiques des cliniciens.

Aux cliniciens

- De toujours rechercher la tuberculose lorsqu'il y'a résistance aux antibiotiques couramment utilisés.

Aux pharmaciens d'officine

- De référer immédiatement les patients lorsqu'il y'a suspicion d'infection broncho-pulmonaire.

9 REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Dicko A, Faye O, Fofana Y, Soumoutera M, Berthé S, Touré S, et al. Tuberculose cutanée à Bamako, Mali. *Pan Afr Med J.* 2017 ;27 :102.
2. Agbodande AK, Dodo RL, Issa A, Adjadohoun S, Azon-Kouanou A, Wanvoegbe AF, et al. Une localisation rare de la tuberculose : la tuberculose endométriale. *Pan Afr Med J.* 2019 ;33 :45.
3. Téka G, Fikouma V, Téngothi RMM, Longo J de D, Woyengba APA, Koffi B. Aspects épidémiologiques et cliniques de la tuberculose en milieu hospitalier à Bangui. *Pan Afr Med J.* 2019 ;33 :31.
4. Diarra S, Nasser MM, Konate I, Dembélé M, Doucoure D, Doumbia Y, et al. Co-infection VIH/Tuberculose dans le Service de Maladies Infectieuses du Centre Hospitalier Universitaire du Point G : Aspects Épidémiocliniques et Thérapeutiques à propos de 48 Cas. *Heath Sci. Dis.* 2019 ; 20 (3).
5. GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT. World Health Organization ; 2018 p. 32.
6. El Kamel A, Joobeur S, Skhiri N, Cheikh Mhamed S, Mribah H, Rouatbi N. La lutte antituberculeuse dans le monde. *Rev de Pneumol Clin.* 2015 ;71(2) :181-7.
7. Tritar F, Daghfous H, Ben Saad S, Slim-Saidi L. Prise en charge de la tuberculose multirésistante. *Rev de Pneumol Clin.* 2015 ;71(2) :130-9.
8. Diabaté S, Baya B, Sanogo M, Diarra B, Toloba Y, Berthé G, et al. Epidémiologie et recherche sur la tuberculose au Mali. *Rev Malienne d'Infectiol et de Microbiol.* 2015 ;6 :2.
9. https://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=/WHO_HQ_Reports/G2/PROD/EX/T/TBCountryProfile&ISO2=ML&outtype=html&LAN=FR. 2018.
10. Hamzaoui A. La tuberculose de l'enfant. *Rev de Pneumol Clin.* 2015 ;71(2) :168-80.
11. Chiang SS, Roche S, Contreras C, Alarcón V, del Castillo H, Becerra MC, et al. Entraves au diagnostic de la tuberculose de l'enfant. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015 ;19(10) :1144–1152.
12. OMS | Lignes directrices concernant la prise en charge de la tuberculose chez l'enfant dans le cadre des programmes nationaux [Internet]. WHO. 2019.
13. Aminata MM. La tuberculose (pulmonaire et extra pulmonaire) dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré à propos de 17 cas [Thèse]. Bamako ; 2011. 58p.
14. TUBERCULOSE : Définition de TUBERCULOSE. <https://www.cnrtl.fr/definition/tuberculose>.
15. Barbiéri R, Drancourt M. Paléomicrobiologie de la tuberculose. *Rev Franco des Lab.* 2017;(469).
16. Camille L. La tuberculose, une histoire toujours d'actualité. *Medsci.* 2016 ;6(32) :535-6.

17. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Hesselning AC, Obihara CC, Starke JJ. Histoire naturelle de la tuberculose intrathoracique de l'enfant. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004 ; 8(4) : 392-402.
18. WHO | Weekly Epidemiological Record. 2018 ; 8(93) :73–96.
19. Denis F, Ploy M-C, Christian M, Bingen E, Quentin R. Bactériologie médicale techniques usuelles. 2^{ème} Edition. Paris : Masson ; 2007.
20. Emame A, Kevin A. Les infections à mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* à Libreville [Thèse]. Microbiologie : Libreville ; 2016. 122p.
21. DOUMBIA L. Identification et test de sensibilité des souches de mycobactéries isolées au laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako. [Thèse]. Microbiologie : Bamako ; 2014. 98p
22. Mazza-Stalder J, Jatton-Ogay K, Nicod L. Mycobactéries non tuberculeuses. *Rev Med Suisse* 2009 ; 5 : 2344-50.
23. Helali NE, Vergez P. Identification des mycobactéries. *Feuill Biol.* 1993 ;34(190) :5-18.
24. Vincent V. Taxonomie des mycobactéries. *Rev Franco des Lab.* 1994;(273).
25. FRENEY J, RENAUD F, HANSEN Wi, BOLLET C. Précis de bactériologie clinique. Eska. 2000. 1692 p.
26. AIT-KHALED N, ENARSON D. TUBERCULOSE Manuel pour les Etudiants en Medecine. WHO/CDS/TB/99.272.
27. Daffé M. The cell envelope of tubercle bacilli. 2015 ; 95 : 155-8.
28. Brennan PJ. Structure, function, and biogenesis of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*. 2003 ;83(92).
29. DIANDE S. Evaluation de la résistance de *mycobacterium tuberculosis* aux antibiotiques et exploration des facteurs de risque associés à la multirésistance au Burkina Faso. [Thèse] Ouagadougou ; 2010. 113p.
30. Laboratory Services for Mycobacterial Diseases | American Review of Respiratory Disease [Internet]. [Cité 11 nov 2019].1975.112.6.773
31. Touré F. La problématique de la mise en œuvre de la culture du bacille de Koch dans le laboratoire national de référence de la tuberculose du Mali (LNR) [Thèse]. Bamako ; 2009. 95p.
32. Sougakoff W, Truffot-Pernot C, Cambau E. Diagnostic moléculaire de la résistance de *mycobacterium tuberculosis* aux antituberculeux *Rev Lab.* 1999 ;314.
33. DAILLOUX M, MARIOTIT P. Les mycobactéries dans l'environnement lorrain. *Med.* 1996 ;761.
34. Didi L. Caractérisation des mycobactéries isolées chez l'homme et les ruminants au Tchad : causes des suspicions de la tuberculose dans les hôpitaux et aux abattoirs. [Thèse]. N'Djamena ; 2014. 32p.

35. May T, Bevilacqua S. Aspects cliniques actuels de la tuberculose. 2005 ;2(1) :116-20.
36. Underner M, Perriot J. Tabac et tuberculose. La presse méd. 2012 ;41(12) :1171-80.
37. Mjid M, Cherif J, Ben Salah N, Toujani S, Ouahchi Y, Zakhama H, et al. Épidémiologie de la tuberculose. Rev de Pneumol Clin. 2015 ;71(2-3) :67-72.
38. Glardon D, Erald V. Infection à Mycobacterium tuberculosis. Rev Med Suisse. 2014 ;10 :816.
39. Toujani S, Ben Salah N, Cherif J, Mjid M, Ouahchy Y, Zakhama H, et al. La primo-infection et la tuberculose pulmonaire. Rev de Pneumol Clin. 2015 ;71(2) :73-82.
40. Madhukar P, Marcel B, Dawdy D. Tuberculosis. Disease Primer. 2016 ;2 :1.
41. Herrmann JL, Tailleux L, Nigou J, Giquel B, Puzo G, Lagrange PH, et al. Rôle des cellules dendritiques humaines dans la tuberculose. Rev des Mal Resp. 2006 ;23(3) :21-8.
42. Carbonnelle B, Dailloux M, Lebrun L. Cahier de formation biologie moléculaire mycobactéries et mycobactérioses. 2003; 29.
43. Particularités de la tuberculose pédiatrique. Médecine et Maladies Infectieuses. 2004 ;34(8) :382-5.
44. Alloghe EE, Mve TM, Ramarojoana S, Iba Ba J, Nkoghe D. Epidémiologie de tuberculose infantile au centre antituberculeux de Libreville de 1997–2001. Med Trop. 2006 ;66 :469–471.
45. Ais S, Ais K. Bacilloscopie direct dans le diagnostic de la Tuberculose pulmonaire [Thèse] Biologie : Rabat ; 2017. 46p.
46. Diallo AB, Abdoukader I. Caractérisation des souches du complexe mycobacterium tuberculosis isolées chez des patients atteints de tuberculose extra pulmonaire dans un hôpital universitaire de Dakar. Rev Afr Malg Rech Sci. 2018 ;44 : 96-98.
47. Ben Brahim H, Kooli I, Aouam A, Toumi A, Loussaief C, Koubaa J, et al. Prise en charge diagnostique et thérapeutique de la tuberculose ganglionnaire en Tunisie. Pan Afr Med J. 2014 ; 19 :211
48. Abada R, Abdelkefi M. Rapport de la fédération maghrébine d'ORL et de chirurgie cervico-faciale Tuberculose ganglionnaire cervicale. 2015. Report No : 4.
49. Le Roux P, Quinque K, Bonnel AS, Le Luyer B. Les atteintes extrapulmonaires de la tuberculose de l'enfant. 2005 ;12 : 122-6.
50. Mazza-Stalder J, Nicod L, Janssens J-P. La tuberculose extrapulmonaire. Rev des Mal Resp 2012 ;29(4) :566-78.
51. Faiz S, Ettahar N, Sabbah M, Toné A, Benrezkallah M, Bourgarit A, et al. Traitement par infliximab d'une réaction paradoxale neuroméningée chez un patient immunocompétent compliquant une tuberculose ganglionnaire, pulmonaire et méningée. Méd et Mal Infect. 2018 ;48(7) :484-7.

52. Bémer P, Boutoille D, Lepelletier D, Chamoux C, Guitton C, Drugeon H. Aspects cliniques et prise en charge thérapeutique des méningites tuberculeuses : Analyse rétrospective de 15 cas observés de 1994 à 2005. *Rev de Pneumol Clin.* 2006 ;62(4) :223-9.
53. Lhoumeau A, Al Samman S, Mahy S, Charon-Barra C, Buisson M, Duong M, et al. Les différents visages de la tuberculose digestive. *Méd et Mal Infect.* 2010 ;40(11) :654-6.
54. Demory D, Forel J-M, Michel F, Guillin-Poujol A, Consentino B, Gainnier M, et al. Maladie de Crohn ou tuberculose digestive : complications liées à une erreur diagnostique. *La Presse Méd.* 2006 ;35(1) :51-4.
55. Bennani S, Fekak H, Hafiani M, Debbagh A, El Moussaoui A, El Mrini M, et al. La tuberculose urogénitale. À propos de 109 cas. *Méd et Mal Infect.* 1999 ;29(1) :19-25.
56. Teklali Y, Fellous El Alami Z, El Madhi T, Gourinda H, Miri A. La tuberculose ostéoarticulaire chez l'enfant (mal de Pott exclu) : à propos de 106 cas. *Rev de Rhuma.* 2003 ;70(7) :595-9.
57. Pertuiset E. Tuberculose osseuse et articulaire des membres. *EMC - Rhumatol-Orthopéd.* 2004 ;1(6) :463-86.
58. Tigoulet F, Fournier V, Caumes E. Formes cliniques de la tuberculose cutanée. *Bull Soc Pathol Exot*, 2003, 96, 5, 362-367.
59. Martinez V, Gicquel B. Techniques diagnostiques de la tuberculose et des autres mycobactérioses. *Archives de pédiatrie.* 2005 ; 12 (2005) : 96-101.
60. Jabri H, Lakhdar N, El Khattabi W, Afif H. Les moyens diagnostiques de la tuberculose. *Rev de Pneumol Clin.* 2016 ;72(5) :320-5.
61. Précis de biopathologie anales médicale spécialisés Mycobactéries. *Biomnis* ; 2012.
62. Carbonnelle B, Carpentier E. Diagnostic bactériologique de la tuberculose : hiérarchisation actuelle des méthodes. *Rev de Méd Int.* 1995 ;16(7) :518-23.
63. Guillet-Caruba C, Martinez V, Doucet-Populaire F. Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie. *Rev de Méd Int.* 2014 ;35(12) :794-800.
64. Slim-Saidi L, Mehiri-Zeghal E, Ghariani A, Tritar F. Nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose. *Rev de Pneumol Clin.* 2015 ;71(2) :110-21.
65. Truffot-Pernot C, Veziris N. Les tests bactériologiques de la tuberculose maladie : standards et perspectives. *Rev des Mal Resp.* 2011 ;28(8) :1034-47.
66. Billy C, Lévy-Bruhl D. Vaccin BCG et place de l'intradermoréaction en 2006. *Rev de Méd Int.* 2007 ;28(3) :151-60.
67. Poli C, Beauvillain C, Jeannin P, Renier G, Chevailler A. Analyses de diagnostic rapide en immunologie. *Rev Franc des Lab.* 2015 ;2015(475) :53-9.
68. Hervé C, Bergot E, Veziris N, Blanc F-X. La tuberculose en 2015 : du diagnostic à la détection des formes résistantes. *Rev des Mal Resp.* 2015 ;32(8) :784-90.

69. Fabre M, Vong R, Gaillard T, Merens A, Gérome P, Saint-Blancard P, et al. Évaluation du kit SD BIOLINE TB Ag MPT64 Rapid® dans le cadre du diagnostic de la tuberculose. *Pathol Biol.* 2011 ;59(1) :26-8.
70. Sharma P, Nair D. Rapid Characterization of Mycobacterium tuberculosis Complex isolated from Clinical Samples by SD TB Ag MPT 64 kits. *J. Commun. Dis.* 2015; 47(4).
71. Daher B, Bouytse K, Reguig N, Zahraoui R, Soualhi M, Marc K, et al. Apport de l'adénosine désaminase (ADA) dans le diagnostic de la tuberculose pleurale. À propos de 187 patients. *Rev des Mal Resp.* 2019 ;36 : 43.
72. Andreu J, Cáceres J, Pallisa E, Martinez-Rodriguez M. Manifestations radiologiques de la tuberculose pulmonaire. *EMC - Radiol.* 2005 ;2(1) :121-32.
73. Hantous-Zannad S, Zidi A, Néji H, Attia M, Baccouche I, Ben Miled-M'rad K. Apport de l'imagerie dans la tuberculose thoracique. *Rev de Pneumol Clin.* 2015 ;71(2) :93-109.
74. Vachee A, Savage C, Vincent P. Nouvelles méthodes de diagnostic bactériologique des mycobactéries. *Immunoanal biol spéc.* 1996 ;11.
75. Benfenatki N. La Tuberculose multirésistante. *La Rev de Méd Int.* 2009 ;30 : S268-72.
76. Tattevin P. Le traitement de la tuberculose en 2007. *Méd et Mal Infect.* 2007 ;37(10) :617-28.
77. Abouda M, Yangui F, Triki M, Kammoun H, Khouani H, Charfi MR. Prévention de la tuberculose. *Rev de Pneumol Clin.* 2015 ;71(2) :159-67.
78. Bégué P. Traitement préventif de la tuberculose chez l'enfant contact. Eléments décisionnels et modalités thérapeutiques. *Méd et Mal Infect.* 1995 ;25(3) :384-7.
79. Buxeraud J, Fraisse P. La vaccination antituberculeuse par le BCG. *Actual Pharmaceut.* 2017 ;56(568) :21-4.
80. Lechiche C, Charpille M, Saissi G, Sotto A. Évaluation de la pratique du vaccin par le bacille de Calmette et Guérin (BCG). *Archives de Pédiatrie.* 2016 ;23(1) :34-8.
81. Smaoui Fourati S, Mzid H, Marouane C, Kammoun S, Messadi-Akrout F. Tuberculose multirésistante : épidémiologie et facteurs de risque. *Rev de Pneumol Clin.* 2015 ;71(4) :233-41.
82. Zellweger J-P. La tuberculose multirésistante : extension, menace et solutions. *Rev des Mal Resp.* 2011 ;28(8) :1025-33.
83. Barry I, Camara E, Diop M et al. Tuberculose chez l'Enfant : Aspects Cliniques et Thérapeutiques au Service de Pédiatrie de l'Hôpital National de Donka. *Health Sci. Dis* 2020 ;21 (1).
84. Rhaly SA. Aspects cliniques, diagnostiques de la tuberculose chez les enfants de 0-15 ans dans le service de pneumo-phtisiologie de l'hôpital national du point G et du dispensaire antituberculeux de Bamako (à propos de 30 cas) [Thèse]. *Médecine : Bamako ;1993.* 99p.

85. Bertrand JL, Peyramond D, Paillard S, Ehre P. La tuberculose de l'enfant actuellement en France. *Méd et Mal Infect.* 1989 ;19(2) :87-90.
86. Roudies LEH, El Matar A, Jorio M, Tazi AEM. Aspects de la tuberculose de l'enfant à propos de 465 cas. *Maroc Médical.* 2007 ;29(4) :1.
87. La tuberculose chez l'enfant : à propos de 29 cas colligés dans deux hôpitaux de Niamey et au centre national antituberculeux. *Mali Med.* 2016 ; 31(4).
88. Segbedji KAR, Djadou KE, Tchagbele O-B, Kpegouni M, Kama LB, Azoumah KD, et al. Tuberculose de l'enfant au Togo : aspects épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs. *Méd et Santé Trop.* 2016 ;26(3) :318–322.
89. Mabiala-Babela JR, M'Pemba Loufoua AB, Mouko A, Senga P. Tuberculose pulmonaire du nourrisson à Brazzaville (Congo). A propos de 117 cas. *Méd trop.* 2008 ;68(2) :167–171.
90. Cisse A. Etude Epidémiologie et Clinique de la Tuberculose chez les Enfants de 0-15 dans les six centres de santé de référence de Bamako. [Thèse]. Médecine : Bamako ; 2008. 104p
91. LANDA MY. Épidémiologie de la tuberculose de l'enfant à l'hôpital d'enfant entre 2008 et 2013 [Thèse]. Médecine : Rabat ; 2015. 88p.
92. Ouédraogo A, Savadogo H, Kam M, Yé D. La tuberculose au Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles De Gaulle. *BURKINA MEDICAL.* 2017;(21), 1.
93. Bouchair N, Roustila N, Benkahoul Y, Belamri D, Bentebbal M, Bouderdia Z, et al. Tuberculose de l'enfant : expérience d'un service de pédiatrie générale. *Archives de Pédiatrie.* 2008 ;15(5) :946.
94. Randriatsarafara FM, Vololonarivelo BEE, Rabemamanjara NNG, Randrianasolo JBO, Rakotomanga J de DM, Randrianarimanana VD. Facteurs associés à la tuberculose chez l'enfant au Centre Hospitalier Universitaire Mère-Enfant de Tsaralalàna, Antananarivo : une étude cas-témoins. *Pan Afr Med J.* 2014 ; 19 :224.
95. Koffi A, Kouassi. Analyse des critères diagnostiques de la tuberculose de l'enfant en milieu ivoirien hospitalier. *Bull Soc Pathol Exot,* 2004, 97(2), 127-128.
97. Hayoun S, Habibi B, Bourkadi J, Benamor J. Les facteurs de retard de prise en charge de la tuberculose chez l'enfant : à propos de 40 cas. *Rev des Mal Resp.* 2017 ;34 : 235-6.
98. Barchiche NA, Berkani A, Chernai M, Aitabdeslam S, Meguenni W. Aspects de la tuberculose chez l'enfant à propos de 153 cas. *Pathol Biol.* 2010 ;58(2) : 33-8.
99. Tchokoteu PF, Tetanye E, Kago I, Doumbe P, Sinou Chekem M. La tuberculose de l'enfant : expérience de 6 ans dans le service de pédiatrie générale de l'hôpital central de Yaoundé. *Méd d'Afr Noire.* 1990 ;37(2) :15–21.

10 ANNEXES

10.1 Annexe 1 : Fiche d'enquête

FICHE DE COLLECTE DES ECHANTILLONS

Nom et Prénoms :

Age :ans.....mois

Sexe : M F

Statut social :

N° de téléphone :

Ethnie :

Autres adresses :

Pays d'origine :

Résidence actuelle :

Profession :

BCG : Oui [] Non []

VIH : Positif [] Négatif [] Non fait []

Diabète : Oui [] Non []

Asthme : Oui [] Non []

Autres maladies :

Hospitalisation : Oui du...../...../201... au .../.../201... Non

Antécédents Médico-chirurgicaux de l'enfant

Déjà traité pour la tuberculose : Oui Période..... Non

.....

.....

.....

Antécédents Médico-chirurgicaux de son Père

.....

.....

Antécédents Médico-chirurgicaux de sa mère

.....

.....

Antécédents de Tuberculose dans l'entourage de l'enfant

Père Mère Membre de la famille Voisin Camarades d'école

Autres :.....

Durée des symptômes avant la consultation :.....

Les symptômes présents chez l'enfant

Toux Hémoptysie Dyspnée Anorexie Convulsion

Fièvres nocturnes Altération de l'état général Autres :.....

Traitement immunosuppresseur Oui Non

Diagnostic bactériologique

Date du prélèvement :...le...../...../201.....

Nature du prélèvement : expectoration tubage gastrique Biopsie

Lavage broncho-alvéolaire aspiration bronchique Liquide de ponction

LCR Autres à préciser :.....

Examen microscopique (BAAR) : positif négatif

Culture : positif négatif contaminé

Identification des mycobactéries :

Antibiogramme au début du traitement :

Sensibilité S I R E Résistance S I R E

Non fait

A remplir exclusivement pour la tuberculose pédiatrique maladie

Localisation(s) de la tuberculose (si plusieurs localisations, cocher toutes les cases correspondantes) :

- | | | |
|--|--|---|
| <input type="checkbox"/> Pulmonaire | <input type="checkbox"/> neuro-méningée | <input type="checkbox"/> miliaire (micronodules diffus) |
| <input type="checkbox"/> Pleurale | <input type="checkbox"/> Ostéo-articulaire | <input type="checkbox"/> Ganglionnaire |
| <input type="checkbox"/> Génito-urinaire | <input type="checkbox"/> Autre, à préciser : | |

Traitement antituberculeux

Date du diagnostic confirmé : / / 201....

Date de mise en route du traitement : / / 201...

Contrôles

Examen bactériologique

Date du prélèvement : ...le..... / / 201.....

Nature du prélèvement : expectoration tubage gastrique Biopsie
Lavage broncho-alvéolaire aspiration bronchique Liquide de ponction
LCR Autres à préciser :

Résultat du frottis :

Evolution clinique

.....
.....
.....

Résultats après le traitement

- | | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|---|---------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Guéri | <input type="checkbox"/> Rechute | <input type="checkbox"/> perte de vue | <input type="checkbox"/> anfert |
| <input type="checkbox"/> Décédé | <input type="checkbox"/> Echec | <input type="checkbox"/> traitement terminé | |

Conduite à tenir :

.....
.....

10.2 Annexe 2 : FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : Ba

Prénom : Moussa

Tel : 00223 78683127

Email : moussaba.mr@gmail.com

Titre de la thèse : Etude d'une série de 8 cas de tuberculose chez les enfants de 0 à 15 ans au service de pédiatrie de l'Hôpital du Mali.

Année universitaire : 2019 - 2020

Pays et ville de soutenance : Mali – Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la Faculté de Pharmacie.

Secteurs d'intérêt : Pédiatrie, Bactériologie, Clinique, Santé publique.

Résumé

Introduction : La tuberculose est l'une des maladies infectieuses les plus répandues dans le monde et représente un problème majeur de santé publique. Le Mali, pays à forte endémie tuberculeuse, a notifiés 7084 nouveaux cas de TB en 2018, avec une incidence estimée à 53 nouveaux cas pour 10 000 habitants.

Objectif : Evaluer la fréquence de la tuberculose chez les enfants de 0 à 15 ans au service de pédiatrie de l'hôpital du Mali.

Matériels et méthodes : Il s'agissait d'une étude prospective, descriptive, rapportant une série de 8 cas de tuberculose colligés chez les enfants de 0 à 15 ans au service de pédiatrie de l'Hôpital du Mali du 1^{er} janvier au 31 décembre 2019. Les données ont été collectées à l'hôpital, saisies sur Access et analysées sur SPSS version 23.

Résultats : Une fréquence de 0,078% a été retrouvée. Le sexe féminin dominait avec un sex-ratio de 3. La tranche d'âge de 2 – 5 ans était plus représentée avec 37,5%. Les enfants de cultivateurs et d'ouvrier étaient plus nombreux (37,5% chacun) et 62,5% des enfants provenaient des zones rurales. Nous avons noté le contagion chez 25% des sujets et le délai d'apparition des symptômes le plus retrouvé était l'intervalle 1 à 4 mois. L'IDR et le BCG étaient positifs respectivement dans 50% et 62,5% des cas. Les symptômes et signes cliniques les plus fréquents étaient la toux (87,5%), la fièvre (62,5%) l'amaigrissement (62,5), l'AEG (50%), l'hépatomégalie (25%) et présence de râles (25%). Le test VIH a été réalisé sur 5 sujets parmi lesquels il est négatif. La microscopie était positive à 75%. L'échantillon le plus fourni était le tubage gastrique, soit 75%. La malnutrition et l'anémie étaient les maladies sous-jacentes les plus retrouvées avec 62,5% chacune. Le schéma **2 RHZE/4 RH** était utilisé chez 50% des enfants et le taux de guérison était de 50%.

Conclusion : La tuberculose reste une maladie meurtrière de l'enfant. Son éradication passe par le diagnostic précoce et la prise en charge des pathologies associées.

PROFILE SIGNAGE

Name :

First name :

Phone : 00223 78683127

Email : moussaba.mr@gmail.com

Thesis title: Study of a series of 8 cases of tuberculosis in children 0 to 15 years old in the pediatrics department of the Mali Hospital.

Academic year : 2019 – 2020

Defense country and city: Mali – Bamako

Deposit local: Library of the Faculty of Medicine and Odontostomatology and the Faculty of Pharmacy.

Area of interest: Pediatrics, Bacteriology, Clinic, Public Health.

Summary

Introduction: Tuberculosis is one of the most common infectious diseases in the world and represents a major public health problem. Mali, a country with a high tuberculosis endemic, notified 7,084 new TB cases in 2018, with an estimated incidence of 53 new cases per 10,000 inhabitants.

Objective: To assess the frequency of tuberculosis in children 0 to 15 years of age in the pediatric unit of the Mali hospital.

Results: A frequency of 0.078% was found. The female sex dominated with a sex ratio of 3. The age group of 2 - 5 years was more represented with 37.5%. The children of farmers and workers were more numerous (37.5% each) and 62.5% of the children came from rural areas. We noted the contagion in 25% of the subjects and the delay of appearance of the symptoms most found was the interval 1 to 4 months. IDR and BCG were positive in 50% and 62.5% of cases, respectively. The most common symptoms and clinical signs were cough (87.5%), fever (62.5%) weight loss (62.5), AEG (50%), hepatomegaly (25%) and presence of rails (25%). The HIV test was carried out on 5 subjects among which it is negative. The microscopy was 75% positive. The most common sample was 75% of the gastric tubing. Malnutrition and anemia were the most common underlying diseases with 62.5% each.

The **2 RHZE / 4 RH** regimen was used in 50% of the children and the cure rate was 50%.

Conclusion: Tuberculosis remains a deadly disease of the child. Its eradication requires early diagnosis and the management of associated pathologies.

10.3 Annexe 3 :

MODE OPERATOIRE DE COLLECTE, TRANSPORT ET STOCKAGE DES ECHANTILLONS POUR LA RECHERCHE DES MYCOBACTERIES

Principe

✓ Obtenir un échantillon de bonne qualité permettant d'assurer une microscopie efficiente et des résultats fiables.

Matériels

Pot transparent à large ouverture avec fermeture à vis.

Nature des prélèvements

Expectoration

Le prélèvement se fait le matin au réveil, dans un environnement bien aéré à la suite d'un effort de toux pour ramener les excréctions bronchiques accumulées pendant la nuit.

Les expectorations sont reçues dans un pot transparent à large ouverture avec fermeture à vis fourni par le laboratoire.

Un (1) pot est remis au patient le 1^{er} jour en lui expliquant les conditions de recueil d'un bon crachat. Il fournit le 1^{er} crachat ce jour.

Un second pot lui est remis pour recueillir le 2^{ème} crachat le lendemain au réveil.

Le volume idéal est de 3 à 5ml, cependant les échantillons de volume inférieur ne doivent pas être systématiquement rejetés.

Urines

Les urines sont recueillies dans des pots stériles.

- ✓ Recueillir environ 40 ml le matin au réveil. Elles sont d'abord centrifugées et le culot est traité comme une expectoration.
- ✓ Recueillir les urines de 24 h. Centrifuger 4 tubes Falcon de 50 ml, regrouper les culots et traiter comme une expectoration.

Pus

Les pus arrivent au laboratoire dans des tubes secs stériles ou sur écouvillons.

Les écouvillons sont déchargés dans de l'eau physiologique stérile.

Ces échantillons subissent une étape de décontamination et fluidification.

Liquides de ponction

Les liquides de ponction (liquide d'ascite, pleural, LCR...) sont centrifugés, le culot mis en suspension dans l'albumine bovine est ensuiteensemencé et étalé sur une lame pour l'examen direct.

NB: *Les urines, les pus et les liquides de ponctions destinés au laboratoire pour analyse bactériologique feront l'objet d'une recherche des mycobactéries en cas d'absence de « germes banals » sur milieux ordinaires et d'une forte densité leucocytaire.*

Transport et conservation

Les échantillons collectés au CICM sont traités immédiatement ou gardés au réfrigérateur 2-8°C pendant au plus 72 h. Ceux collectés en dehors du CICM doivent être acheminés selon les BPL.

Après enregistrement, ils sont gardés au frais (+4°C) jusqu'au jour du traitement.

CF : Procédure d'enregistrement des patients au laboratoire.

NB : Certains échantillons peuvent être acheminés au CICM dans des milieux de transport spécifiques.

10.4 Annexe 4 :

<p style="text-align: center;">MODE OPERATOIRE DE PRE-TRAITEMENT DES ECHANTILLONS POUR RECHERCHE DES MYCOBACTERIES PAR CULTURE</p>

Principe

- ✓ L'addition de la soude aux échantillons élimine les bactéries de la flore commensale.
- ✓ Les bactéries commensales sont ainsi mises en contact avec l'agent décontaminant et sont détruites. Les mycobactéries plus résistantes survivent, le rendement de la culture est ainsi augmenté de façon notable. Toutefois, bien que plus résistantes aux antiseptiques que les autres bactéries, les mycobactéries n'y sont pas complètement insensibles et la décontamination doit être effectuée en respectant scrupuleusement la concentration de l'antiseptique et son temps de contact avec l'échantillon.
- ✓ Pour que la décontamination soit de bonne qualité, il faut que les échantillons, notamment les crachats, soient homogénéisés par un agent fluidifiant qui libèrent les bactéries (contenues dans le mucus, le pus) et les cellules.

Matériels

- Echantillon dans pot transparent de 50 ml à large ouverture. (QUALIBACT ; PC 150S ; Lot : 911342).
- Tubes coniques stérile pour centrifuger en polypropylène de 50 ml (TC450).
- Pot stérile 30 ml bouchon rouge pour aliquotage de la solution NaOH Citrate NALC
- Pipettes plastiques de transfert
- Pipette de 200 – 1000 µL avec cône stérile à filtre
- Tube pour congélation 3mL,
- Lames dégraissées
- Vortex.
- Plaque chauffante
- Centrifugeuse sécurisée et réfrigéré
- Poste de sécurité microbiologique PSMTYPE II.
- Minuteur.
- Poubelles DASRI liquides et solide
- Papier de type Benchcoat
- Compresses
- Marqueur et crayon de papier
- Portoirs pour tubes de culture et portoirs pour tubes de 50 ml Réactifs
- Flacon en verre de solution NaOH Citrate de sodium stérile. Voir annexe 1
- Flacon en verre de Tampon de phosphate stérile. Voir annexe 2
- Poudre de N-acétyl-L-cystéine NALC (PROLABO ; Pro20097134).

Aliquot en Pot de 250 MG N acétyl L cystéine NALC qsp pour 50 ml de la solution de NaOH CITRATE

Albumine bovine (BIOMERIEUX ; REF : 55242).

Tube de Coletsos.

Tube MGIT : tubes contenant 7 ml de milieu 7H9 et un détecteur fluorescent de consommation d'O₂ qui sert d'indicateur de croissance. Conservation entre 2°C – 25°C

Milieu gélose au sang ; GS

Coffret de supplément d'antibiotiques PANTA flacon de poudre lyophilisée.

Coffret de supplément de croissance OADC ; flacon de 15 ml

Solution détergent-désinfectant.

Echantillons

Expectoration

Les expectorations sont reçues dans un pot transparent de 50 ml à large ouverture fournis par le laboratoire.

Volume minimum de 2 ml et maximum 10 ml

Urines

Volume minimum de 40 ml

Elles sont d'abord centrifugées et le culot est traité comme une expectoration

Pus

Volume minimal de 2 ml et maximal 10 ml.

Les écouvillons sont non conformes pour la mise en culture

Les pus, pour libérer les germes du mucus, subissent une étape de décontamination et de fluidification.

Liquides de ponction et biopsies

Les liquides de ponctions (liquide d'ascite, pleural, LCR) sont apportés au laboratoire dans des tubes stériles.

Les liquides de ponctions sont centrifugés et le culot mis en suspension dans l'albumine bovine est directementensemencé et étalé sur une lame pour l'examen direct.

Les biopsies sont broyées et mis en suspension dans l'albumine bovine est directementensemencé et étalé sur une lame pour l'examen direct.

NB ; Un liquide de ponction sanglant ne peut pas être cultivé en tube MGIT. Onensemencera trois tubes Coletsos

Mode opératoire

Organisation

Les échantillons sont techniques du lundi au vendredi. Par série de 8 échantillon

Déroulement

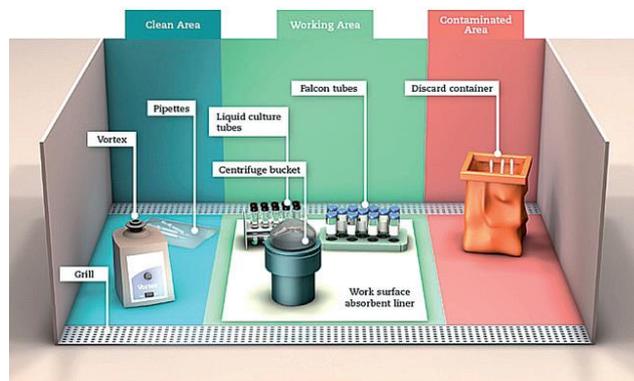
En dehors du PSM ;

Étiqueter les pots pour aliquotage du NAOH/NALC et du Tampon phosphate 'PBS'

- Étiqueter le milieu Coletsos tube MGIT, et la lame
- Préparer le portoir des tubes de 50 ml pour la décontamination ;
 - Numéroté de 1 à 10 les tubes
 - Le tube numéro 1 et 10 seront des témoins négatifs
- Nettoyer le PSM pour préparer les aliquots et les tubes de MGIT :
 - Préparer les aliquots de 10 ml dans les pots de NaOH
 - Préparer les aliquots de 40 ml de PBS en tube Falcon®.

- Préparer les aliquots de 3ml SAB.
 - Sous PSM, réhydrater le lyophilisat de la poudre de PANTA en transvasant les 15 ml OADC.
 - Indiquer la date de préparation ainsi que les initiales de l'opérateur
 - Supplémenter le nombre de tube MGIT nécessaire pour la technique du jour
- Ajouter 800 µl du mélange PANTA-OADC par tube.
- Le restant du mélange PANTA-OADC sera conservé environ 4°C à l'abri de la lumière pdt 5 jours.
 - Vérifier avant chaque utilisation que le mélange PANTA-OADC n'est pas trouble.
 - Conserver sur un portoir les tubes MGIT préparés en dehors du PSM.

Organiser le PSM avant la technique de décontamination :



Transférer les

échantillons 3 à 5 ml dans

des tubes coniques de 50 ml numérotés

Compléter volume à volume avec la solution NaOH-NALC

Agiter doucement au vortex ou retourner 5 fois ; pour ne pas dénaturer le NALC

Démarrer le minuteur dès que la solution NaOH-NALC est versée dans le premier tube

Mélanger et retourner de nouveau les tubes au bout de 7 minutes

Après 15-20 mn de contact, remplir chaque tube avec un tampon phosphate jusqu'au repère de 45ml

Centrifuger à 3000g pendant 15 mn (placer les tubes dans les pots à centrifuger à l'intérieur du PSM).

Organiser le PSM pour la deuxième phase technique :

Classer sur le portoir ensemencement le milieu Coletsos et le tube MGIT

Classer sur la platine chauffante les 8 lames

- Ouvrir les plots à centrifuger à l'intérieur du PSM
- Sortir les tubes de décontamination et replacer dans l'ordre sur le portoir
- Verser le surnageant dans la poubelle liquide, essuyer le bord du tube avec la compresse imbibée de désinfectant
- Avec une pipette de transfert ajouter environ 2 ml d'Albumine bovine

- Par aspiration refoulement pour remettre le culot en suspension
- Pipeter les 3 ml et ensemer les milieux ;
 - 500 µl dans le tube MGIT, bien serrer le bouchon
 - 3 gouttes dans le tube Coletsos, ne pas trop serrer le bouchon
 - Environ 2ml pour la boîte de congélation
 - Etaler une goutte pour le frottis
 - Laisser sécher le frottis sous PSM et le fixer par la chaleur
 - Ranger le PSM
 - Après décontamination externe, incubé les milieux dans les étuves respectives
 - Placer les tubes de culot de décontamination au congélateur à -20°C

Gestion des déchets

Voir procédure de gestion des déchets

PREPARATION DES SOLUTIONS DE DECONTAMINATION

NaOH à 4 %, citrate de Na à 2,9

Poudre de Na OH (référence Fisher)

Poudre de Citrate de Na réhydratée (référence Fisher)

Eau distillée

Erlenmeyer de 1 litre

Becher de 500 ml

Falcon de 50 ml pour aliquotage de la solution NaOH Citrate de sodium.

Préparation du réactif

À l'aide d'une balance numérique, peser :

- 40 gr NaOH qsp 500 ml d'eau distillée dans un bécher,
- Placer le bécher sur un agitateur magnétique,
- 58gr de Citrate de Na qsp 500 ml d'eau distillée,
- Placer le bécher sur un agitateur magnétique,
- Après dissolution mélanger les 2 solutions,
- Aliquoter par 100 ml dans des flacons propres en verre bouchés hermétiquement,
- Étiqueter tous les flacons en indiquant le nom du réactif, le numéro de lot, la date de préparation, la date d'expiration et le nom du technicien.
- Autoclaver pendant 15 minutes à 121°C, 15 PSI.
- Laisser refroidir à température ambiante,
- Incuber à 37°C pendant 24h, si les flacons ne sont pas troubles, valider le lot.

- Puis conserver à une température comprise entre 20 et 25°C

Nom du réactif : Solution de travail NaOH- Citrate de Na 1 litre	Numéro de lot :	Date de préparation :	Volume total préparé :	Date d'expiration :	Préparé par :
Ingrédients	Numéro de fournisseur/catalogue	Numéro de lot	Quantité ajoutée	Technicien	Date
NaOH	Fisher #		40 g		
Eau distillée			500 ml		

Remplir le document de traçabilité des lots.

Citrate de sodium dihydraté	Fisher #		58 g		
Eau distillée			500 ml		

N-acétyl-L-cystéine (NALC)

- La NALC est achetée sous forme de poudre.
- A l'aide d'une balance le jour de l'utilisation, pesez 500mg de NALC et ajoutez-les à 100ml de NaOH-Citrate de Na.
- Après addition du NALC, le produit résultant doit être utilisé dans les 24 heures.

NB : La NALC est sensible à un secouage ou mélangeage intensif et un mélangeage trop vigoureux de la solution de NaOH et de la NALC peut provoquer une perte de l'activité mucolytique.

Tampon phosphate à 0,067 M, pH 6,8.

Cette solution consiste en deux solutions mères séparées. Préparez d'abord des solutions mères de :

- Phosphate disodique (solution A)
 - Dissolvez 9,07g de Na_2HPO_4 anhydre dans 1 litre d'eau distillée
- Monophosphate de potassium (solution B)
 - Dissolvez 9,07 g de KH_2PO_4 dans 1 litre d'eau distillée

Après avoir préparé ces solutions, mélangez 500 ml de solution A et 500 ml de solution B. Vérifiez le pH à l'aide d'un pH-mètre étalonné.

- Ajustez le pH à $6,8 \pm 0,2$ en utilisant :
- la solution A pour augmenter le pH
- la solution B pour diminuer le pH

Finalement, versez dans des bouteilles de réactif la quantité de solution normalement nécessaire pour traiter les échantillons d'un lot.

- Stérilisez à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C, 21 PSI (1,45 bar)
- Etiquetez et conservez à la température ambiante ou à une température de 2 à 8 °C.

Utilisation du pH-mètre

- Avant d'utiliser le pH-mètre, étalonnez-le à l'aide d'au moins deux solutions tampons étalons. Cet étalonnage doit être effectué chaque fois que vous utilisez le pH-mètre.
- Généralement, une des solutions étalons a un pH de 7 (pH neutre) et l'autre est choisie pour correspondre à la plage de pH dans laquelle les mesures doivent être prises, habituellement un pH de 10 pour les solutions basiques et un pH de 4 pour les solutions acides (le pH des solutions étalons n'est valide qu'à 25 °C).

- Après l'étalonnage, rincez la sonde dans de l'eau distillée désionisée pour éliminer toutes les traces de la solution tampon, séchez-la avec un mouchoir en papier propre pour absorber toute l'eau qui pourrait diluer l'échantillon et donc modifier la valeur lue, puis plongez rapidement la sonde dans l'échantillon.
- La valeur du pH est affichée sur l'écran.
- Rincez l'électrode avec de l'eau distillée désionisée pour éliminer toute trace de l'échantillon et remettez-la dans le tampon de stockage.

Contrôle qualité

La documentation de la préparation des milieux et des réactifs est un élément essentiel du contrôle qualité. Cette documentation est très importante parce qu'elle peut servir éventuellement à retrouver la source de problèmes dus à un lot de mauvaise qualité d'un ingrédient. Voyez ci-dessous un exemple de documentation de la préparation d'un réactif :

Préparation de réactif

Nom du réactif :	Numéro de lot :	Date de préparation :	Quantité totale préparée :	Date d'expiration :	Préparé par :
Solution de travail NaOH/citrate de Na					

Instructions de préparation :

A l'aide d'une balance numérique, pesez les quantités de NaOH et de citrate de Na indiquées ci-dessus.

Mesurez et ajoutez aux poudres le volume d'eau spécifié ci-dessus dans un bécher de taille appropriée.

Placez le bécher sur un agitateur magnétique et utilisez un barreau aimanté pour bien mélanger.

Versez les parties aliquotes voulues dans des bouteilles propres en verre ou en polypropylène et bouchez hermétiquement.

Collez sur chaque bouteille une étiquette portant le nom du réactif, le numéro de lot, la date de préparation, la date d'expiration et le nom du technicien.

Passez à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C et 15 PSI.

Refroidissez à la température ambiante, conservez à 2-8 °C.

Les réactifs et les milieux de CQ doivent être conservés dans de bonnes conditions :

- Essayez de ne préparer que 2 mois de stock à la fois pour que les réactifs soient toujours frais.
- Si vous conservez le NaOH et la solution tampon phosphate à la température ambiante, placez-les dans un endroit frais et sombre ou bien conservez-les à une température de 2 à 8 °C.
- La gélose BHI préparée doit être conservée à 2-8 °C.
- La NALC peut être conservée à la température ambiante, dans un endroit frais, sec et sombre. Vérifiez que chaque tube est hermétiquement fermé car l'humidité provoque l'agrégation de la NALC qui colle alors aux parois des tubes, ce qui empêche de l'ajouter au NaOH.

Contrôle qualité avant utilisation pour traitement :

Vous devez vérifier que le tampon phosphate est bien stérile avant d'utiliser les réactifs. Faites une sous-culture sur de la gélose BHI avec approximativement 10 % du lot préparé et incubez-la pendant 48 heures à 37 °C pour déterminer si des contaminants sont présents. Pour vous assurer de la stérilité de la gélose BHI, placez 10 % du lot préparé à 37 °C et recherchez la présence de colonies après 48 heures.

Contrôle qualité des réactifs pendant le traitement

- Assurez-vous de la stérilité de l'hydroxyde de sodium/citrate de sodium et de la NALC à l'aide de tubes vierges témoins de contamination dans les séries traitées quotidiennement.
- Vous pouvez par exemple traiter un témoin vierge (5 ml d'eau stérile) de la même manière que les échantillons. Le premier tube et le dernier tube de chaque lot d'échantillons traités doivent être des témoins vierges.
- Inoculez chaque témoin vierge traité sur un milieu BHI incliné et sur un milieu L-J incliné pour vous assurer de la stérilité des réactifs de traitement utilisés pendant la journée, pour vérifier qu'une technique aseptique a bien été suivie pendant le traitement et pour constater l'absence de contamination croisée d'un tube à l'autre pendant les manipulations.
- Faites une sous-culture de chaque bouteille de tampon phosphate utilisée sur de la gélose BHI ou de la gélose au sang et sur du L-J avant et/ou après chaque série de traitement le jour de l'utilisation.

Récapitulation des principaux points

● Les réactifs et les milieux utilisés pour le traitement des échantillons BT et le CQ incluent :

- NaOH à 4 %
- Citrate de Na à 2,9 %
- Tampon phosphate 0,067 M, pH 6,8
- Gélose cœur-cervelle
- Assurez-vous que la balance est horizontale et vérifiée
- Mesurez les ingrédients avec précision
- Etiquetez et conservez les produits comme il convient
- **Documentez toutes les préparations et le contrôle qualité !**

10.5 Annexe 5

MODE OPERATOIRE DE LA GESTION DES CULTURES SUR MILIEUX SOLIDES DES MYCOBACTERIES

Principe

Ce mode opératoire consiste à suivre les cultures de mycobactéries sur milieux solides.

Matériels

Etuve 37°C

Cryotube 2 ml à vis externe

EPI (voir mode opératoire BPL)

Anses à usage unique

Plaque chauffante

Lames

Pipettes réglables pour 200, 1000

Des embouts à filtre pour 200 et 1000

Pipettes de transfert 3 ml

Réactifs

Kit Ag MPT64 pour identification

Eau physiologique

Tubes coletsos/L.J

Mode opératoire

Les milieux solides sont incubés après ensemencement pour une durée de huit (8) semaines.

Après une semaine d'incubation les cultures sont observées et les tubes vissés

hermétiquement à l'absence d'eau de condensation sur la surface de la gélose. A partir de la deuxième semaine les tubes de cultures sont observés une fois par semaine. Les options suivantes peuvent être observées :

Cultures contaminées :

Au cours de la culture, si on constate une désintégration de la gélose ou que toute la surface de la gélose est recouverte de champignons, les cultures sont interrompues et les tubes jetés.

Cultures positives :

A la culture positive, les colonies sont identifiées selon leur caractère macroscopique et microscopique.

Si l'aspect microscopique et macroscopique orientent vers les mycobactéries on procède à l'identification par la recherche de l'Ag MPT64 (MO. Identification des mycobactéries).

S'il y a un mélange de colonies, confronter les résultats à ceux des milieux liquides.

Cultures négatives :

Au bout de huit semaines si on n'observe aucune colonie les tubes sont retirés de l'étuve et jetés.

Enregistrement des données :

Les résultats seront reportés au registre de paillasse et au SGIL

Contrôle de qualité

Afin de contrôler le bon déroulement du test et la qualité des réactifs, chaque lot de milieu de culture est contrôlé avec une souche de référence.

Gestion des déchets :

Cf MO gestion des déchets

10.6 Annexe6

MODE OPERATOIRE DE L'ANTIBIOGRAMME EN MILIEU LIQUIDE (MGIT SIRE)

Principe

Le coffret BD™BACTEC™ MGIT 960™ SIRE KIT est un test qualitatif d'une durée de 4 à 13 jours. Le test est basé sur une comparaison de la croissance d'un isolat de Mycobacterium complex tuberculosis mis dans un tube contenant l'antibiotique à tester, avec celle du même isolat dilué : au 1/100^e (ou 1/10^e pour le PZA) dans un tube sans antibiotique (témoin de croissance).

En première intention : 4 antibiotiques sont testés : Streptomycine (**S**), Isoniazide (**I**), Rifampicine (**R**), Ethambutol (**E**).

Matériels

Automate BACTEC MGIT 960

Portoirs à MGIT

Vortex

Portoirs à code barre pour antibiogramme

Pipette 200µl avec cônes stériles à filtre 200µl

Pipette 1000µl avec cônes stériles à filtre 1000µl

Tubes conique 15 ml

Billes de verre

Pipettes de transfert en plastique, à usage unique

EPI (voir mode opératoire BPL)

Réactifs

Tubes MGIT non supplémentés.

MGIT SIRE Supplément.

Streptomycine.

Isoniazide.

Rifampicine.

Ethambutol.

Préalablement aliquotés à $-20^{\circ}\text{C} \pm 2$ dans le congélateur

Sérum physiologique stérile

Mode opératoire

Préparer le PSM

Identifier les tubes MGIT avec l'étiquette patient, la date de réalisation de l'antibiogramme

1 tube **T** (témoin)

1 tube **S** (Streptomycine)

1 tube **I** (Isoniazide)

1 tube **R** (Rifampicine)

1 tube **E** (Ethambutol)

Sous le PSM

Distribuer les suppléments et les antibiotiques selon le schéma ci-après :

	Tubes MGIT				
	T	S	I	R	E
Supplément SIRE	800 µl	800 µl	800 µl	800 µl	800 µl
aliquot d'antibiotique	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
		STREPTO	INH	RIFAM	ETHAM
Inoculum (J1-J2)	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl
	1/100	Pur	Pur	Pur	Pur
Inoculum (J3-J5)	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl
	1/500	1/5	1/5	1/5	1/5

Préparation et distribution de l'inoculum

A partir du tube MGIT :

Vortexer, laisser sédimenter 5 mn et procéder aux dilutions à partir du surnageant.

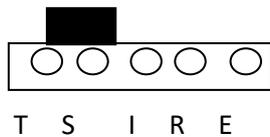
J1 J2 : faire une dilution au 1/100 (100µl dans 10ml d'eau physiologique) pour le témoin.

Repartir le pur (500µl) dans le tube SIRE

J3-J5 : faire une dilution au 1/5 (1ml dans 4ml d'eau physiologique) pour SIRE.

Préparer la dilution au 1/100 à partir du 1/5 (100µl dans 10ml d'eau physiologique) pour le témoin.

Mettre les tubes dans les portoirs à code barre, toujours dans le même ordre selon le schéma suivant :



Avant introduction des portoirs dans le 3ème tiroir du Bactec sélectionner les antibiotiques souhaités (cf. SOP chargement déchargement).

Enregistrement des données :

Les résultats seront reportés au registre de paillasse et au SGIL

Contrôle de qualité

Afin de contrôler le bon déroulement du test et la qualité des réactifs, chaque nouveau coffret est contrôlé avec une souche de référence.

Gestion des déchets :

Cf MO gestion des déchets

Conservation et reconstitution des réactifs :

PREPARATION DES ANTIBIOTIQUES (sous la hotte propre avec des gants) :

Coffret BD™ BACTEC™ MGIT 960™ SIRE KIT contenant les antibiotiques déshydratés.

Antibiotiques standards

A reconstituer avec de l'eau distillée stérile (ampoules) comme suit :

STREPTOMYCINE 1 + 4 ml d'eau distillée

ISONIAZIDE 0,10 + 4ml d'eau distillée

RIFAMPICINE 1 + 4ml d'eau distillée

ETHAMBUTOL 5 + 4ml d'eau distillée

Après reconstitution, préparer des aliquots de 110µl dans des tubes, datés et identifiés de l'initial de l'antibiotique.

Ils seront congelés à $-20^{\circ}\text{C} \pm 3$, et valable pendant 6 mois à partir de la reconstitution, sans dépasser la date de péremption du lyophilisat et ranger dans le congélateur, dans les boîtes identifiées (SIRE).

NB : Une fois décongelés les aliquots d'ATB doivent être utilisés immédiatement. Jeter les portions non utilisées.

10.7 Annexe 7

MODE OPERATOIRE D'IDENTIFICATION DES MYCOBACTERIES

Principe

Ce mode opératoire consiste à identifier les mycobactéries à partir des culots de décontamination, des cultures liquide et solide.

Matériels

Vortex

Cryotube 2 ml à vis externe

EPI (voir mode opératoire BPL)

Anses à usage unique

Pipettes réglables pour 200, 1000

Des embouts à filtre pour 200 et 1000

Pipettes de transfert 3 ml

Réactifs

Kit Ag MPT64 pour identification

Eau physiologique

Tubes coletsos/LJ

Tubes MGIT

Mode opératoire

L'identification se fait sur les culots de décontamination avec frottis positifs au ZN, sur les milieux de cultures liquides et/ou solides positifs.

Culots de décontamination :

L'identification se fait par technique moléculaire (cf. MO HAINS)

Cultures liquides :

On procède à l'identification par

la recherche de l'Ag MPT64 pour le complexe tuberculosis (Cf MO Ag MPT64).

La recherche du complexe tuberculosis (MTBDRplus cf. MO HAINS)

La recherche de l'espèce par technique moléculaire (MTBC cf. MO HAINS)

la recherche des mycobactéries atypiques (CM/AS cf. MO HAINS)

Cultures solides :

Les colonies sont mises en suspension et les techniques sont identiques à celles en milieu liquide (cf. 4.2).

Enregistrement des données :

Les résultats seront reportés au registre de paillasse et au SGIL

Contrôle de qualité

Afin de contrôler le bon déroulement du test et la qualité des réactifs, chaque nouveau coffret est contrôlé avec une souche de référence.

Gestion des déchets :

Cf MO gestion des déchets

SERMENT DE GALIEN

- Je jure en présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples.
- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et 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 les actes criminels.
- Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.
- 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.

Je le jure !